

Universidad de Los Andes
Facultad de Ciencias
Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas
Postgrado en Ecología Tropical
Mérida-Venezuela

TESIS DOCTORAL

**Efecto de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal sobre la
calidad del suelo y algunos aspectos ecofisiológicos de *Allium cepa* L. en
condiciones de déficit hídrico**

**Trabajo presentado ante la Universidad de Los Andes como requisito para optar al
grado de Doctora en Ecología Tropical**

ERIKA LORENA BLANCO CARRERO

Tutor: Dr. Fermín Rada (ICAE-ULA)

Cotutor: Dr. Jorge Paolini (Centro de Ecología-IVIC)

Noviembre 2021

www.bdigital.ula.ve

Este trabajo recibió financiamiento parcial del Decanato de Investigación de la UNET bajo el proyecto CODEIN 04-007-2018, y del Vicerrectorado Académico de la UNET.

Dedicatoria

A mi familia: Papá, Mamá, mi Hermanito Ale ¡Mi Muñeco!, Calita, Minina, Negra y Negrita, quienes son mi compañía a diario, y me dieron todo su apoyo y fortaleza para no desfallecer en toda mi formación doctoral y lo que conllevó en mi vida personal su realización. Finalmente ¡lo logré!

Pronto valdrá todo el esfuerzo. Este orgullo es para ustedes...

¡Los Amo!

Agradecimientos

A Dios y a la Virgen quienes siempre me han iluminado, me han dado la fortaleza y me han acompañado en mi transitar académico y de vida.

A mis tutores:

A mi Tutor, el Prof. Fermín Rada, por creer en mí desde el comienzo, por todo su apoyo desde el planteamiento de esta tesis, por su mejor disposición siempre para trabajar en campo y en laboratorio a pesar de las vicisitudes que nos tocó pasar debido a la situación país, por toda su enseñanza en ecofisiología de cultivos y paciencia en los detalles en los que yo poco tenía experiencia evaluando, por toda su dedicación y tiempo para revisar y orientarme en la elaboración de este manuscrito, por las discusiones científicas que surgieron a lo largo de esta tesis y por sus palabras de aliento durante toda la investigación. Profe, ¡nos quedó bello el trabajo!

A mi Cotutor, el Prof. Jorge Paolini, quien también me brindó todo su apoyo desde el planteamiento de esta investigación y ha sido mi guía fundamental en la ecología microbiana del suelo en estos últimos años, por toda su dedicación en la enseñanza y evaluación de los protocolos de los indicadores microbiológicos y bioquímicos del suelo, por todo su apoyo y ánimo durante la investigación, orientación y evaluación de este manuscrito, por su colaboración en la exhaustiva revisión bibliográfica que realizamos, y por las largas charlas y discusiones científicas.

¡Es un honor para mí haber podido trabajar con ustedes dos y contar con su amistad!

A mis jurados, Prof. Carlos García Núñez, Prof. Alicia Cáceres, Prof. Froilán Contreras, por sus invaluable y acertadas observaciones, correcciones y sugerencias realizadas en todo este proceso. También quiero agradecer al Prof. Dimas Acevedo quien fungió como jurado durante el proyecto, examen de candidatura, y parte de la tesis. Sin duda alguna, los aportes de todos ustedes fueron muy significativos para conseguir la mejor versión del trabajo finalmente presentado.

A Yulimar Castro, mi amiga y compañera de trabajo, y mi punto de apoyo incondicional en la fase experimental de esta investigación en laboratorio y campo, excelente ser humano, muchísimas gracias por todo, por apoyarme, ayudarme, escucharme, y por toda la solidaridad!

A Ronald Rendón, a quien sin su ayuda inicial hubiera sido imposible realizar esta investigación. Gracias por toda la colaboración en campo durante la exigente preparación del terreno, los canteros, la instalación del riego, cobertura del semillero, y por facilitarme todos los insumos agrícolas necesarios.

Al Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP) de la ULA y su Estación Experimental en San Juan de Lagunillas, por permitirme realizar el trabajo de campo en sus instalaciones; mi agradecimiento al Profesor José David Hernández, al Ing. Efrén Nava, y especialmente al personal de apoyo: Sr. Baudilio, José Luis, Mary, y Sosa, por toda su colaboración.

A la Escuela Técnica Agropecuaria “El Estanquillo” en San Juan de Lagunillas, por su apoyo en la mecanización de la parcela experimental de la estación del IIAP-ULA en San Juan de Lagunillas.

Al profesor Argenis Guerrero de la UNET, por su valioso apoyo en el manejo agronómico del cultivo de la cebolla.

A mi amiga y colega Jannellis Laborda Agüín, por realizar gentilmente la ilustración de las fenología de la cebolla, y por su valiosa amistad.

A mis amigos y compañeros Yurimar Brito, Sra. Evangelina, Robert Márquez, Auxiliadora Olivo, y William Saavedra, muchas gracias por todo su apoyo y su valiosa ayuda en campo y laboratorio.

A Raquel Vielma, mi agradecimiento especial por recibirme en su casa, por su amistad, generosidad, por su apoyo, su agradable compañía, y sobre todo por su solidaridad.

Al Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas de la ULA, y a su personal académico, técnico y administrativo, especialmente a Zulay Méndez, Manuel Fernández, Jhonny Márquez, Zulkey Alvarado, los profesores Anairamiz Aranguren, Luis Daniel Llambí, y Samuel Segnini, y a mis amigos compañeros de estudio del PET: Juan Pablo Uzcátegui, Georgina Navarro, y Andrés Chacón. ¡A todos gracias por su apoyo y por tantos momentos agradables y de alegría que compartimos!

Al Laboratorio de Fitobioteecnología de la ULA, del cual formé parte como personal académico durante la mayor parte experimental de esta tesis, gracias por permitirme utilizar el material microbiológico, equipos de laboratorio, asistencia técnica y algunos materiales y reactivos. Mi agradecimiento especial con mucho cariño al Profesor Benito Briceño† por todo su apoyo y por su amistad, quien estoy segura que desde otro plano junto al Profesor Roberto Skwierinski† celebrará este logro alcanzado. ¡Cuánto me gustaría darles un fuerte abrazo en este momento profes!

A la Universidad Nacional Experimental del Táchira y a sus dependencias: Decanato de Investigación, Laboratorio de Biotecnología y Química de Polímeros, Laboratorio de Suelos, Laboratorio de Biofertilizantes, Laboratorio Bioambiental, Vicerrectorado Académico, y al Rectorado.

A la Universidad de Los Andes, y a mi Facultad de Ciencias en Mérida, mi casa de formación académica.

A mi Tía Zoila y a mi Nona Lilia, quienes siempre se preocupan por mí y me ayudan en lo posible. A mi Tía Luisa y a mi prima Andreina, quienes de alguna u otra forma también se preocupan por mí. A Chestercito, una ternurita de compañía. Y a mis sobrinitas Sofi y Victoria, quienes en muchos ratos me acompañan y son motivo de distracción y alegría necesaria en todo este proceso.

A mis amigas que siempre me brindan su apoyo moral y ánimo: María Teresa Delgado, Rocío Castro y Luimar Álvarez. Y a todas aquellas personas que de una u otra manera me ayudaron, apoyaron y animaron a alcanzar esta meta.

A todos ustedes, ¡Muchas gracias!

Erika Lorena

RESUMEN

En la región andina de Venezuela la agricultura intensiva de hortalizas ha modificado de forma importante el equilibrio ecológico del suelo ocasionando alteraciones en las poblaciones microbianas entre otros factores bióticos y abióticos que han disminuido la calidad y salud del suelo. En zonas semiáridas, la poca disponibilidad de agua para riego reduce la posibilidad de desarrollar cultivos, y aumenta la necesidad de hacer un uso más eficiente del agua, sobre todo bajo un escenario de cambio climático y crecimiento poblacional. Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) presentan mecanismos fisiológicos para atenuar el efecto que puedan ocasionar sobre los cultivos las condiciones de estrés hídrico, aunado al efecto biofertilizante que estas presentan, que podría reducir el uso de fertilizantes inorgánicos NPK siendo su aplicación una alternativa agroecológica. El objetivo general fue determinar el efecto de algunas RPCV autóctonas del estado Mérida-Venezuela en las relaciones hídricas, el intercambio de gases y el crecimiento sobre el cultivo de *Allium cepa*, y el estudio de parámetros de calidad y salud del suelo, en condiciones de déficit hídrico (menor frecuencia de riego) y menor dosis de fertilización inorgánica en un ambiente semiárido y con un enfoque agroecosistémico. Para ello se seleccionó un consorcio microbiano (CM) de RPCV que incrementó las variables de crecimiento, especialmente el diámetro del pseudotallo en plántulas de cebolla en condiciones de umbráculo. Posteriormente se realizó un experimento en campo en una parcela experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias de la Universidad de Los Andes (IIAP-ULA) ubicada en San Juan de Lagunillas, estado Mérida, en donde se estableció un cultivo de cebolla híbrido F1 2000 inoculado con el CM y utilizando fertilizante inorgánico NPK bajo una condición de riego normal (RN, frecuencia de riego diaria), y una condición de déficit hídrico (DH, frecuencia de riego cada tres días). El factor de fertilización constó de cuatro tratamientos fertilizados e inoculados con el consorcio seleccionado ME01 + Leu2A (*Rhizobium tropici* + *Bradyrhizobium japonicum*): 0 % NPK + CM, 50 % NPK + CM, 100 % NPK + CM, 100 % NPK No inoculado, partiendo de una dosis completa 100 % NPK = 247 kg N, 240 kg P₂O₅, y 240 kg K₂O por hectárea. Se utilizó un diseño bifactorial en bloques completamente aleatorizados con tres repeticiones. Durante el desarrollo del cultivo se evaluaron las distintas etapas fenológicas y se midió la acumulación de temperatura y radiación global necesaria para el término de cada etapa del cultivo, en condiciones no estresantes y sin el CM (solo en el control de producción 100 % NPK No inoculado en condición RN) con el índice de grados-día acumulados (GDA). Las variables ecofisiológicas (intercambio gaseoso, relaciones hídricas, variables morfológicas) se determinaron a los 45 días después de la siembra (dds), 35 días después del trasplante (ddt), 69 ddt, y el rendimiento a los 71 ddt. Los potenciales osmóticos de pérdida de turgencia y de saturación se determinaron a los 48 ddt a través de curvas presión-volumen, y los parámetros de calidad y salud del suelo (propiedades físico-químicas, parámetros microbiológicos, actividad enzimática) se evaluaron a los 64 ddt. El cultivo acumuló 1334 °C y 1188 MJ m⁻² d⁻¹ en el momento de su cosecha a los 71 ddt. El rendimiento obtenido del control de producción (100 % NPK no inoculado en condición RN) fue de 36 t ha⁻¹, mejorando el rendimiento promedio de cebolla en Venezuela. Los resultados indicaron una equivalencia entre la frecuencia de riego y

la evapotranspiración del cultivo (ET_c), siendo la condición RN = 100 % ET_c, y la condición DH = 67 % ET_c, consiguiendo un ahorro de agua significativo de casi el 35 % para el ciclo de cultivo y un incremento de 47 % en la eficiencia en el uso de agua de riego (EUA_r), sin afectar el rendimiento en la condición DH en el tratamiento no inoculado, mientras que, con el tratamiento 50 % NPK + CM se consiguió ahorrar la mitad del fertilizante inorgánico sin afectar el rendimiento en condiciones de RN. El tratamiento 50 % NPK + CM sin DH permitió mantener valores de asimilación de CO₂ similares al control de producción. La cebolla disminuyó la conductancia estomática, alrededor de un 50 %, como evasión ante la carencia de agua. La mayor EUA fotosintética (EUA_f) se obtuvo con el tratamiento 50 % NPK + CM sin DH y el tratamiento 100 % NPK No inoculado con DH en tempranas horas del día, y en horas del mediodía, respectivamente. Los tratamientos inoculados mostraron incremento en la tasa de transpiración en condiciones de DH, así como menor EUA_f. La cebolla incrementó el módulo de elasticidad de la pared celular en 65 % en respuesta al estrés hídrico, en el tratamiento 100 % NPK No inoculado. El consorcio microbiano logró incrementar la biomasa microbiana con 0 % NPK en condiciones de RN y DH, favoreciendo de esta manera a las comunidades microbianas autóctonas, también mejoró el cociente microbiano y tendió a mejorar el cociente de eficiencia metabólica. La dosis 100 % NPK causó un estrés metabólico en las bacterias inoculadas, ya que tendió a disminuir la eficiencia ecofisiológica de la microbiota. El CM en la dosis 0 % NPK estimuló las actividades enzimáticas deshidrogenasa, amonificación de arginina, fosfatasa alcalina, y la ureasa tanto en condiciones no limitantes de agua como en condiciones limitantes de agua, inclusive, igualó o superó el valor de referencia para el suelo de esta parcela antes de la mecanización. Los tratamientos 50% NPK + CM en condición RN y el tratamiento 100% NPK no inoculado en condición DH mostraron los mejores efectos sobre el crecimiento de la cebolla, tendiendo a incrementar sobre el control de producción las variables área foliar, índice de área foliar, peso fresco de hojas, peso seco de raíz y bulbos, y N foliar en la etapa media del cultivo, y diámetro del bulbo, el peso fresco y seco de bulbos al final del cultivo. En condiciones de estrés hídrico y fertilización moderada, el consorcio microbiano incrementó el contenido de N en bulbos, y con esto su calidad nutricional a la vez de ahorrar agua y fertilizantes, aunque con un costo de pérdida en el rendimiento. La dosis 50% NPK + CM en ambas condiciones de riego mejoraron la eficiencia en el uso de nutrientes. Se sugiere que los consorcios microbianos podrían resistir mejor los periodos de limitación de nutrientes debido a la diversidad metabólica disponible por la variedad de especies, y que el consorcio microbiano planteado podría ser una alternativa para mejorar la calidad y salud del suelo en condiciones de baja concentración de fertilizantes, en especies tolerantes a la sequía y en zonas semiáridas como una estrategia agrosostenible para fortalecer la seguridad agroalimentaria de Venezuela. De acuerdo a los resultados, se sugiere también que este CM podría ser utilizado en planes de restauración de suelos.

Palabras clave: actividad enzimática del suelo, cebolla, estrés hídrico, fertilización inorgánica, parámetros microbiológicos del suelo, RPCV, variables ecofisiológicas.

Índice de contenido

Capítulo 1: Introducción general	1
Antecedentes	
El ambiente rizosférico.....	1
Zonificación de la rizósfera.....	1
Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV).....	3
Mecanismos de las RPCV sobre las plantas.....	4
Las RPCV en la productividad de los cultivos: biofertilizantes y biocontroladores.....	7
Efecto de los fertilizantes industriales sobre los microorganismos del suelo.....	10
Enfoque agroecosistémico y el uso de las RPCV.....	13
Actividad biológica del suelo.....	16
Caracterización microbiológica del suelo.....	17
Caracterización bioquímica del suelo.....	20
Fundamentos de las actividades enzimáticas a detectar.....	21
Respuestas de las RPCV ante factores ambientales.....	22
Aspectos sobre el crecimiento y producción vegetal.....	24
Aspectos sobre el balance hídrico del agroecosistema.....	26
El recurso hídrico en zonas semiáridas.....	30
El cultivo de cebolla (<i>A. cepa</i>).....	33
Clasificación taxonómica y descripción botánica de la cebolla.....	34
Variedades de cebolla.....	35
Requerimientos edafoclimáticos.....	37
Condiciones de siembra en Venezuela.....	38
Fertilización de la cebolla.....	38
Siembra y plantación.....	40
Control de malezas.....	41
Plagas de la cebolla.....	42
Enfermedades de la cebolla.....	42
El riego en el cultivo de cebolla.....	42
Hipótesis	45
General.....	45
Específicas.....	45
Objetivos	50
General.....	50
Específicos.....	50
Metodología	51

1. Fase experimental.....	51
1.1 Descripción del área.....	51
1.2 Descripción del objeto de estudio.....	52
1.3 Ensayo en condiciones de umbráculo.....	52
1.4 Ensayo en campo.....	53
2. Fase de laboratorio.....	55
2.1 Curvas presión-volumen.....	55
2.2 Distribución de asimilados.....	55
2.3 Análisis de las propiedades microbiológicas y enzimáticas del suelo.....	55
3. Fase de análisis.....	55
Estructura de la tesis.....	56
Referencias.....	58
Capítulo 2	
Selección de un consorcio microbiano promotor del crecimiento de plántulas de cebolla en condiciones de umbráculo	75
Resumen.....	75
Introducción.....	75
Materiales y métodos.....	76
Material biológico.....	76
Suelo.....	77
Preparación de los inóculos.....	77
Ensayo en umbráculo.....	79
Análisis estadístico.....	80
Resultados.....	80
Efecto de los consorcios sobre el crecimiento de las plántulas de cebolla.....	80
Efecto del consorcio seleccionado sobre la actividad fotosintética de las plántulas.....	82
Discusión.....	83

Conclusiones.....	85
Referencias.....	85
Capítulo 3	
Grados-día acumulados, radiación acumulada y rendimiento de cebolla (<i>Allium cepa</i> L.) bajo condiciones de déficit hídrico inducido y biofertilización en un ambiente semiárido neotropical	88
Resumen.....	88
Introducción.....	88
Materiales y métodos.....	90
Descripción del área.....	90
Semillero.....	93
Establecimiento del cultivo en campo.....	94
Riego.....	94
Variables microclimáticas e integral térmica.....	95
Características, preparación y aplicación del inóculo.....	95
Fertilización y diseño experimental.....	97
Resultados.....	98
Variables microclimáticas y contenido de humedad en el suelo durante el cultivo.....	98
Grados-día y radiación acumulada de <i>A. cepa</i>	100
Rendimiento y eficiencia del uso del agua en <i>A. cepa</i>	101
Discusión.....	103
Influencia del contenido de humedad en el suelo sobre el cultivo.....	103
Integral térmica de <i>A. cepa</i>	104
Efecto del déficit hídrico sobre el rendimiento y la eficiencia del uso del agua en <i>A. cepa</i>	105

Efecto de los microorganismos sobre el rendimiento de <i>A. cepa</i>	107
Conclusiones	108
Referencias	109
Capítulo 4	
Efecto de un consorcio microbiano sobre las relaciones hídricas y el intercambio gaseoso de <i>Allium cepa</i> L. bajo condiciones de déficit hídrico y nutricional	115
Resumen	115
Introducción	116
Materiales y métodos	118
Ubicación del ensayo.....	118
Establecimiento del experimento en campo.....	118
Inóculo microbiano.....	119
Tratamientos y diseño experimental.....	119
Mediciones de temperatura y humedad relativa.....	120
Intercambio gaseoso.....	120
Relaciones hídricas.....	120
Análisis estadístico.....	121
Resultados	121
Análisis ecofisiológico en el T0 45 dds en semillero.....	121
Variables ecofisiológicas en el T1 35 ddt.....	123
Variables ecofisiológicas en el T2 69 ddt.....	130
Discusión	140
Efecto de los tratamientos sobre el intercambio gaseoso de <i>A. cepa</i>	140
Efecto de los tratamientos sobre las relaciones hídricas de <i>A. cepa</i>	142
Conclusiones	146

Referencias.....	146
Capítulo 5	
Efecto de un consorcio microbiano promotor del crecimiento vegetal sobre la actividad microbiológica y enzimática de un suelo cultivado con cebolla bajo condiciones de déficit hídrico y nutricional	152
Resumen.....	152
Introducción.....	152
Materiales y métodos.....	156
Ubicación del ensayo.....	156
Establecimiento del experimento en campo.....	156
Inóculo microbiano.....	157
Tratamientos y diseño experimental.....	157
Toma de muestras del suelo.....	158
Parámetro físico-químicos.....	159
Determinación de la actividad microbiológica del suelo.....	160
Relación Rizósfera/Suelo (R/S).....	161
Determinación de la actividad enzimática del suelo.....	161
Análisis estadístico.....	165
Resultados.....	165
Propiedades físico-químicas.....	165
Biomasa microbiana y propiedades microbiológicas.....	169
Relación Rizósfera/Suelo (R/S).....	173
Actividad enzimática del suelo.....	174

Discusión.....	178
Efecto sobre las propiedades físico-químicas del suelo.....	178
Efectos sobre las propiedades microbiológicas del suelo.....	180
Efecto sobre la rizósfera.....	184
Efecto sobre las propiedades enzimáticas.....	184
Conclusiones.....	189
Referencias.....	189

Capítulo 6

Análisis del crecimiento y distribución de asimilados en cebolla biofertilizada en condiciones de déficit hídrico y nutricional en un ambiente semiárido	197
---	-----

Resumen.....	197
---------------------	-----

Introducción.....	197
--------------------------	-----

Materiales y métodos.....	200
----------------------------------	-----

Ubicación del ensayo.....	200
---------------------------	-----

Establecimiento del experimento en campo.....	201
---	-----

Inóculo microbiano.....	201
-------------------------	-----

Tratamientos y diseño experimental.....	202
---	-----

Variables morfométricas.....	202
------------------------------	-----

Análisis del crecimiento.....	203
-------------------------------	-----

Distribución de asimilados.....	203
---------------------------------	-----

Eficiencia del uso de nutrientes	204
--	-----

Análisis estadístico.....	205
---------------------------	-----

Resultados.....	205
Variables de crecimiento en el T0 46 dds (0 ddt).....	205
Análisis del crecimiento y distribución de asimilados en el T1 80 dds (35 ddt).....	207
Análisis del crecimiento y distribución de asimilados en el T2 114 dds (69 ddt).....	216
Discusión.....	225
Efectos del biofertilizante sobre el crecimiento de la cebolla.....	225
Efectos del biofertilizante sobre las tasas de crecimiento y variables asociadas al área foliar	227
Efecto del biofertilizante sobre la acumulación de N.....	230
Efecto del biofertilizante sobre la EUN	232
Conclusiones.....	234
Referencias.....	235

Capítulo 7

Discusión general y conclusiones	241
Desde las rizobacterias hasta la estabilidad del agroecosistema.....	241
Aspectos sobre la productividad	242
Aspectos sobre la ecofisiología	243
Aspectos del suelo.....	244
Cambios relativos en las propiedades del agroecosistema.....	246
Conclusiones.....	252
Recomendaciones finales.....	254
Referencias.....	255

Índice de Tablas

Capítulo 1

Tabla 1. Efectos de algunas prácticas agrícolas sobre la microbiota.....	11
Tabla 2. Parámetros empleados como indicadores de la calidad del suelo según Frioni et al. (1999).....	16
Tabla 3. Valores de biomasa microbiana en algunos suelos de Venezuela.....	19
Tabla 4. Actividades enzimáticas utilizadas para el estudio de la fertilidad del suelo de acuerdo con Piotrowska-Dlugosz (2014).....	21
Tabla 5. Cambios bioquímicos y fisiológicos en las plantas por efecto de factores ambientales.....	25
Tabla 6. Parámetros ecofisiológicos en algunos cultivos de ciclo corto y perennes de importancia económica.....	29
Tabla 7. Variedades agronómicas e híbridos de mayor producción en Venezuela en la década de 1980 (Guía Rural Venezolana, 1989).....	36
Tabla 8. Extracción de nutrientes totales en el ciclo productivo de la cebolla.....	38
Tabla 9. Niveles óptimos de nutrientes en tejido foliar de cebolla.....	39
Tabla 10. Variables estudiadas en cada etapa del cultivo de cebolla para cada uno de los tratamientos aplicados, y su relación con las hipótesis y objetivos planteados...	57

Capítulo 2

Tabla 1. Características físico químicas del suelo proveniente de la parcela experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP) de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la ULA, en San Juan de Lagunillas, estado Mérida.....	77
Tabla 2. Tratamientos utilizados en el experimento (preparados en solución salina 0,89 % NaCl).....	78
Tabla 3. Efecto de los consorcios sobre las variables evaluadas a nivel de semillero en cebolla (<i>A. cepa</i>).....	81
Tabla 4. Variables fotosintéticas determinadas a partir de las ecuaciones de las curvas de saturación de luz en plántulas con 60 dds en condiciones de umbráculo.....	85

Capítulo 3

Tabla 1. Características físico químicas del suelo y del agua de riego en la parcela experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP) de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la ULA, en San Juan de Lagunillas, estado Mérida.....	92
Tabla 2. Características de las cepas ME01 y Leu2A como promotoras del crecimiento vegetal.....	96
Tabla 3. Variables climáticas registradas durante el ciclo del cultivo en IIAP-ULA San Juan de Lagunillas, Mérida-Venezuela (7 de abril al 17 de junio 2017).....	98
Tabla 4. Rendimiento del bulbo, eficiencia del uso del agua de riego (EUA _r) y otros parámetros bajo condiciones de riego normal (RN) y déficit hídrico (DH).....	102

Capítulo 4

Tabla 1. Valores promedios iniciales de las variables ecofisiológicas con réplicas sin los tratamientos de fertilización y déficit hídrico en semillero T0 45 dds a primeras horas de la mañana 8:30 am.	122
Tabla 2. Valores iniciales de las variables ecofisiológicas con réplicas sin los tratamientos de fertilización y déficit hídrico en semillero T0 45 dds en horas cercanas a mediodía 11:30 am.....	123
Tabla 3. Temperatura foliar, potencial hídrico y diferencia de presión de vapor hoja-aire en el T ₁ 35 ddt.....	125
Tabla 4. Temperatura foliar, potencial hídrico y diferencia de presión de vapor hoja-aire en el T ₂ 69 ddt.....	131
Tabla 5. Variables determinadas a través de las curvas presión-volumen realizadas a los 48 ddt o durante la etapa clímax del cultivo de la cebolla.....	135

Capítulo 5

Tabla 1. Parámetros físico-químicos del suelo para cada tratamiento evaluado....	167
Tabla 2. Parámetros físico-químicos del suelo no rizosférico antes del ensayo y luego del ensayo bajo el efecto del déficit hídrico.....	168
Tabla 3. Biomasa microbiana, actividad microbiológica, e índices ecofisiológicos del suelo en los tratamientos evaluados.....	171
Tabla 4. Biomasa microbiana, actividad microbiológica, e índices ecofisiológicos del suelo no rizosférico antes del ensayo y luego del ensayo bajo el efecto del déficit hídrico.....	172
Tabla 5. Actividad enzimática del suelo en los tratamientos evaluados.....	176
Tabla 6. Actividad enzimática del suelo no rizosférico antes del ensayo y luego del	177

ensayo bajo el efecto del déficit hídrico.....

Capítulo 6

Tabla 1. Índices de productividad determinados en el cultivo (Hunt, 1982).....	203
Tabla 2. Variables de eficiencia del uso de nutrientes.....	204
Tabla 3. Cantidades en gramos de nutrientes aplicados por tratamiento	204
Tabla 4. Variables morfométricas determinadas en el T0 = 46 dds (día del trasplante 0 ddt).....	206
Tabla 5. Variables morfométricas en el T1 = 80 dds (35 ddt).....	208
Tabla 6. Acumulación de N foliar y variables de eficiencia del uso de nutrientes en el T1 = 80 dds (35 ddt).....	215
Tabla 7. Variables morfométricas, nitrógeno foliar y en bulbos, y rendimiento en el T2 = 114 dds (69 ddt).....	217
Tabla 8. Acumulación de N y variables de rendimiento y eficiencia del uso de nutrientes en el T2 = 114 dds (69 ddt).....	224

Capítulo 7

Tabla 1. Índices de calidad del suelo para el agroecosistema de cebolla biofertilizada en condiciones de déficit hídrico y fertilización inorgánica.....	245
Tabla 2. Objetivos y conclusiones de los capítulos de la tesis. Para cada capítulo se presenta la conclusión general más importante.....	252

Índice de Figuras

Capítulo 1

Figura 1. Descripción de las interacciones planta-microorganismos-suelo que ocurren en la rizósfera (adaptado de Gianfreda, 2015).....	3
Figura 2. Mecanismos de acción de los microorganismos promotores de crecimiento vegetal (Rosas y Correa 2003; Singh et al., 2014; Etesami et al., 2017).....	4
Figura 3. Papel de los microorganismos disolventes de fosfato como agentes biocontroladores en la protección y promoción del crecimiento vegetal. Fuente: Mitra et al. (2020).....	5
Figura 4. Mecanismos promotores del crecimiento vegetal presentes en las bacterias que disuelven K. En la placa se observa la disolución de mica (un mineral con K) en el medio Aleksandrov (Meena et al., 2014).....	6
Figura 5. Agroecosistema biofertilizado con RPCV.....	14
Figura 6. Agroecosistema no inoculado con RPCV.....	15
Figura 7. Tolerancia Sistémica Inducida (TSI) por las RPCV, en condiciones de sequía, estrés salino, y baja fertilidad del suelo. Las flechas discontinuas señalan los compuestos bioactivos secretados por las RPCV. Las flechas continuas indican los compuestos vegetales afectados por los compuestos bacterianos. ACC deaminasa = 1-aminociclopropano-1-carboxilasa, ERO = especies reactivas al oxígeno, TAK = transportadores de alta afinidad de K^+ . Fuente: Yang et al. (2009).....	23
Figura 8. Posibles mecanismos que disminuyen la actividad fotosintética bajo condiciones de sequía (Farooq et al., 2012).....	28
Figura 9. Precipitación anual total (mm) desde 2010 al 2015 en San Juan de Lagunillas, Mérida (Urbina et al., 2015). Las barras azules indican precipitación por encima del promedio. Las barras rojas indican precipitación por debajo del promedio.....	30
Figura 10. Climadiagrama de Gaussen de San Juan de Lagunillas, Mérida, Venezuela, para los años 1970 a 1997 (Aranguren et al., 2012).....	31
Figura 11. Esquema de una planta de cebolla de bulbo.....	34
Figura 12. Asignación de biomasa a los diferentes órganos en plantas de cebolla híbrido Yellow Granex en condiciones de campo en el trópico (Casierra y Vargas, 2015).....	39
Figura 13. Distribución de asimilados en las plantas de cebolla a lo largo del ciclo productivo de <i>Allium cepa</i> híbrido Yelow Granex en el trópico (Casierra y Vargas, 2015). a. Contenido de N, b. Contenido de P, c. Contenido de K.....	40

Figura 14. Fases del cultivo y requerimiento hídrico de *A. cepa*. dds: días después de la siembra; ddt: días después del trasplante; Kc: coeficiente del cultivo. Fuente: datos personales E.L. Blanco, adaptado de Haifa-Group (2016) y Allen et al. (2006). 46

Figura 15. Base teórica y aportes esperados de la investigación..... 49

Figura 16. Distribución espacial en campo en la Estación Experimental IIAP-ULA San Juan de Lagunillas, Mérida. Los números indican los tratamientos aplicados. 1= 0 % NPK + inóculo, 2= 50 % NPK + inóculo, 3= 100 % NPK + inóculo, 4= 100 % NPK No inoculado..... 54

Capítulo 2

Figura 1. Curvas de saturación de luz realizada a las plántulas a los 60 dds en condiciones de umbráculo. Densidad de flujo fotónico fotosintético (DFFF) Vs. Tasa de asimilación de CO₂ (A). Control (sin inocular): $[A = 13,88 * (-29,64 + DFFF) / (-29,64 + 269,07 + DFFF)]$; $R^2 = 0,986$. Consorcio ME01+Leu2A: $[A = 14,65 * (-32,01 + DFFF) / (-32,01 + 459,50 + DFFF)]$; $R^2 = 0,956$ 82

Capítulo 3

Figura 1. Características de precipitación y temperatura de la zona de San Juan de Lagunillas, Mérida-Venezuela. Precipitación y temperatura período enero 2010 - junio 2017. Fuente: datos de la Estación Experimental del IIAP-ULA San Juan de Lagunillas, Mérida..... 93

Figura 2. Precipitación diaria durante el ciclo de cultivo de cebolla. ddt = días después del trasplante..... 99

Figura 3. Condiciones de humedad del suelo durante el ciclo del cultivo determinadas con los sensores de humedad del suelo..... 99

Figura 4. Contenido de humedad en el suelo (CHS) para las dos condiciones de riego. El tramo de la línea continua azul 0-24 h indica el CHS en la parcela con RN y el tramo de la línea continua azul 0-96 h indica el CHS en la parcela con DH. UCR: umbral crítico de riego para la cebolla (Duarte et al., 2012). CRA: capacidad máxima de retención de agua..... 100

Figura 5. Fenología, grados-día acumulados (°Cd), y radiación global acumulada (MJ m⁻² d⁻¹) para el cultivo de *A. cepa* solo para la condición de RN 100% requerimiento hídrico (control de producción 100% NPK no inoculado)..... 101

Capítulo 4

Figura 1. Variables ecofisiológicas determinadas a los 35 ddt. A= tasa fotosintética, 129
E=tasa de transpiración, Gs=conductancia estomática, EUA= eficiencia del uso del
agua (A/E). Hora de medición DFFF $\approx$ 500 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 8:30 am; DFFF > 1700 μmol
 $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 11:30 am. RN= riego normal, DH= déficit hídrico, CM= consorcio microbiano
Letras distintas indican diferencias significativas ($p<0,05$) a un nivel de confianza del
95%.....

Figura 2. Variables ecofisiológicas determinadas a los 69 ddt. A= tasa fotosintética, 133
E=tasa de transpiración, Gs=conductancia estomática, EUA= eficiencia del uso del
agua (A/E). Hora de medición 12 m. DFFF > 1400 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Letras distintas
indican diferencias significativas ($p<0,05$) a un nivel de confianza del
95%.....

Figura 3. Dinámica de la tasa fotosintética (A), tasa de transpiración (E) y 138
conductancia estomática (Gs) en los tres momentos de medición durante el ciclo de
cultivo. Valores determinados en horas del mediodía con DFFF entre 1400 y 1800
 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. RN = riego normal, DH= déficit hídrico, CM= consorcio microbiano,
dds= días después de la siembra.....

Figura 4. Rendimiento del cultivo de cebolla según los tratamientos aplicados a los 140
71 ddt o 117 dds. RN= riego normal, DH= déficit hídrico; CM= consorcio
microbiano. Letras distintas indican diferencias significativas ($p<0,05$) a un nivel de
confianza del 95%. Ver Capítulo 3

Capítulo 5

Figura 1. Toma de muestras del suelo rizosférico por tratamiento a los 64 ddt. a. 158
Reinoculación localizada con el CM. b. Recuperación del suelo rizosférico por
planta. c. Área de suelo rizosférico 3 cm aproximadamente desde el centro del
sistema radicular.....

Figura 2. Relación rizósfera/suelo de acuerdo a los tratamientos aplicados. R/S = 173
 C_{mic} de suelo rizosférico (para cada tratamiento) / C_{mic} de suelo no rizosférico
(control absoluto). Valores promedios ($n=3$) y desviación estándar (barras). Letras
diferentes indican diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza
del 95%. Condición de riego: RN= riego normal, DH= déficit hídrico, CM=
consorcio microbiano. El porcentaje representa la dosis aplicada del fertilizante
NPK.

Capítulo 6

Figura 1. Relación de bulbificación a los 35 ddt (Diámetro del bulbo/diámetro cuello). Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días ETc 67%). CM= consorcio microbiano.....	209
Figura 2. Tasa de crecimiento absoluto a los 35 ddt. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días ETc 67%). CM= consorcio microbiano.....	209
Figura 3. Variables de crecimiento foliar en el T1=35 ddt a. Índice de área foliar. b. Área foliar específica. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0,05$), $\pm$ una desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano.....	210
Figura 4. Tasa de crecimiento relativo total a los 35 ddt. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días ETc 67%). CM= consorcio microbiano.....	212
Figura 5. Tasa de crecimiento relativo de cada órgano a los 35 ddt. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano. a. Tratamientos en condición RN. b. Tratamientos en condición DH.....	212
Figura 6. Distribución de asimilados en cada tratamiento a los 35 ddt. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0,05$) a nivel de la raíz, $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano. a. Tratamientos en condición RN. b. Tratamientos en condición DH.....	213
Figura 7. Relación de bulbificación a los 69 ddt (Diámetro del bulbo/diámetro cuello). Las barras indica la desviación estándar Tasa de crecimiento absoluto a los 69 ddt. Las barras indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días ETc 67%). CM= consorcio microbiano.....	218

Figura 8. Tasa de crecimiento absoluto a los 69 ddt. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano.....	218
Figura 9. Tasa de crecimiento relativo total a los 69 ddt. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano.....	226
Figura 10. Tasa de crecimiento relativo de cada órgano a los 35 ddt. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P<0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano. a. Tratamientos en condición RN. b. Tratamientos en condición DH.....	220
Figura 11. Distribución de asimilados en cada tratamiento a los 69 ddt. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano. a. Tratamientos en condición RN. b. Tratamientos en condición DH.....	221

Capítulo 7

Figura 1. Cambios relativos en las propiedades del agroecosistema de acuerdo con los tratamientos aplicados en la condición riego normal (RN). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de medias LSD a un nivel de confianza del 95%. Los valores se estandarizaron utilizando como referencia el control de producción. El porcentaje representa la dosis aplicada del fertilizante NPK. CM= consorcio microbiano. Rend= rendimiento, MG= ICS Media geométrica, EUA= Eficiencia del uso del agua, IAF= índice de área foliar, Ext N= extracción de N en bulbos, Diám bulb= diámetro del bulbo, PS bulb= peso seco del bulbo, A= tasa de asimilación de CO_2	247
Figura 2. Cambios relativos en las propiedades del agroecosistema de acuerdo con los tratamientos aplicados en la condición déficit hídrico (DH). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de medias LSD a un nivel de confianza del 95%. Los valores se estandarizaron utilizando como referencia el control de producción. El porcentaje representa la dosis aplicada del fertilizante NPK. CM= consorcio microbiano. Rend= rendimiento, MG= ICS Media geométrica, EUA= Eficiencia del uso del agua, IAF= índice de área foliar, Ext N= extracción de N en bulbos, Diám bulb= diámetro del bulbo, PS bulb= peso seco del	248

bulbo, A= tasa de asimilación de CO₂.....

Figura 3. Efectos más significativos de los microorganismos sobre el agroecosistema 251
cebolla, en condiciones de estrés hídrico y fertilización inorgánica. Letras de color azul indican las variables que son similares o superiores con respecto al control de producción. Letras de color vinotinto indican las variables que son inferiores con respecto al control de producción. CM= consorcio microbiano; RN= riego normal; DH= déficit hídrico; A= tasa de asimilación de CO₂; E= tasa de transpiración; Gs= conductancia estomática; Tf= temperatura foliar; Rend= rendimiento; VC= variables de crecimiento; EUA_f= eficiencia del uso del agua fotosintética; EUA_r= eficiencia del uso de agua de riego; IP= índices de productividad; %Nf= % nitrógeno foliar; Act.mic= actividad microbiológica; Act.enz= actividad enzimática; CS= calidad del suelo.....

www.bdigital.ula.ve

Índice de Anexos

Capítulo 1

Anexo 1. Perfil, condiciones de formación, clasificación, propiedades físicas y químicas del suelo de San Juan de Lagunillas. Fuente: Malagón, 1979; Ochoa et al., 2010.....	72
Anexo 2. Análisis físico-químico del suelo de la parcela experimental.....	73
Anexo 3. Análisis del agua de riego de la parcela experimental.....	74

Capítulo 7

Anexo 1. Coeficiente de correlación de Spearman entre las variables más representativas del agroecosistema cebolla, bajo la aplicación de biofertilizantes en condición de déficit hídrico y fertilización inorgánica. Los valores dentro cada casilla muestran el valor de ρ de Spearman. Los valores en color rojo indican una correlación significativa ($p < 0,05$). Valores entre 0,4–0,69 indican una correlación moderada; valores entre 0,7–0,89 indican una correlación alta; valores entre 0,9–1 indican una correlación muy alta.	257
Anexo 2. Cálculo de los índices de calidad del suelo (ICS).....	261
Anexo 3. Cálculo para el análisis multivariado del agroecosistema por área empleando gráficos de radar..	262

CAPÍTULO 1

Introducción general

El ambiente rizosférico

La rizósfera es un complejo ejemplo de equilibrio ecológico que se establece entre la flora microbiana y las raíces de las plantas gracias a las relaciones biológicas de tipo sinérgico o comensalista. La composición inorgánica del suelo también influye sobre la planta y la flora microbiana. En efecto, la rizósfera se puede definir como un nicho ecológico que comprende la superficie de la raíz de la planta y la región del suelo alrededor de la misma, en la cual las poblaciones microbianas son afectadas por los exudados radiculares, y éstas a su vez, producen metabolitos que influyen positiva o negativamente sobre el crecimiento de las plantas. Es una zona de intensa y compleja actividad microbiana (Rosas y Correa 2003; Manoharachary y Mukerji, 2006). Más recientemente, Gianfreda (2015) define la rizósfera como un microambiente del suelo peculiar donde las propiedades del suelo, las raíces de las plantas y las características y actividades de los microorganismos interactúan entre sí de forma coordinada (Figura 1). La comunidad de la rizósfera está compuesta por una microbiota (bacterias, hongos y algas) y una micro y mesofauna (protozoarios, nemátodos, insectos y ácaros). Las actividades de los microorganismos para producir y liberar metabolitos que estimulan el crecimiento de las plantas, y favorecen la salud de estas son consideradas como uno de los factores más importantes en la fertilización biológica de los suelos. Las bacterias que habitan la rizósfera son llamadas rizobacterias (Rosas y Correa 2003).

Los efectos de la microbiota sobre el crecimiento y desarrollo vegetal se resumen en fijación biológica de N_2 , aumento de la disponibilidad de nutrientes por mecanismos de la disolución de los minerales, producción de reguladores de crecimiento, control biológico mediante producción de antibióticos y producción de sideróforos, entre otros. Asimismo, esta microbiota se asocia a la rizósfera porque recibe los beneficios aportados por los exudados radiculares como azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, etc., los cuales son fuente de energía de las comunidades microbianas allí presentes (Reyes et al., 2008). En la rizósfera se encuentran tanto microorganismos benéficos como patógenos. En esta zona del suelo hay mayor estabilidad de partículas, tanto por acción mecánica de las raíces como por la acción agregante de los exudados de los diferentes organismos presentes como plantas y microorganismos (Rosas y Correa 2003).

Zonificación de la rizósfera

A partir de los avances en el conocimiento del funcionamiento de la rizósfera se ha visto la necesidad de dividir este espacio en ectorrizósfera y rizoplasma, y dependiendo de la capacidad invasiva de la flora microbiana se incluye la endorrizósfera. Sin embargo, la rizósfera (ectorrizósfera), rizoplasma y endorrizósfera forman un continuo que es difícil de

distinguir en términos de ecología microbiana (Rosas y Correa 2003; Manoharachary y Mukerji, 2006; Yadav et al., 2015):

- Ectorrizósfera: es el área externa de la raíz ubicada hasta 1 mm o 3 mm a partir de la superficie. Es el área que rodea la raíz y que contiene pelos radiculares y mucílago bacteriano.
- Rizoplano: es la capa superficial de la raíz cubierta por una capa mucilaginoso o mucigel de unos 0,5 a 8 μm de grosor. Está colonizado por microorganismos.
- Endorrizósfera: Comprende las células de las capas más externas desde la superficie hacia el interior de la raíz como la epidermis, hasta parte del tejido vascular que incluso puede estar colonizado por microorganismos endofíticos.

La proliferación de microorganismos durante la colonización de la raíz, es el resultado de la interacción física, química y de caracteres biológicos del vegetal así como propiedades de las bacterias en sí, y se encuentra afectada por diversos factores del medioambiente como el potencial mátrico, pH, temperatura, tipo de suelo, genotipo de la planta y los microorganismos indígenas (Hozore y Alexander, 1991; Ikeda et al., 1998). Asimismo, las densidades celulares son mayores a medida que los microorganismos están más cerca de la rizósfera. Por ejemplo, para el caso del maíz, se ha identificado que las poblaciones microbianas pueden estar en el orden de 10^9 unidades formadoras de colonias (UFC) g^{-1} de suelo seco en la rizósfera, 10^6 UFC g^{-1} de raíz en el rizoplano, y 10^4 UFC g^{-1} de raíz en la endorrizósfera (Thuar, 2003). En función de las densidades poblacionales microbianas, el efecto de los exudados rizosféricos de las plantas se manifiesta en la relación rizósfera/suelo (R/S) siendo ésta más alta (44,0) cuando los microorganismos son dependientes de los exudados radicales al encontrarse en un suelo empobrecido nutricionalmente y en deterioro físico-químico, pero si el suelo tiene un buen estado nutricional, con nutrientes disponibles para el metabolismo microbiano la relación R/S es baja (4,6) (Reyes y Valery, 2007).

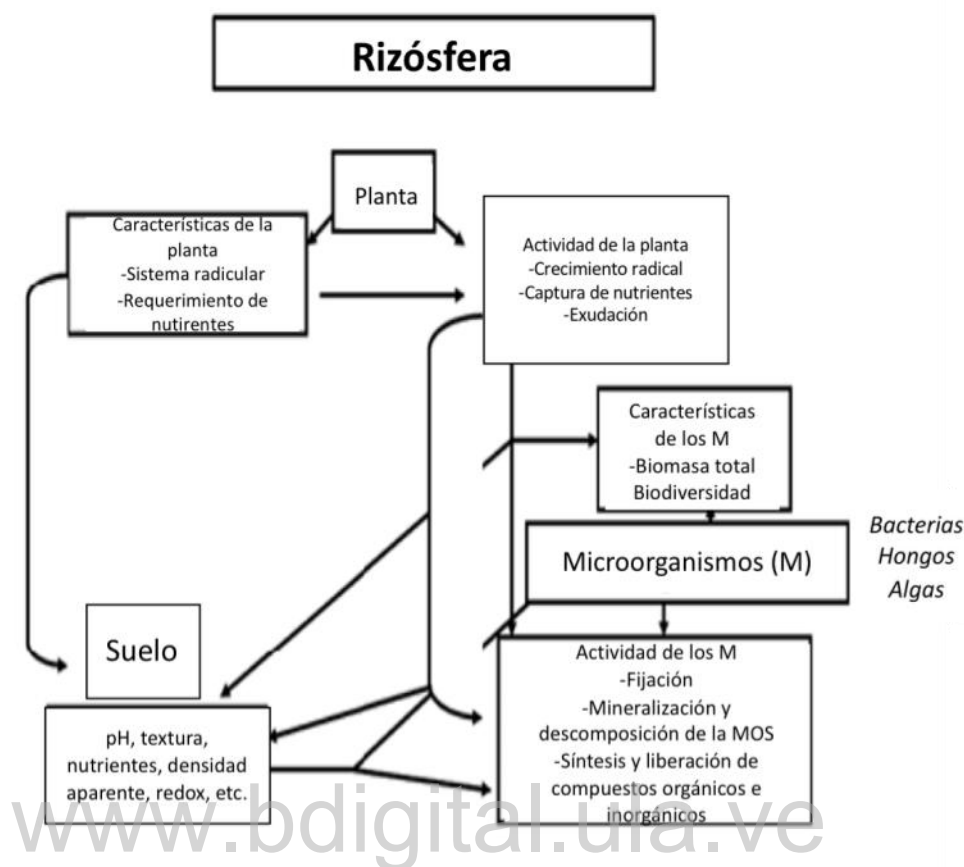


Figura 1. Descripción de las interacciones planta-microorganismos-suelo que ocurren en la rizósfera (adaptado de Gianfreda, 2015).

Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV)

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal son microorganismos que habitan la rizósfera de los cultivos, y forman una población heterogénea de bacterias, e interactúan positivamente entre ellas y la planta provocando efectos positivos sobre los cultivos (Olmedo, 2003; Bhattacharyya et al., 2020). Estos microorganismos representan una amplia variedad de bacterias que crecen asociadas a raíces de plantas hospedadoras y producen una estimulación del crecimiento de las plantas a las cuales están asociadas mediante distintos mecanismos de acción (Vessey, 2003). En función del total de individuos, aproximadamente el 2 al 5 % de las bacterias de la rizósfera son RPCV (Antoun y Prévost, 2005). Más recientemente, consideran que entre todos los microorganismos que compiten por colonizar la rizósfera, solo entre el 1 y 2 % son los que pueden promover el crecimiento vegetal (Bhattacharyya et al., 2020). La aplicación de microorganismos de suelos y sus metabolitos secundarios se ha convertido en una herramienta biotecnológica como alternativa para favorecer el desarrollo de las plantas. Los microorganismos que promueven el crecimiento y desarrollo vegetal son también denominados PGPR's por sus siglas en

inglés (Plant growth promoting rhizobacteria) y pueden tener dos modos de acción (Rosas y Correa 2003; Jacobsen, 1997; Taiwo et al., 2019):

- Directos: cuando la promoción comprende aquellos mecanismos en donde los microorganismos proveen a la planta compuestos que ellos mismos sintetizan o bien facilitan a los vegetales la toma de algunos nutrientes esenciales que son inmóviles en el medio ambiente.
- Indirectos: cuando la promoción estimula el estado de salud de la planta a través del biocontrol de enfermedades, promoviendo otras simbiosis benéficas, o cuando los microorganismos degradan compuestos xenobióticos en suelos contaminados.

Los mecanismos asociados a los microorganismos promotores pueden verse en la Figura 2.

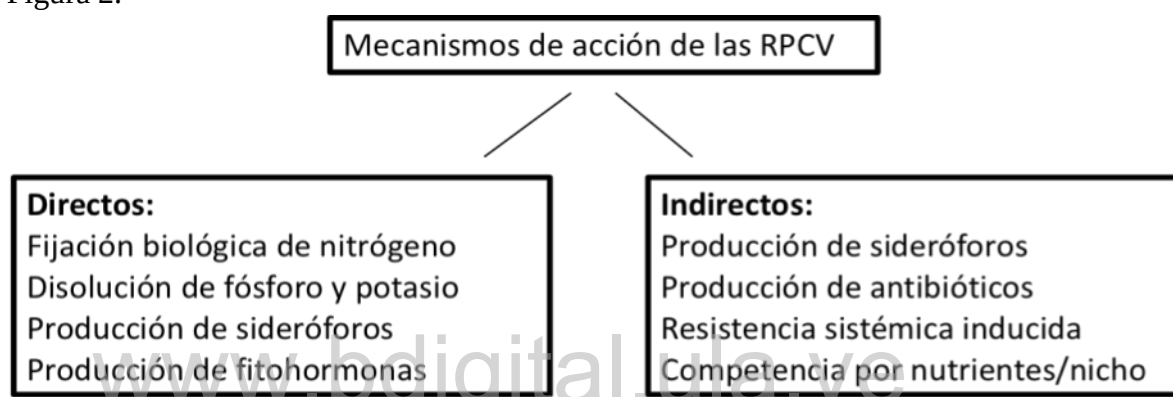


Figura 2. Mecanismos de acción de los microorganismos promotores de crecimiento vegetal (Rosas y Correa 2003; Singh et al., 2014; Etesami et al., 2017).

Mecanismos de las RPCV sobre las plantas

La Fijación biológica de nitrógeno (FBN) es la fuente más importante en la naturaleza para el aporte de este elemento tan esencial para la vida y es realizada por un grupo limitado de organismos procariotas tanto simbiotes como de vida libre que poseen la enzima nitrogenasa (N-asa) con la que transforman el nitrógeno atmosférico en amonio el cual es absorbible por las plantas. Dentro de los microorganismos de vida libre que realizan la FBN se destacan los del género *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Beijerinckia*, y dentro de los organismos simbiotes se encuentran los llamados rizobios (Monzón de Asconegui, 2003; Rosas y Correa, 2003).

Por su parte, la disolución de fósforo, por microorganismos, ocurre cuando éstos tienen la habilidad de romper el enlace entre grupos fosfatos de los compuestos de origen mineral, mientras que la mineralización ocurre con los compuestos de origen orgánico (Richardson y Simpson, 2011). Los microorganismos liberan ácidos orgánicos que disuelven los fosfatos insolubles tanto cuando son cultivados en medios con nutrientes

sintéticos como cuando se encuentran asociados a las raíces de plantas, convirtiendo el fosfato insoluble a formas accesibles a las plantas, tales como ortofosfatos, asimismo utilizando el mecanismo de extrusión de protones en el caso de una leve disolución de fosfatos (Berthelin et al., 1990; Rodríguez et al., 2006; Reyes et al., 1999).

En la reciente finalizada década se reportó la capacidad disolvente de fosfatos por los ácidos: oxálico, cítrico, glucónico, y 2-cetoglucónico. Dentro de los géneros bacterianos con capacidad de producir ácidos orgánicos que disuelven fosfatos están: *Pseudomonas*, *Rhizobium*, y *Erwinia*. La capacidad de los ácidos orgánicos para aumentar la disponibilidad de P, no sólo se debe a la acidificación de la rizósfera de la planta, sino también a su capacidad de formar complejos estables con Fe y Al. Los ácidos orgánicos incrementan la disponibilidad de micronutrientes como Fe, Zn y Mn al disminuir el pH en la rizósfera o por la quelación de estos micronutrientes. De igual manera, los ácidos orgánicos participan en el suelo en fenómenos como la quimiotaxis microbiana y la detoxificación de metales (Paredes-Mendoza y Espinosa-Victoria, 2010). En la Figura 3 se resume el potencial de los microorganismos disolventes de fosfato (MDF) en el crecimiento de las plantas:

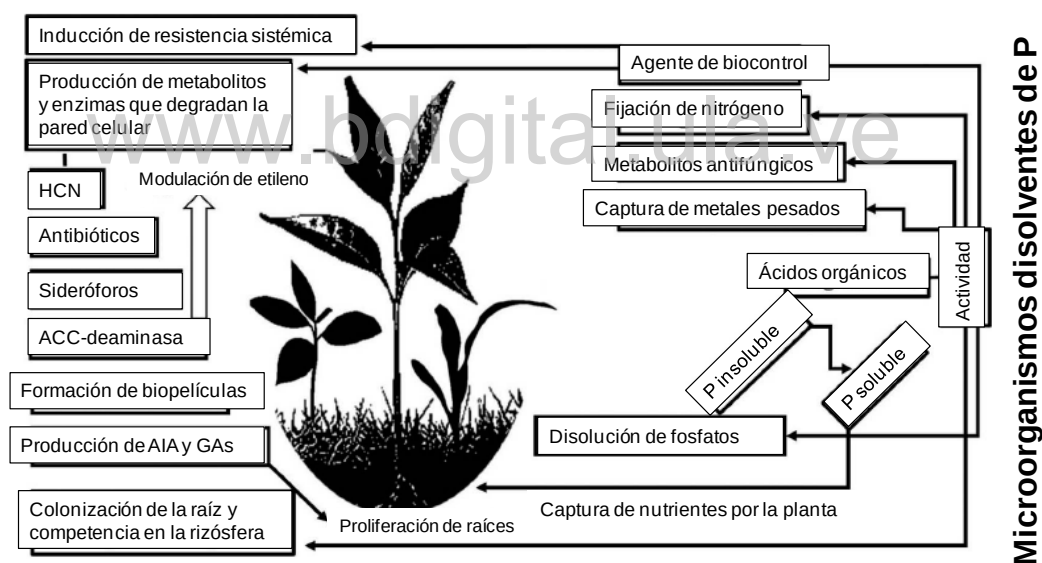


Figura 3. Papel de los microorganismos disolventes de fosfato como agentes biocontroladores en la protección y promoción del crecimiento vegetal. Fuente: Mitra et al., 2020).

Las RPCV disuelven el K a través de los mecanismos conocidos como a. reducción del pH (a través de la liberación de ácidos orgánicos y protones por los microorganismos), b. mejorando la quelación de los cationes unidos al K como el Si, Fe, Ca y el Al, y c. acidólisis del área circundante del microorganismo, que a través de la producción de ácidos orgánicos (succínico, cítrico, glucónico, oxálico, cetoglucónico) por los microorganismos al

medio ambiente alrededor de el acidifica las células del microorganismo y su ambiente circundante e induce la liberación de iones K del K mineral por protonación y acidificación (Meena et al., 2014; Etesami et al., 2017). Algunos géneros microbianos que han sido reportados como disolventes de K son: *Bacillus*, *Burkholderia*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, y *Rhizobium* (Meena et al., 2014; Wang et al., 2020). Los mecanismos de promoción del crecimiento vegetal que presentan las RPCV que disuelven K se resumen en la Figura 4:

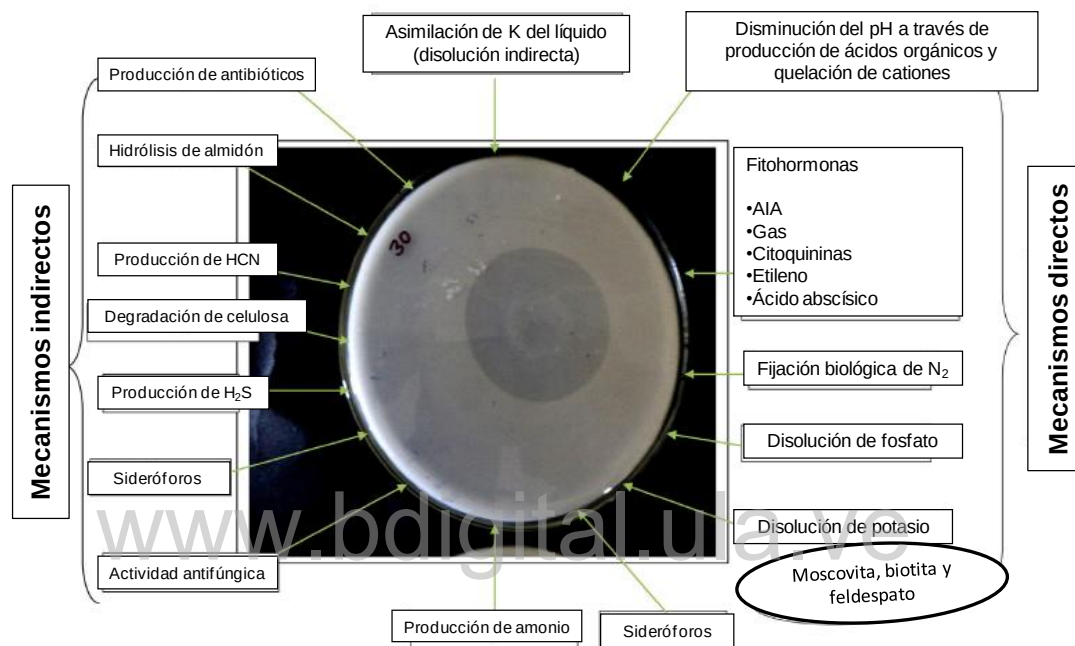


Figura 4. Mecanismos promotores del crecimiento vegetal presentes en las bacterias que disuelven K. En la placa se observa la disolución de mica (un mineral con K) en el medio Aleksandrov (Meena et al., 2014).

Los microorganismos que se encuentran en la rizósfera tienen una relación mutualista con las raíces de las plantas y dependen de los exudados radicales como aminoácidos, carbohidratos (principalmente azúcares) y ácidos orgánicos. La microflora del suelo sintetiza hormonas vegetales que producen cambios en el crecimiento y desarrollo del vegetal, dichas hormonas pueden ser auxinas, giberelinas, citoquininas, etileno y ácido abscísico (Rosas y Correa, 2003). En este sentido, Boiero et al. (2007) encontraron la producción de fitohormonas como ácido indol acético (AIA), ácido giberélico y ácido abscísico, etileno y zeatina por tres cepas de *Bradyrhizobium japonicum*, y la asociaron a la promoción del crecimiento de la soja. Es conocido que las auxinas promueven la formación de raíces laterales (Tanimoto, 2005), lo que podría contribuir a una mejora en la captura de nutrientes del suelo, razón por la cual cuando los microorganismos las producen se incrementa sustancialmente el crecimiento vegetal. Esto ha sido observado por Pieterse y

Van Loon (1999), quienes obtuvieron un aumento del 30% del crecimiento en plantas de *Arabidopsis* inoculadas con la cepa WCS417 de *Pseudomonas fluorescens* productora de AIA. También ha sido demostrado que otras cepas de los géneros *Escherichia*, *Micrococcus* y *Staphylococcus* aumentan la biomasa fresca y seca del vástago de las plantas de *Vigna radiata* L. (Basharat et al., 2010). Por su parte, Colo et al. (2014) evaluaron RPCV dentro de las cuales una cepa de *Bacillus subtilis* mostró habilidad para producir AIA y de la misma manera incrementó en 63 % el peso del bulbo y la producción del cultivo de cebolla. Asimismo, Peña y Reyes (2007) evaluaron el efecto de las cepas 33 y 45 del género *Rhizobium* sp. productoras de AIA, las cuales incrementaron significativamente el peso seco de plántulas de lechuga de 30 días de siembra en umbráculo, en 32 % la cepa 33, y en 18 % el consorcio 3345; y en otro estudio Taiwo et al. (2019), mencionan la producción de AIA, ácido giberelico y citoquininas por aislados de *Zea mays* identificados como *P. putida*, *K. varriicola* y *B. thuringiensis*.

Otro efecto importante sobre el crecimiento de las plantas producido por las RPCV es la liberación de sideróforos en condiciones de poca disponibilidad de Fe, lo cual facilita la movilidad y disponibilidad de otros micronutrientes. Los sideróforos son compuestos de bajo peso molecular quelantes de hierro que puede constituir un mecanismo directo, cuando provee el mineral a la planta o indirecto cuando priva de Fe al patógeno limitando su crecimiento y de esta forma proporciona salud al vegetal (Leong, 1986; Rosas y Correa 2003).

Las RPCV en la productividad de los cultivos: biofertilizantes y biocontroladores

La aplicación de la biotecnología puede permitir o facilitar el camino hacia un desarrollo sostenible, en este caso a través del uso de las RPCV como biofertilizantes para disminuir la aplicación de altas dosis de fertilizantes industriales en los cultivos manteniendo o incrementando la producción de los mismos. Se conoce como biofertilizantes a las sustancias que contienen microorganismos vivos que al aplicarse a las semillas, superficie de las plantas o al suelo, colonizan la rizósfera o el interior de la planta, promoviendo de esta forma su crecimiento, incrementando la disponibilidad de nutrientes y la salud de la planta hospedadora (Vessey, 2003). Los biofertilizantes son una fuente facilitadora del manejo de los nutrimentos que benefician el rendimiento de los cultivos y forman parte de una tecnología que garantiza una productividad biológica, económica y ecológica más exitosa, sin contaminación del ambiente y de inocuidad para el hombre (Aguirre et al., 2009).

Leaungvutiviroj et al. (2010) desarrollaron un biofertilizante con alta capacidad fijadora de nitrógeno, disolvente de fósforo y potasio y producción de auxinas, compuesto por cuatro bacterias (*Azotobacter tropicalis*, *Burkholderia unamae*, *Bacillus subtilis* y la cepa KJB9/2), probados en maíz y brócoli chino. Por su parte, FUNDASES (2007) obtuvo para los cultivos de clavel y pompón, que la aplicación de *Azotobacter* sp., en forma de

biofertilizante líquido, tiene un efecto positivo sobre el crecimiento y producción, incluso aplicándose de forma combinada con la fertilización nitrogenada sin ser excluyente o incompatible con esta, además de producir un acortamiento de una semana en el ciclo, lo que permite a los floricultores disminuir los costos de producción en invernaderos. Aunque en nuestro país no se ha logrado desarrollar completamente la aplicación de productos bioinoculantes en los cultivos, es importante destacar que en países vecinos como Colombia, productos como TRIFESOL, FOSFOSOL, DIMAZOS Y DIMARGON que comprenden una formulación para *Trichoderma viride*, *P. janthinellum*, y bacterias fijadoras de nitrógeno como *A. chroococcum*, *A. amazonense* respectivamente, se están aplicando actualmente para mayor productividad y control de patógenos en cultivos como arroz, pastos, cereales, algodón, frutales y hortalizas (Moreno, 2007). No obstante, en Venezuela se ha demostrado que la aplicación de bioinoculantes (el hongo *Penicillium rugulosum* y cepas de las RPCV *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp., *Rhizobium* sp., *Enterobacter cloacae* y otras bacterias fijadoras de nitrógeno y disolventes de P no identificadas) mejora significativamente la producción y reduce las altas dosis aplicadas de fertilizantes inorgánicos en cultivos como de maíz, pimentón, lechuga, cebolla (Valery y Reyes, 2013; Reyes et al., 2008; Blanco y Reyes, 2018; Sulbarán et al. (2011).

En este orden de ideas de bajar el impacto ambiental y debido al incremento en los costos de los fertilizantes, en el mundo entero se recomienda reducir los niveles aplicados por debajo de los utilizados para una óptima cosecha. Sin embargo, tales reducciones pueden ocasionar un estrés en las plantas. Varios estudios han probado el efecto de las RPCV (*Pseudomonas fluorescens*) para mantener la productividad reduciendo las dosis de fertilizantes (Yang et al., 2009). Sobre el trigo se evaluó el efecto de RPCV con el 75 % de la cantidad de fertilizante NPK recomendada para este cultivo, obteniendo una cosecha equivalente a la cosecha de plantas no inoculadas y con el 100 % del fertilizante recomendado (Shaharoon et al., 2008). También, sobre el tomate se observó que en condiciones de invernadero se obtuvo mayor peso seco del fruto con la dosis 75 % de fertilizante nitrogenado e inoculado con RPCV, en comparación a la dosis 100 % no inoculada. En este mismo estudio, a nivel de campo se obtuvo una producción similar a la aplicación del 100% del fertilizante solo con la adición del 50 % del fertilizante nitrogenado pero inoculado con RPCV y micorrizas (Hernández y Chailloux, 2004).

Bolaños et al. (2016) evaluaron la aplicación de un hongo biocontrolador (*Trichoderma harzianum*) sobre el control de la moniliasis en varios clones de cacao, siendo el mejor clon el T8 (Trinitario Morado x Trinitario Morado), cuyo rendimiento fue de 3161,6 Kg ha⁻¹ y mostró un efecto positivo sobre la sanidad de las mazorcas, comparadas con un testigo no inoculado el cual disminuyó su rendimiento en un 20 %. Con esto demostraron que *T. harzianum* tiene la capacidad de inmunizar y de proteger la planta. Similar a lo que ocurre entre las bacterias y las raíces, este hongo puede sobrevivir por períodos considerables dentro de la plantación de cacao, sin causar ningún daño y protegiendo al cultivo contra una variedad de microorganismos fitopatógenos.

Ahora bien, se ha comprobado el efecto benéfico que tiene la aplicación de microorganismos promotores del crecimiento sobre diferentes cultivos, además se ha demostrado que la aplicación de estos microorganismos de forma sinérgica o en consorcios microbianos es aún más favorable. Un consorcio microbiano desde el punto de vista de la co-inoculación es una asociación de dos o más poblaciones microbianas, de diferentes especies, que interactúan sinérgicamente como una comunidad en un sistema complejo, donde todos se benefician de las actividades de los demás. La asociación refleja estilos de vida sinérgicos en el que el crecimiento y el flujo cíclico de nutrientes se conduce más efectiva y eficientemente que en poblaciones individuales (Olmedo, 2003; Ochoa-Carreño y Montoya-Restrepo, 2010). Los consorcios microbianos pueden resistir mejor los periodos de limitación de nutrientes debido a la diversidad metabólica disponible por la diversidad de especies, combinada con la habilidad de compartir metabolitos dentro de la comunidad. Una condición de limitación de nutrientes puede favorecer a una población minoritaria si esta tiene la habilidad metabólica capaz de sostener la supervivencia de todo el consorcio, o ante variadas condiciones de fertilidad del suelo, puede incentivarse la acción de un grupo funcional microbiano (Reyes y Valery, 2007). Ante niveles muy bajos de algún nutriente o recurso, los microorganismos no pueden disponer de las cantidades adecuadas para su metabolismo; y, ante niveles muy altos, esos nutrientes y/o recursos pueden causar toxicidad e inhibir el crecimiento. Ante tales fluctuaciones, los consorcios activan sus controles homeostáticos, es decir, reacciones bioquímicas que le permiten al sistema retornar a su equilibrio vital (Ochoa-Carreño y Montoya-Restrepo, 2010). Esto último aquí mencionado, también dependerá del éxito del *quorum sensing* (también llamado autoinducción), el cual se conoce como un mecanismo bacteriano de comunicación célula-célula en respuesta al tamaño de la población bacteriana para regular la expresión genética con el objetivo de producir algunos polisacáridos extracelulares, enzimas degradativas, antibióticos, sideróforos, formación de biopelículas, lo que implica la importancia del *quorum sensing* en comunidades bacterianas asociadas a plantas (Antoun y Prévost, 2005; Brom et al., 2014).

Efectos positivos de un consorcio microbiano se observaron en el caso de la inoculación de la lechuga var. Great Lakes con el consorcio BFN17 + IRMF94 (*Enterobacter cloacae* y *Penicillium rugulosum*, respectivamente), y las aplicaciones de la Roca Fosfórica de San Joaquín de Navay como fuente de P y de N comercial, que produjeron valores equivalentes en variables de importancia comercial (número de hojas, peso fresco y seco aéreo, % P foliar) respecto al tratamiento con fertilización industrial, no así la aplicación individual de cada microorganismo, lo que permitió plantear la sustitución de fuentes químicas de fosfatos solubles por fuentes de fosfatos minerales o rocas fosfóricas de baja solubilidad con el uso de este consorcio (Blanco y Reyes, 2018). No obstante, el efecto de las RPCV puede ser benéfico solo de forma individual y no en consorcio como ocurrió con el maní forrajero y el maíz (Anzuay et al., 2017).

Efecto de los fertilizantes industriales sobre los microorganismos del suelo

Para obtener una buena producción, las plantas requieren de la disponibilidad de nutrientes esenciales para su desarrollo normal que consiguen del suelo en donde ellas crecen. Dichos elementos son N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Zn, Mn, Mo y Cl. De todos ellos, los seis primeros se requieren en cantidades relativamente grandes, mientras que los demás se necesitan en cantidades muy pequeñas. El N, P y el K son los que se encuentran en el suelo, generalmente en cantidades menores a las que exigen los cultivos para tener una producción rentable, por ello, son los que reciben mayor atención y se aplican frecuentemente en un plan de fertilización en los conocidos fertilizantes completos NPK. Sin embargo, la escasez de algunos de los otros nutrientes se remedia mediante el suministro de cantidades del mismo. Por ejemplo, el Ca y el Mg se adicionan mediante el encalamiento, y el S se agrega con fertilizantes como el superfosfato simple y el sulfato de amonio o de potasio (Guzmán-Pérez, 1988).

Según Gianfreda (2015), la fertilización inorgánica en el suelo incrementa el contenido de los elementos minerales disponibles o solubles en el suelo, pero preserva o disminuye varias actividades enzimáticas de los microorganismos de la rizósfera. La fertilización orgánica (por ejemplo gallinaza y pargana) por el contrario incrementa o mejora la mayoría de las actividades enzimáticas de la rizósfera y en el suelo. En suelos con rotaciones de trigo y maíz, la abundancia de bacterias, hongos y actinomicetes en la rizósfera no difiere significativamente entre tratamientos orgánicos e inorgánicos, mientras que en el suelo no rizosférico ocurren cambios más notorios; lo que sugiere que los diferentes regímenes de fertilización influyen grandemente la comunidad microbiana tanto en el suelo como en la rizósfera (Ai et al., 2012). Esto fue observado por Reyes y Valery (2007) quienes obtuvieron que la aplicación de fertilizante NPK duplicó las densidades bacterianas y fúngicas disolventes de P y cultivables en un suelo muy ácido (pH 4,5) incrementando así la biomasa microbiana por efecto de una mejor nutrición de las plantas de maíz, y por ende mejor calidad de sus exudados radicales produciendo así un cambio en la estructura bacteriana, mientras que la aplicación de roca fosfórica como fuente de P deprimió las poblaciones bacterianas posiblemente por un efecto selectivo de la roca sobre una microflora bacteriana específica para la disolución de este tipo de fosfato.

Por otra parte, la remoción del suelo en sistemas agrícolas intensivos y la utilización de fertilizantes disminuyen el pH, lo cual afecta el equilibrio del Al y del Fe liberándolos a la solución del suelo, ocasionando un problema de toxicidad para algunos cultivos ya que el Al inhibe el desarrollo radicular, así como funciona de quelante para el P y no permite que esté accesible para las plantas. Por su parte, la microflora edáfica (bacterias amonificadoras y nitrificadoras) funcionan mejor en pH entre 6 y 7, probablemente porque en ese pH es donde están disponibles la mayoría de nutrientes que los microorganismos utilizan, de esta manera una acidificación del suelo también afecta la actividad microbiana y la tasa de descomposición de la materia orgánica (Torella et al., 2007). En condiciones de pH ácido se realiza la técnica del encalado (incorporación de Ca al suelo para neutralizar la acidez

del mismo), la cual mejora la productividad de los cultivos porque realiza una progresiva saturación con calcio de la capacidad de intercambio catiónico del suelo, aumentando así la disponibilidad de P y K para el cultivo favoreciendo de esta manera la obtención de mayores rendimientos (Bravo, 2000; Navarro, 2003). Junto con la mejora de las condiciones del ambiente edáfico para la microflora bacteriana, aumenta la tasa de mineralización de la materia orgánica, y se eleva la disponibilidad de N mineralizado para el cultivo (Rosenberg et al., 2003).

Asimismo, la corrección del pH por el encalamiento incrementa la actividad de los microorganismos celulolíticos, pues las celulasas bacterianas por ejemplo las de *Bacillus* spp. tienen su rango de acción entre pH de 6 a 7 (Howard et al., 2003), así como al haber mayor N disponible también se incrementa la degradación de celulosa (Alexander, 1977). Conjuntamente, la nodulación realizada por las bacterias fijadoras de N como los rizobios, se favorece con el incremento del pH porque mejora la movilidad de estos microorganismos en el suelo (Glenn y Dilworth, 1994), y la adición de Ca juega un papel importante sobre su crecimiento, supervivencia, adsorción a los pelos radicales del hospedador, y su capacidad de nodulación (Caetano-Anollés et al., 1989; Munns, 1970). La adsorción de rizobios a los pelos radicales podría estar mediada por rhicadesina, una proteína cuyo anclaje a la superficie bacteriana es dependiente de la presencia de Ca (Smith et al., 1991).

Además de la fertilización hay algunas prácticas agrícolas importantes que pueden afectar a la microbiota edáfica; éstas se mencionan en la Tabla 1.

Tabla 1. Efectos de algunas prácticas agrícolas sobre la microbiota.

Práctica agrícola	Efecto sobre la microbiota	Fuente
Labranza intensiva	Inhibitorio/disminución de la población microbiana	Karlen et al. (1998)
	Destrucción de la estructura del suelo y por ende del hábitat de los microorganismos	
	Incrementa la actividad enzimática por la exposición de nuevas superficies del suelo como los agregados. Aumento de amonificación de arginina, deshidrogenasa, e hidrólisis del diacetato de fluoresceína	Piotrowska-Dlugosz (2014)
Labranza reducida	Incrementa la población y la actividad	Carter (1986)

	microbiana debido a una mayor conservación de residuos sobre la superficie del suelo. Mayor macroagregación del suelo, mayor diversidad bacteriana	Lupwayi et al. (2001)
Monocultivo	Inhibitorio / Disminuye la diversidad / incrementa presencia de fitopatógenos	Gómez y Corlay (2010)
Residuos industriales	Inhibitorio / toxicidad	Gómez y Corlay (2010)
Drenaje y aireación	Estimuladorio / mayor oxigenación	Gómez y Corlay (2010)
Aplicación de pesticidas Herbicidas: Atrazina, Linurón, 2,4-D amina Alaclor Oxifluorfen y Fluaxifop Pendimentalin Fungicidas: Carbodan Previcur	Disminución de los microorganismos celulolíticos por reducción de los sustratos carbonados Menor fijación de N ₂ Incremento de la respiración basal y de la biomasa microbiana entre los 7 y 45 días de su aplicación. Sin efecto sobre la microbiota Toxicidad a los rizobios Estimula el crecimiento de los rizobios por cometabolismo del producto	Frioni (1981) Salmerón et al. (1991) Rodríguez et al. (2009) Blanco et al. (2013)
Fertilizado y encalado (fertilizantes industriales o NPK)	Incremento de las poblaciones, mayor disponibilidad de nutrientes, mayor nodulación, mayor microbiota celulolítica	Gianfreda (2015)
Enmiendas orgánicas	Incremento de las poblaciones microbianas y de la actividad enzimática	Gianfreda (2015), Rivera-Cruz et al. (2020)
Riego equilibrado	Mantiene la viabilidad de la microbiota y la actividad enzimática	Gómez y Corlay (2010)
Control de la erosión	Estimula el crecimiento de la microbiota, por menores pérdidas de nutrientes	Gómez y Corlay (2010)
Tala o poda de biomasa aérea	Incremento de las poblaciones microbianas, mayor MOS, mayor	Coyne (2000)

	actividad enzimática	
Textura del suelo	Aunque no hay diferencias significativas entre suelos de textura franca y arcillosa con respecto a parámetros biológicos, estos tienden a mostrar valores superiores en suelos arcillosos. Las variables biológicas responden más al manejo del suelo que al grupo textural	Jaurixje et al. (2013)

Enfoque agroecosistémico y el uso de las RPCV

Desde el punto de vista de la ecología ecosistémica, definida por Chapin et al. (2002) como el estudio de las interacciones entre organismos y su medio ambiente como un sistema integrado en función de los procesos, y aun con más detalle por Agren y Bosatta (1996) como la subdisciplina de la ecología que estudia la transformación, flujo y acumulación de energía y materia; aunado en agroecología al conocimiento de los factores y procesos que determinan el flujo de nutrientes entre los distintos compartimentos de un agroecosistema, y entre este y el ambiente que lo rodea para comprender su funcionamiento (Machado, 2005), podríamos decir que entender cómo es la dinámica entre los compartimentos del agroecosistema planteado, especialmente la interacción planta-microorganismo-suelo nos puede ofrecer información acerca de la función que podrían realizar las RPCV al ser incorporadas al cultivo.

En un agroecosistema tal como en un ecosistema, también se dan los procesos ecológicos tales como ciclos de nutrientes, interacción de depredador/presa, competencia, simbiosis y cambios sucesionales. Por medio del conocimiento de estos procesos y relaciones, los sistemas agroecológicos pueden ser administrados mejor, con menores impactos negativos en el medio ambiente y la sociedad, más sostenidamente y con un menor uso de insumos externos (Hecht, 1999). En las Figuras 5 y 6 se presentan diagramas de los principales compartimentos y flujos del agroecosistema que se estudiarán en este trabajo, en donde se aprecian las posibles diferencias propuestas entre la aplicación de RPCV y la no inoculación.

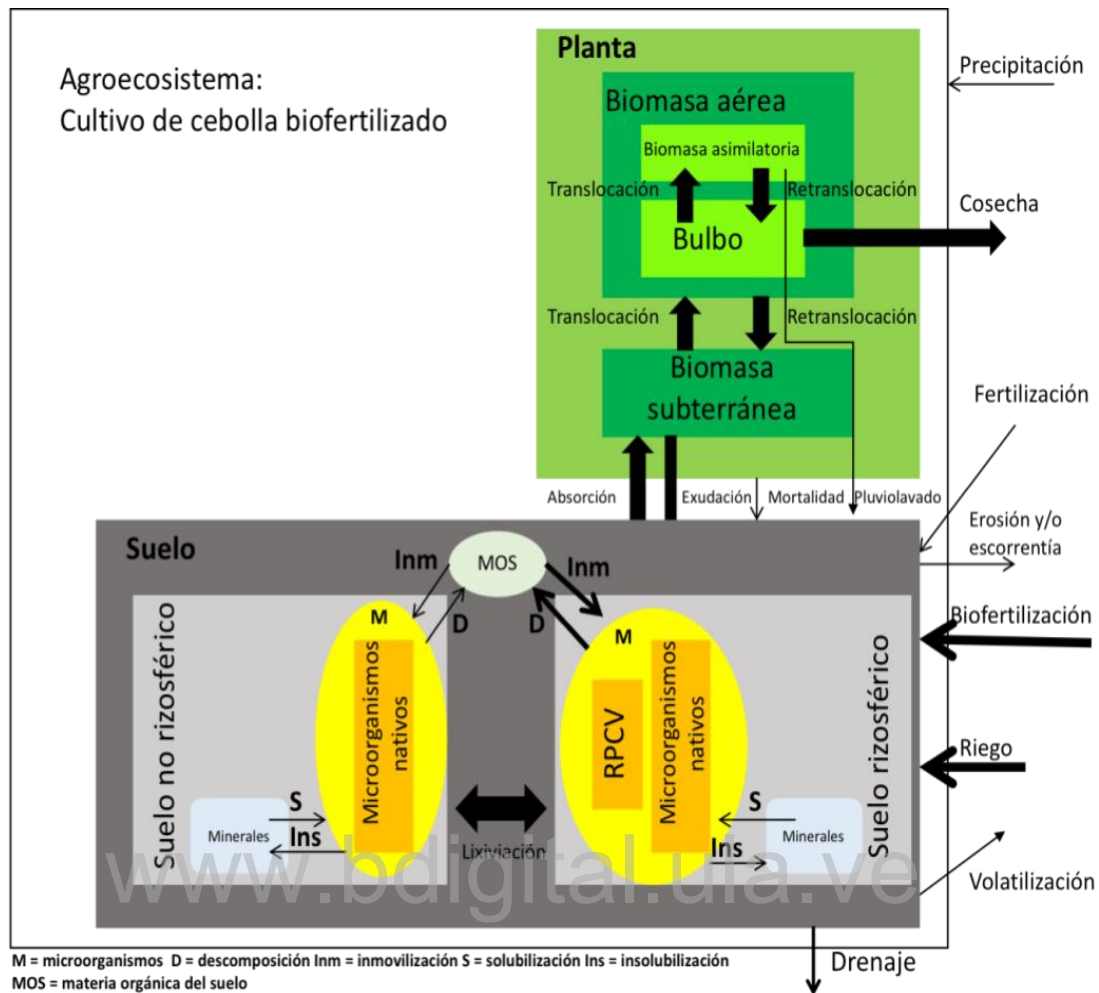


Figura 5. Agroecosistema biofertilizado con RPCV

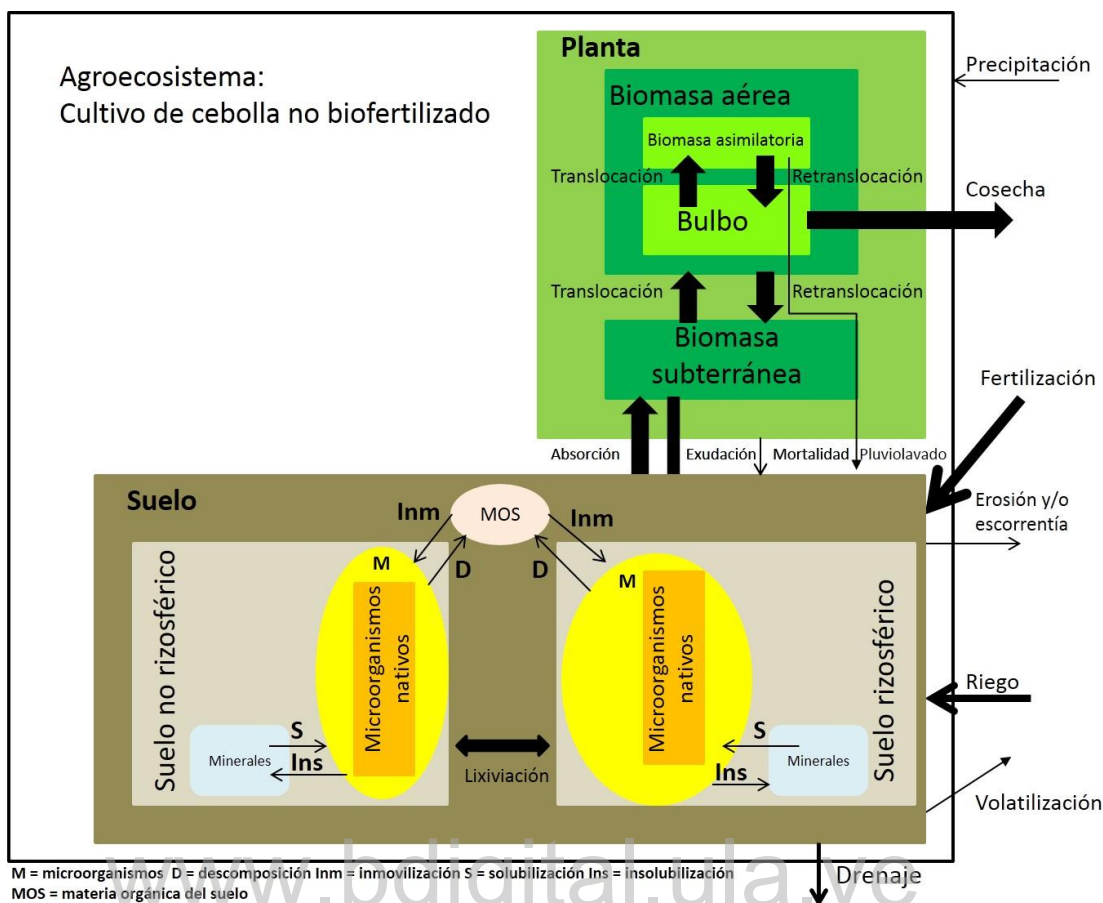


Figura 6. Agroecosistema no inoculado con RPCV

En el suelo, como en el ámbito de la rizósfera de los sistemas agrícolas las interacciones biológicas tienen mayor significado porque se les relaciona con la producción vegetal (Altamirano, 2003). La comunidad bacteriana puede ser estudiada a través de dos enfoques: estructural y funcional. Para entender el enfoque estructural es necesario conocer los grupos de individuos, sus especies y abundancia. Tradicionalmente esto se ha realizado mediante la extracción de los microorganismos del suelo por medio de cultivos en el laboratorio que permitan caracterizar los aislados morfológica, bioquímica y genéticamente, el cual constituye un método directo, y su expresión final es unidades formadoras de colonias (UFC). Sin embargo, se sabe que aunque los microorganismos sean viables, solo hasta el 10 % del total puede ser cultivable (Barriuso et al., 2008). Por esta razón, un conteo directo nos daría una subestimación de la comunidad total microbiana del suelo. El enfoque o criterio funcional es una alternativa para estimar la diversidad que se basa en la característica metabólica de los microorganismos y constituye así una herramienta útil, pues es consecuencia de la diversidad genética, de los efectos ambientales sobre la expresión genética y de las interacciones ecológicas con otros taxa (Zak et al., 1994).

Los microorganismos del suelo contribuyen a mantener la calidad de los mismos por la descomposición de residuos vegetales y animales, su participación en los ciclos biogeoquímicos, la fijación biológica del N, la formación y conservación de su estructura, así como la depuración de ambientes contaminados con sustancias de carácter xenobiótico (Frioni, 1999). Los microorganismos son indicadores sensibles por responder a prácticas de manejo de suelos en cortos periodos (meses, años) y resultan de fácil evaluación (Frioni et al., 2003). La calidad de un suelo puede definirse como la capacidad para sostener la productividad biológica, mantener la calidad del ambiente y promover la salud de plantas y animales (Doran et al., 1996). Un suelo de buena calidad debe realizar funciones de degradación, transformación de nutrientes, producción vegetal, etc. (Frioni et al., 1999). Aunque con frecuencia se hace referencia a la calidad y salud del suelo como sinónimos, en la calidad se considera a las características físicas y químicas por encima de las biológicas, mientras que la salud del suelo es principalmente una característica ecológica (Van Bruggen y Semenov, 2000) por lo tanto debe ser reflejada a través de un conjunto de parámetros estandarizados que reflejen los cambios inducidos en el mismo por sistemas de producción, prácticas de manejo, clima y actividad del hombre, y en la Tabla 2 se muestran algunas de estas variables.

Tabla 2. Parámetros empleados como indicadores de la calidad del suelo según Frioni et al. (1999).

Indicadores físicos	Indicadores químicos	Indicadores biológicos
Textura	C-orgánico total	Recuentos, biomasa microbiana
Capacidad de campo	pH	Actividad enzimática, respiración
Profundidad	Conductividad eléctrica	Medida de la biodiversidad
Densidad aparente	N, P, K, extraíbles	N-mineralizable

Actividad biológica del suelo

Generalmente, para realizar análisis de suelos se debe determinar las propiedades físicas, químicas y biológicas de estos. Las propiedades biológicas del suelo contemplan entre otros indicadores a la actividad biológica del suelo, la cual se considera como toda la actividad realizada por los organismos vivos, y a sustancias producidas por ellos. Dentro de las más importantes destaca la actividad enzimática, que puede ser intra o extra celular (Tabatabai, 1995). Otras propiedades que se determinan tienen que ver con el ciclo del carbono en el suelo, pues se sabe que la materia seca microbiana está compuesta por 50 % de carbono (Coyn, 2000). El contenido de materia orgánica total del suelo es

aproximadamente 40-60 % carbono, por ende, determinar el contenido de C orgánico total es muy importante. La materia orgánica del suelo incluye residuos orgánicos de origen vegetal y animal, y determinar el contenido de esta en el suelo es un buen indicador de fertilidad por su capacidad de proporcionar nutrientes minerales a las plantas.

La relación C/N en el suelo juega un papel fundamental en la conversión de la materia orgánica por los microorganismos a formas inorgánicas disponibles (mineralización), y en la captura de las formas inorgánicas de N disponibles dentro de los microorganismos (inmovilización). En condiciones de baja presencia de N en el suelo los microorganismos lo usan para su metabolismo, mientras que si las condiciones del C son escasas, los microorganismos lo obtienen del nitrógeno orgánico disuelto, rompiéndolo y usando el C del esqueleto carbonado para el suministro de energía requerida en su crecimiento y metabolismo y de esta manera secretar NH_4 al suelo. Se ha considerado que una alta relación C/N (>25) produce inmovilización, mientras que una baja relación C/N (<25) en el suelo, produce mineralización (Chapin et al., 2002).

Caracterización microbiológica del suelo

La caracterización microbiológica del suelo se puede hacer por medio de mediciones de la biomasa microbiana. La biomasa microbiana es definida según Jenkinson y Ladd (1981) como el componente biótico fúngico y bacteriano presente en el suelo excluyendo a la microfauna y las raíces de las plantas. La biomasa microbiana también precisa el componente funcional de la microbiota del suelo, responsable principalmente de la descomposición y reconversión de la materia orgánica y la transformación de nutrientes (Dalal y Meyer, 1987; Smith y Paul, 1990; Witter, 1996).

La biomasa microbiana puede ser determinada indirectamente y principalmente a través de tres métodos usados y estandarizados para diferentes condiciones de suelo: el método de Fumigación-Incubación (Joergensen, 1996), el método de Fumigación-Extracción (Vance et al., 1987), y la respiración inducida por sustrato (RIS). La RIS es la respiración medida en presencia de un sustrato orgánico como la glucosa o aminoácidos (Alef, 1995). El método de la RIS fue calibrado contra el método de fumigación-incubación por Anderson y Domsch (1978), quienes obtuvieron una correlación altamente significativa de 0,96 al comparar la biomasa microbiana determinada por ambos métodos en suelos con diferentes características. Estos investigadores también determinaron que la glucosa era el sustrato que inducía la mayor respuesta microbiana, entre un pool de sustratos usados como fuente de C (glucosa, ácido succínico, casaminoácidos, citrato de sodio). Entre otras cosas, este método cumple con algunas premisas: 1. la respuesta de la RIS en diferentes organismos es constante, 2. la mayoría de la microbiota del suelo responde durante el periodo medido (4-6 h), 3. la glucosa es el sustrato que induce la respuesta máxima, 4. La contribución de C microbiano de la glucosa no metabolizada por la microbiota es

insignificante (Sparling, 1995). En este sentido, al determinar la biomasa microbiana se mide toda la microbiota del suelo, pero se considera que las bacterias nitrificantes, rizobios y actinomicetes representan un indicador altamente sensible a los cambios en la calidad del suelo porque su función es la degradación de la materia orgánica y la nitrificación; mientras que otros microorganismos como algas, hongos u otras bacterias como *Azotobacter* sp. son menos sensibles porque tienen funciones como denitrificación, amonificación y fijación de N (Domsh *et al.*, 1983). En este sentido, se calcula que apenas el 10% de la masa fúngica es estimada (comunicación pers. D. Acevedo). Normalmente los valores de biomasa microbiana se reportan en mg C Kg^{-1} de suelo seco.

La actividad respiratoria como la respiración basal (RB) también permite medir la actividad microbiana del suelo. En ella se determina la producción de CO_2 o consumo de O_2 . En este caso se determina el CO_2 desprendido del suelo por la actividad biológica y del contenido de C orgánico en el suelo fácilmente mineralizable. Se define como la respiración sin la adición de un sustrato orgánico al suelo (Alef, 1995). Relaciones entre la RB, la biomasa microbiana y el C orgánico pueden determinarse a través de los cocientes metabólicos.

El cociente microbiano ($q_{\text{Mic}} = (\text{C-biomasa}/\text{C-orgánico}) \times 100$) es considerado como un indicador de la actividad biológica en el suelo y de la acumulación de MOS, de la disponibilidad de carbono de los microorganismos, de la eficiencia en la conversión del carbono a biomasa microbiana y de la estabilización del carbono por la fracción mineral del suelo (Sparling, 1992), y se reportan valores entre 1 - 4%. Por otra parte, el cociente metabólico o cociente ecofisiológico ($q_{\text{CO}_2} = \text{RB}/\text{C-biomasa}$) es la tasa de respiración por unidad de biomasa, y el término ecofisiológico hace referencia a la influencia del medio ambiente sobre la biomasa microbiana como unidad biológica, por ende el estado ecofisiológico de la microbiota del suelo (Dilly *et al.*, 2001; Insam y Haselwandter, 1989). A mayor q_{CO_2} , se dice que la comunidad microbiana está en condiciones de estrés, o que es una comunidad joven, pues es mayor la respiración de los microorganismos que el tamaño que ocupan y se encuentran en crecimiento (Odum, 1969), o puede haber factores que estén influenciando su crecimiento como los pesticidas, la salinidad, metales pesados. De esta manera, más recientemente el cociente respiratorio ($q_{\text{CO}_2}/\text{C-orgánico}$) hace referencia a la eficiencia metabólica como la relación entre el uso eficiente del C y la calidad de la materia orgánica en el suelo (Dilly *et al.*, 2001). Dilly *et al.* (2001) y Dilly (2005) propusieron este nuevo índice ecofisiológico llamado cociente de eficiencia metabólica que no es más que el cociente metabólico normalizado por el contenido de carbono orgánico. Este parámetro integra la respiración basal, la biomasa microbiana y el contenido de carbono orgánico en un solo valor (Paolini, 2018). Los microorganismos son más eficientes desde el punto de vista energético si este cociente es menor; y se incrementa cuando la respiración es mayor, la biomasa microbiana disminuye y el sustrato es menos rico y de menor calidad en carbono orgánico (Dilly, 2005).

También, la presencia de pesticidas puede alterar o sobreestimar los valores de biomasa microbiana, porque podrían ser utilizados como sustratos para su metabolismo. Uno de los trabajos en los que se observó este efecto sobre el crecimiento microbiano fue el de Blanco et al. (2013), quienes demostraron que algunos microorganismos por ejemplo algunos rizobios, pueden cometabolizar pesticidas como los carbamatos, e incrementar la población microbiana hasta tres veces su biomasa. Así, el cometabolismo es una forma de degradación de un compuesto cuando éste no actúa directamente como fuente de nutrientes sino que se deben emplear otras fuentes, como la glucosa, y que al disminuir este compuesto en el medio induzca la producción de enzimas necesarias para la degradación del pesticida (Alexander, 1977).

En Venezuela, existen varios antecedentes sobre la determinación de la biomasa microbiana en suelos bajo diferentes manejos. En la Tabla 3 se muestran algunos valores relacionados con suelos que presentan actividades agrícolas.

Tabla 3. Valores de biomasa microbiana en algunos suelos de Venezuela.

Lugar del suelo	Tipo de suelo y profundidad	Uso o manejo del suelo	Valores de biomasa microbiana mg Cmic Kg ⁻¹ suelo	Método usado	Fuente
Páramo de Gavidia, Mérida-Venezuela	Inceptisol Textura arenosa 0-20 cm	Suelos con uso agrícola (hortalizas varias)	13,8 a 212,1	FE	Llambí y Sarmiento (1998)
Tucutunemo, Maracay y Arenales, Venezuela	ND 0-20 cm	Suelos de uso agrícola (hortalizas varias)	330 a 639	FE y FI	Delgado y España (2000)
La Azulita (Mérida-Venezuela)	ND	Orgánico	472	RIS	Paolini (2018)
Microcuenca del río Monaquito (Trujillo-Venezuela)	0-5 cm	Tradicional	463		
Sta. Cruz de Mora (Mérida-Venezuela)		Convencional Suelos cafetaleros	246		

Suelos de la cuenca del Lago de Valencia	Aluviales Fluventic Ustropepts Francos gruesos	Unidad de producción agrícola (caña de azúcar y banano)	200 a 1550	RIS	Ruiz y Paolini (2004)
		Suelos con vegetación natural	1000		
	Lacustrinos Mollic Ustifluvents Francos	Unidad de producción agrícola (caña de azúcar y banano)	600 a 1400		
	0-5cm	Suelos con vegetación natural	1500		

ND= no disponible

Al respecto, en estos trabajos se han determinado valores de los cocientes ecofisiológicos. Por ejemplo, Ruiz y Paolini (2004) encontraron valores del q_{Mic} entre 1,4 % y 4,1 % en suelos cultivados con banano y caña de azúcar, estando dentro del intervalo indicado para suelos agrícolas de acuerdo con Insam (1990), con un promedio de 2,95 % para suelos cultivados, y 2,04 % para suelos bajo vegetación natural, siguiendo la tendencia a este valor ser menor en suelo con vegetación natural que en suelos cultivados, mostrando que a menores valores de este índice posiblemente haya una considerable proporción de carbono orgánico muy humificado y por lo tanto difícilmente utilizable por los microorganismos. En este sentido, se deduce a mayores valores de q_{Mic} hay mayor cantidad de C lábil, y por lo tanto disponible este para la microbiota. Por su parte, Paolini (2018) también determinó que el manejo del suelo y el estado nutricional del mismo, influyen sobre el q_{CO_2} y el q_{CO_2}/C -orgánico, indicando que los valores más altos están en el tipo de manejo convencional, y los valores más bajos en los manejos tradicional y orgánico, mostrando así que los microorganismos estarían bajo un mayor estrés en un suelo con manejo convencional, posiblemente por la adición de agroquímicos.

Caracterización bioquímica del suelo

Las actividades de los microorganismos requieren la participación de un conjunto de enzimas y la correcta escogencia de una de ellas puede reflejar la actividad biológica global (Frioni, 1999). En el suelo hay una composición de diferentes enzimas intracelulares o

endoenzimas liberadas de células desintegradas, extracelulares o exoenzimas liberadas de células vivas, y enzimas unidas a constituyentes celulares (Tabatabai, 1995). En ese pool enzimático allí presente están las producidas por los microorganismos (bacterias y hongos), o las derivadas de la MOS tales como animales y plantas (raíces, residuos vegetales lisados, tracto digestivo de pequeños animales, etc) (Rao et al., 2014). La actividad enzimática puede verse afectada por factores naturales como propiedades físico-mineralógicas, físico-químicas del suelo, orgánicos, y por factores antropogénicos como manejo agrícola (como la historia de uso del suelo), contaminación ambiental, compuestos como fertilizantes, pesticidas, sales, metales pesados, etc. Algunas enzimas importantes utilizadas para describir la fertilidad del suelo y su función se describen en la Tabla 4.

Tabla 4. Actividades enzimáticas utilizadas para el estudio de la fertilidad del suelo de acuerdo con Piotrowska-Dlugosz (2014).

Enzima/actividad enzimática	Función que cataliza
Actividad deshidrogenasa	Las deshidrogenasas oxidan la materia orgánica del suelo por transferencia de protones y electrones desde los sustratos orgánicos a aceptores inorgánicos. Importante para estudiar la actividad respiratoria de los microorganismos y células viables.
Actividad nitrato reductasa	Cataliza la reducción del nitrato a nitrito. Importante en la asimilación de N por las plantas y el ciclo del N.
Ureasa	Enzima responsable de la hidrólisis de la urea para producir amonio y CO ₂ , incrementar el pH y liberar N a la atmósfera por volatilización.
Celulasas	Las celulasas son enzimas hidrolíticas que catalizan la ruptura la celulosa para liberar el carbono de residuos vegetales en el suelo.
Glucosidasas	Rompen carbohidratos de bajo peso molecular para producir glucosa como fuente de carbono para el crecimiento y actividad microbiana. Importante en el ciclo del C.
Fosfatasas	Catalizan la hidrólisis de compuestos de P orgánico y lo transforman a formas de P inorgánico asimilables por plantas y microorganismos (iones ortofosfatos). Importante en el ciclaje de P.

Fundamentos de las actividades enzimáticas a detectar

En cuanto al ciclo del N, algunos fundamentos de las actividades enzimáticas que se pueden determinar implican que por ejemplo para la actividad ureásica se determina el amonio liberado a partir de una solución de úrea por la actividad de la enzima ureasa en el

suelo incubada por dos horas a 37 °C (Kandeler y Gerber, 1988). Esta reacción está basada en la reacción de Berthelot (reportada en 1859), la cual consiste en la reacción del ión amonio con el hipoclorito de sodio en presencia de un fenol como el salicilato, formando un indofenol a pH básico de color verde esmeralda (Paolini, 2011). La amonificación de la arginina permite determinar el amonio que se libera después de la incubación por tres horas con L-arginina (Alef y Kleiner, 1987), bajo la misma premisa de la reacción de Berthelot. Esta medición correlaciona muy bien ($R=0,89$ y $R=0,93$) con la medida del ATP y la biomasa microbiana con la RIS (Lin y Brookes, 1999). Por otro lado, la mineralización de N indica la capacidad de la comunidad microbiana del suelo para convertir el nitrógeno de residuos orgánicos en formas disponibles para las plantas, básicamente en amonio por las condiciones anaerobias del experimento. Ahora bien, con respecto al ciclo del P, la medición de la actividad fosfomonoesterasa (fosfatasa) tanto ácido como alcalina, permite tener una idea del ciclaje del P en el suelo, pues indica que tan disponible sería el P para las plantas (Piotrowska-Dlugosz, 2014), al determinar coloriméticamente el p-nitrofenol liberado luego de la incubación en una solución tamponada (pH 6,5 y pH 11) de p-nitrofenilfosfato a 37 °C por una hora (Tabatabai y Bremner, 1969). La medición de la actividad deshidrogenasa refleja el rango de la actividad oxidativa de los microorganismos del suelo, por lo tanto puede ser tomada como un indicador del metabolismo activo de la microbiota, por ende, de la actividad microbiana del suelo (Piotrowska-Dlugosz, 2014); y se basa en la extracción con metanol y la determinación colorimétrica del trifenilformazan que se origina después de incubar el suelo con cloruro de tetrazolium (TTC) a 37 °C por 24 h (Casida et al., 1964). Más recientemente la actividad total de los microorganismos en el suelo puede determinarse mediante un método sencillo propuesto por Adan y Duncan (2001), quienes a través de la hidrólisis del diacetato de fluoresceína (DAF), encontraron que este puede ingresar a las células mediante un transporte no específico, y es liberado como un compuesto coloreado fluorescente que se acumula en las células. Las células no vivas son incapaces de tomar el derivado de la fluoresceína y por lo tanto no muestran coloración. Es un método rápido, sensible y fácil (Solaiman, 2007).

Como ya se ha mencionado, las prácticas agronómicas convencionales pueden incidir sobre la comunidad microbiana del suelo. A medida que hay presencia de fertilizantes químicos en el suelo, estos pueden inhibir la actividad enzimática de los microorganismos por la presencia del producto en el suelo (Armado et al., 2009).

Respuestas de las RPCV ante factores ambientales

Ecosistémicamente hablando, las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal de interés agrícola constituyen una parte de la ecología microbiana, la cual estudia cómo las funciones microbianas se modifican por influencia de los factores bióticos y abióticos que afectan los cultivos (Altamirano, 2003). Sus respuestas dependerán de las propiedades del

suelo, de los factores ambientales, de las interacciones y de la suma de esos factores que favorecerán o no la expresión del potencial genético de las rizobacterias (Altamirano, 2003), en consecuencia su efecto sobre un cultivo en estudio. En la interacción planta-microorganismo, por el efecto de los exudados radicales y el reconocimiento hospedador-huésped, se desencadenan una serie de reacciones y expresiones genéticas, muchas veces en respuesta a factores del medio ambiente. Yang et al. (2009) proponen el término Tolerancia Sistémica Inducida (TSI) a la serie de cambios físicos y químicos inducidos en las plantas por las RPCV que resultan en una mayor tolerancia al estrés abiótico. En la Figura 7, se muestran los efectos de las RPCV para producir la TSI, en condiciones de sequía, estrés salino, y baja fertilidad del suelo.

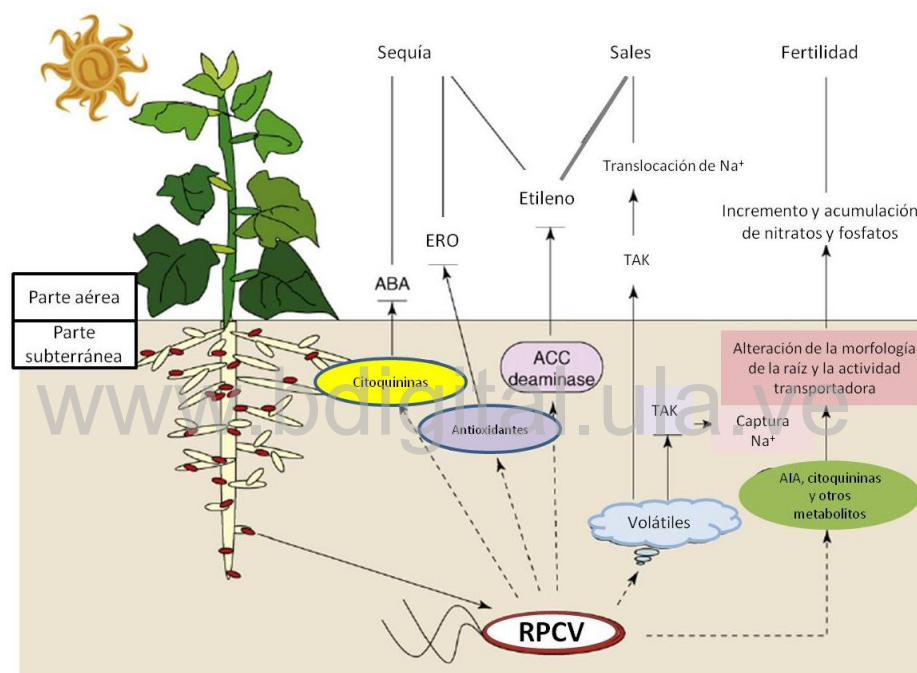


Figura 7. Tolerancia Sistémica Inducida (TSI) por las RPCV, en condiciones de sequía, estrés salino, y baja fertilidad del suelo. Las flechas discontinuas señalan los compuestos bioactivos secretados por las RPCV. Las flechas continuas indican los compuestos vegetales afectados por los compuestos bacterianos. ACC deaminasa = 1-aminociclopropano-1-carboxilasa, ERO = especies reactivas al oxígeno, TAK = transportadores de alta afinidad de K⁺. Fuente: Yang et al. (2009).

Otras investigaciones sugieren cambios en la actividad enzimática de los microorganismos por estreses ambientales. Por ejemplo, en el estudio de Sanaullah et al. (2011) se detectó que la actividad enzimática puede afectarse por las condiciones de sequía, especialmente en un suelo no cultivado, ya que en suelos cultivados parece existir un incremento de la demanda de N y con ello el aumento de algunas actividades enzimáticas

asociadas a este elemento. Song et al. (2012) determinaron la influencia del estrés hídrico sobre las enzimas de la rizósfera en especies tolerantes y no tolerantes a la sequía. En su investigación midieron la actividad fosfatasa ácida y alcalina, proteasa, y catalasa, y obtuvieron que para el híbrido de maíz Baidan 9 (tolerante a la sequía) hubo mayor actividad enzimática y mayor cantidad de ácidos orgánicos, en comparación al híbrido Baidan 31 (no tolerante a la sequía), indicando que al parecer las enzimas del suelo más los exudados radicales participan en la tolerancia a la sequía.

La salinidad en el suelo disminuye la actividad enzimática en general. Esta condición puede presentarse en suelos áridos y semiáridos. La salinidad puede reducir la biomasa microbiana y esto a su vez lleva a una baja producción de enzimas. Puede ocurrir también que altos niveles de sales desestabilicen los complejos enzimáticos y produzcan una desecación osmótica en las células microbianas, las enzimas se liberan y son desnaturalizadas en el suelo (Gianfreda, 2015).

Adicional a estas condiciones, un incremento del CO₂ atmosférico podría producir un efecto cebador en la rizósfera, conocido como RPE por sus siglas en inglés *rhizosphere priming effect* (Haichar et al., 2014). El efecto priming o cebador es el efecto de fuertes cambios a corto plazo en la tasa de recambio (turn-over) de la MOS causada por tratamientos moderados del suelo, en consecuencia, por la adición de sustratos de C orgánico al suelo. La tasa de recambio de la MOS está determinada por variaciones en el flujo de CO₂ o la tasa de mineralización del N. En la rizósfera hay mayor C lábil y mayor producción de enzimas, lo que produce una mayor descomposición cometabólica de la MOS (RPE). De esta forma, una mayor concentración de CO₂ atmosférico produciría mayor flujo de C en la planta lo que implicaría una mayor variación cualitativa y cuantitativa del flujo de C en la rizósfera, por lo tanto una aceleración del metabolismo (respiración, cometabolismo, producción de enzimas) (Gianfreda, 2015).

Aspectos sobre el crecimiento y producción vegetal

Taiz y Zeiger (2010) definen el crecimiento como un aumento constante en el tamaño de un organismo, acompañado por un proceso de morfogénesis y diferenciación celular. El crecimiento de los diferentes órganos de la planta es un proceso fisiológico complejo que depende directamente de la fotosíntesis, la respiración, la división celular, la elongación, la diferenciación, entre otros, y que además está influenciada por factores como temperatura, intensidad de luz, densidad de población, calidad de la semilla, disponibilidad de agua y de nutrientes (Mohr y Schopfer, 1995).

Hunt (1984), menciona que el análisis del crecimiento es una aproximación cuantitativa que usa datos simples y básicos para la descripción e interpretación de las plantas que

crecen bajo condiciones naturales o controladas. Barrera et al. (2010) plantean que en el análisis de crecimiento se usan índices tales como área foliar específica (índice morfológico que describe una proporción entre el potencial fotosintético y el respiratorio, relación entre el área foliar total y la masa seca total por planta), índice de área foliar (área de hojas verdes (m^2) por metros cuadrados de suelo), tasa de crecimiento absoluto (una tasa de cambio en tamaño, o sea un incremento del tamaño por unidad de tiempo), y tasa de crecimiento relativo (definida como el aumento en la cantidad de masa seca por unidad de biomasa y tiempo de acuerdo con Casierra y Vargas (2015)). Los valores se obtienen de los muestreos destructivos estimados como masa seca en dos tiempos consecutivos.

En el ambiente, existen estreses que se pueden encontrar como el hídrico, temperaturas extremas, baja disponibilidad de nitrógeno, presencia de metales pesados, alta salinidad, y sombra por plantas vecinas, entre otros. Las plantas responden a estos estreses a través de diferentes mecanismos que se desarrollan en distintas escalas de tiempo de acuerdo a la naturaleza del estrés y al proceso fisiológico que es afectado. En el estudio de individuos, funcionamiento, procesos y cómo éstos son influenciados por el ambiente (ecofisiología) se reconocen tres escalas temporales en relación a cómo las plantas enfrentan estos estreses: 1. Respuesta al estrés (entre segundos y días), 2. Aclimatación (entre días y semanas), y 3. Adaptación (años o siglos) (Lambers y Oliveira. 2019). Las plantas responden a estreses abióticos mediante cambios fisiológicos, morfológicos y anatómicos que conciernen hojas, tallos y raíces (Chelli-Chaaboun, 2014). Los estreses mencionados podrían afectar los procesos productivos como la distribución de asimilados y su balance dentro de la planta, afectando a su vez las tasas de crecimiento vegetal y producción.

En la Tabla 5 se describen los cambios que ocurren en las plantas al estar expuestas a factores abióticos estresantes (Taiz y Zeiger, 2010; Lambers y Oliveira, 2019).

Tabla 5. Cambios bioquímicos y fisiológicos en las plantas por efecto de factores ambientales.

Tipo de estrés	Efectos primarios en la planta	Efectos secundarios en la planta
Déficit hídrico	Reducción del potencial hídrico Deshidratación celular Incremento de la resistencia hidráulica	Reducción del área foliar Reducción de las actividades celulares y metabólicas Ajuste o cierre estomático Inhibición fotosintética Abscisión foliar Cavitación Muerte celular

		Producción de ERO (especies reactivas del oxígeno) Citotoxicidad de iones Déficit en la absorción y transporte de nutrientes
Alta temperatura	Desestabilización proteica y de la membrana celular	Inhibición fotosintética y respiratoria Producción de ERO Muerte celular Deshidratación foliar o pérdida de turgor. Incremento del DPV (diferencial de presión de vapor entre la hoja y el aire) y cierre estomático
Congelamiento	Reducción del potencial hídrico Deshidratación celular Formación de cristales de hielo en el simplasto	Igual que para el déficit hídrico Destrucción física de la membrana celular
Alta intensidad lumínica	Fotoinhibición Producción de ERO	Inhibición de la reparación del fotosistema II Menor fijación de CO ₂ en las células
Nutricional	Disminución de la tasa de respiración celular	Disminución de la tasa de crecimiento y menor captura de iones Interrupción del metabolismo Aparecen síntomas de deficiencia Susceptibilidad ante fitopatógenos

Aspectos sobre el balance hídrico del agroecosistema

La carencia o exceso de agua limitan el crecimiento de los cultivos. El crecimiento se ve inhibido o estimulado de acuerdo a la naturaleza, severidad y duración del estrés. El estrés hídrico por déficit induce también la deficiencia nutricional, y afecta la regeneración y crecimiento foliar por la reducción de la formación de nuevas hojas y la disminución del área foliar. Las plantas incrementan la distribución de fotoasimilados hacia la raíz en respuesta al déficit hídrico, para incrementar su superficie de absorción (Chelli-Chaaboum, 2014).

El mantenimiento del turgor de una planta es de particular importancia en condiciones de estrés hídrico. La disponibilidad de agua en el suelo y la transpiración son los factores que determinan el suministro y la pérdida de agua respectivamente. En este

sentido, los estomas ejercen el mayor control sobre las relaciones hídricas en una planta debido al gradiente de potencial hídrico entre la hoja y el aire (Azócar y Rada, 2006). La reducción de la conductancia estomática por el estrés hídrico afecta directamente el intercambio gaseoso y por ende, la fotosíntesis. Las plantas pueden disminuir la pérdida de agua a través del cierre estomático para hacer un uso más eficiente del agua (Chelli-Chaaboum, 2014; Azócar y Rada, 2006), mecanismo que a su vez afecta los procesos de absorción de agua y nutrientes.

Desde el punto de vista de las relaciones hídricas, el potencial hídrico indica el estado hídrico de la planta y representa la suma del potencial osmótico y de turgor (presión hidrostática) ($\psi_w = \psi_\pi + \psi_p$). La transpiración es un efecto directo sobre la planta y es el mayor componente en cuanto al balance energético de la hoja se refiere. Con respecto al suelo, se hace referencia al potencial mátrico (Ψ_m), el cual se refiere a la fuerza con la cual el agua es absorbida por las superficies del suelo, tales como partículas o coloides y en muchos casos es considerado como un componente del potencial de presión (Chapin et al., 2002; Lambers y Oliveira, 2019). A través de las curvas presión-volumen se pueden determinar los componentes del ψ_w , la presión de turgor (ψ_p), el potencial osmótico (ψ_π), y relacionarlos con el contenido relativo de humedad en la planta (Lambers y Oliveira, 2019). Además, de estas curvas es posible determinar otras características como el módulo de elasticidad, el punto de pérdida de turgor, el contenido de agua en el punto de pérdida de turgor, y el potencial osmótico en el punto de turgencia máxima y a turgencia cero (Lenz et al., 2006).

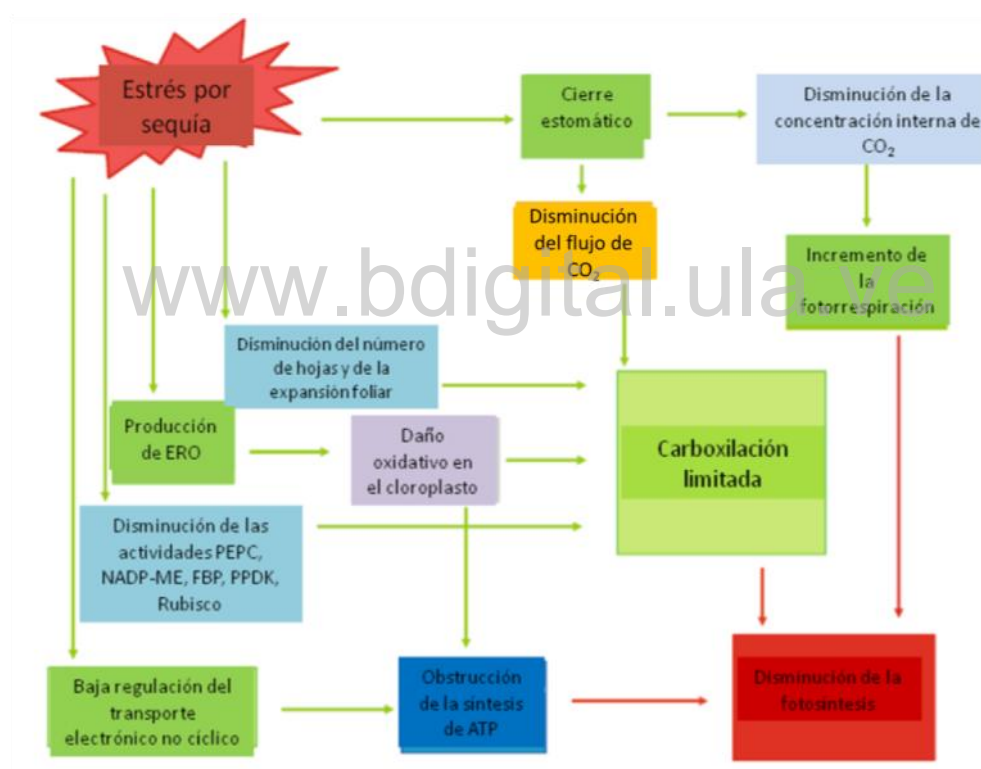
Por otra parte, las plantas que se encuentran bajo un déficit hídrico pueden ajustar osmóticamente para ser lo menos afectadas posible por la disminución del potencial hídrico. Esto es, las plantas incrementan la concentración de solutos en sus células para aumentar la presión de turgor al estas hidratarse y así mantener su rigidez original. Estos solutos acumulados en las vacuolas de las células son frecuentemente iones inorgánicos o ácidos orgánicos que reducen la actividad de enzimas citoplasmáticas y las plantas pueden sintetizar otras sustancias compatibles y que no tienen efecto negativo sobre el metabolismo celular, por ejemplo glicinabetaina, sorbitol, y prolina (Lambers y Oliveira, 2019).

La apertura estomática responde a señales de la raíz durante el estrés hídrico (ácido abscísico ABA), y también bajo condiciones favorables de agua y nutrición (citokinas CK). Por otra parte, la respuesta estomática también depende de la concentración de CO_2 en el mesófilo, la cual depende de la actividad fotosintética y el estado hídrico de la epidermis. Además, la respuesta estomática también es afectada por factores climáticos como la luz, temperatura, humedad atmosférica, y velocidad del viento (Schulze et al., 2019).

En condiciones de estrés hídrico se sintetiza el ABA en la planta, principalmente en

las raíces y de ahí es traslocado a las hojas vía xilema. El ABA induce el cierre estomático para reducir la transpiración y así prevenir la pérdida de agua en condiciones de estrés hídrico. El ABA estimula el incremento del Ca^{2+} en el citosol por la inducción del flujo de calcio a través de la membrana plasmática y la liberación dentro del citosol en lugares como las vacuolas. La estimulación producida por el incremento del ABA activa la producción de ERO como el peróxido de hidrógeno, y también estimula la síntesis de óxido nítrico en las células guardianas. A su vez, el ABA inhibe la bomba protónica de la membrana plasmática de las células guardianas, bloqueando de esta manera la entrada de K^+ y con ella la entrada de agua a las células, por lo que se reduce el potencial hídrico y ocurre un cierre estomático (Taiz y Zeiger, 2010).

En la Figura 8, se presenta un resumen de los procesos fotosintéticos que se afectan en la planta cuando se encuentra en estrés por déficit hídrico.



Rubisco: ribulose-1, 5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa; PEPC: Fosfoenolpiruvato carboxilasa; NADP-ME: enzima málica NADP; FBP: fructose-1, 6-bisfosfatasa; PPK: Piruvato ortofosfato dikinasa.

Figura 8. Posibles mecanismos que disminuyen la actividad fotosintética bajo condiciones de sequía (Farooq et al., 2012).

Sobre el cultivo de cebolla, el cual es el agroecosistema escogido para desarrollar esta investigación, son escasos los datos ecofisiológicos disponibles y menos aún sobre las

respuestas ante el estrés por déficit hídrico, a pesar de que en general se conoce que esta especie es relativamente tolerante a la sequía. Bosh (1999) realizó un estudio sobre las bases ecofisiológicas de este cultivo y encontró que en situaciones de estrés hídrico por riego infrecuente hay variedades que son más tolerantes que otras ante este estrés, pero que en general la cebolla es sensible a la falta de agua en términos de rendimiento. Estrada-Prado et al. (2015) evaluaron el efecto de tres niveles de humedad en el suelo (100 %, 75 % y 50 % de la capacidad de campo) sobre el rendimiento de bulbos de cebolla en cinco variedades de cebolla, resultando superior en rendimiento el híbrido F1 2000 y la variedad Sivan, considerándose como relativamente tolerantes ante la escasez de agua en el suelo frente a las otras variedades utilizadas (Caribe-71, H-222, y Texas). Otros estudios reportan ajustes osmóticos en cebolla como el incremento en el contenido de proteínas en respuesta al déficit hídrico inducido entre 85 y 60 % de la ET_c , con una mayor EUA de riego aunque con una disminución significativa en el rendimiento (Kumar et al., 2007). Por otro lado, Nava-Sánchez et al. (2004), en un estudio sobre la aplicación de fertilizantes foliares para evaluar mayor rendimiento, midieron algunos parámetros ecofisiológicos importantes para tomarlos en cuenta como referenciales para esta especie. Con base a esta información, se muestran datos ecofisiológicos de cultivos que sirven como marco de referencia para el presente trabajo, pues son cultivos de interés económico en los que se ha evaluado parámetros similares a los que se determinarán en esta investigación como la tasa de asimilación de CO_2 (A), conductancia estomática (Gs), tasa de transpiración (E), entre otros para el agroecosistema cebolla (Tabla 6). Al respecto, podemos mencionar que la cebolla muestra una A intermedia con relación a los otros cultivos mostrados, mientras que muestra una E con valores altos por encima de los cultivos que se presentan (Tabla 6).

Tabla 6. Parámetros ecofisiológicos en algunos cultivos de ciclo corto y perennes de importancia económica

Variable	Cultivo						
	Maíz	Tabaco	Pimentón	Plátano	Ají	Cacao	Cebolla
A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	54,15	43,47	45,89	14	18	2,2	6,2-28,9
Gs ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	318	670	496	350	350	60	610-880
E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	15,34	19,01	18,78	5	7	2,5	9,35-11,58
DFFF ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	1518	1811	1959	1500	1600	750	nd
Fuente	Escalante et al. (2008)	Escalante et al. (2008)	Escalante et al. (2008)	Jaimez et al. (2005)	Jaimez y Rada (2015)	Rada et al. (2005)	Nava-Sánchez et al. (2004), Kutty et al. (2014)

A= tasa de asimilación de CO_2 , Gs= conductancia estomática, E= tasa de transpiración, DFFF= densidad de flujo fotónico fotosintético, nd= no disponible.

El recurso hídrico en zonas semiáridas

El manejo del recurso hídrico en zonas semiáridas constituye un punto importante en la producción de los cultivos, pues depende de la cantidad de agua con la que se cuenta en estas zonas para regar, por lo que debe haber una mayor eficiencia en el uso del agua (EUA) en estos sitios. En la zona de San Juan de Lagunillas, Mérida-Venezuela escogida para desarrollar el presente estudio, hay un régimen de precipitación que ha ido disminuyendo en los últimos años, lo que permite establecer ensayos relacionados al déficit hídrico. En la Figura 9 se observan los registros de precipitación en la última década en esta zona.

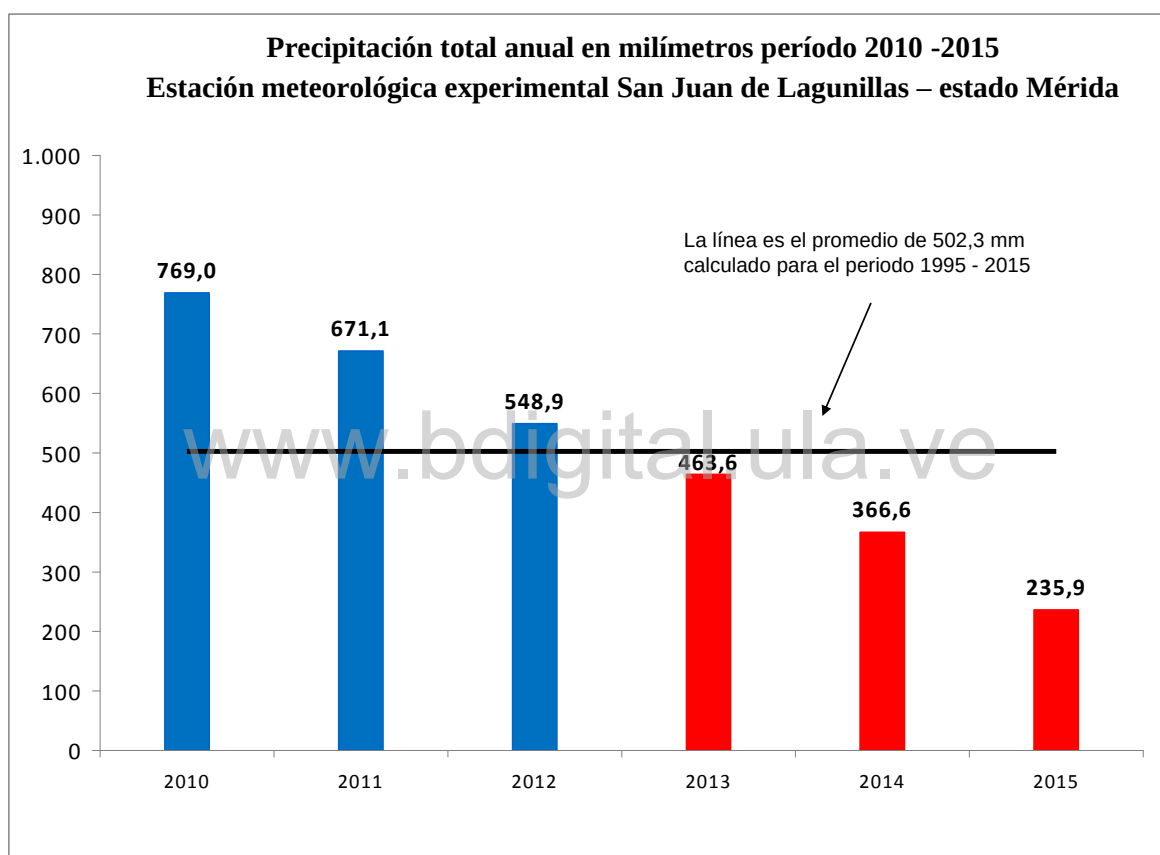


Figura 9. Precipitación anual total (mm) desde 2010 al 2015 en San Juan de Lagunillas, Mérida (Urbina et al., 2015). Las barras azules indican precipitación por encima del promedio. Las barras rojas indican precipitación por debajo del promedio.

Las condiciones de precipitación en las zonas semiáridas a nivel mundial también tienen implicaciones sobre los cultivos; antagónicamente a la poca disponibilidad de agua para riego, la fertilidad natural de los suelos en estas zonas se incrementa debido al poco lavado, pérdida de suelos, y la reducida lixiviación de nutrientes lo que hace que se vuelva

productivo mediante el riego (Osman, 2014), gracias al aumento del proceso de meteorización.

La escasez de agua para la agricultura cada vez es más recurrente y la necesidad de lograr un mejor aprovechamiento de ella, ha interesado a grupos de investigación en dirigir estudios de nuevas estrategias de riego, que tiendan a disminuir los aportes hídricos, con el menor impacto posible en la producción y calidad de la cosecha (Ferreira y Selles, 1997). El riego deficitario controlado (RDC) es desarrollado con el fin de optimizar el uso del recurso hídrico, y bajo esta premisa, el RDC plantea reducir el consumo de agua total aplicada a determinado cultivo (Sánchez y Torrecillas, 1995). El RDC difiere de un estrés hídrico natural, ya que una estrategia de RDC busca llevar a la planta a un ligero estrés en un estado fenológico en el cual la producción no sea afectada (Mitchell et al., 1984).

En el fundamento para la elaboración de estrategias de RDC se tienen que tener en cuenta los factores que pueden condicionar su viabilidad: los períodos críticos del cultivo, nivel de coincidencia entre el crecimiento vegetativo y el del fruto, las características del suelo, el sistema de riego, el clima (para el cual debe ser indispensable que la pluviometría de la zona a utilizar sea escasa), el material vegetal, resistencia a la sequía, y reparto de asimilados (Fabeiro y López, 2005). Teniendo disponible el climadiagrama de la zona también se puede planificar el momento de siembra para los cultivos, con la finalidad de disminuir el agua aplicada por riego y aprovechar la proveniente de la precipitación. En este caso, en San Juan de Lagunillas, a pesar de presentar un régimen bimodal (Figura 10), la precipitación no supe el requerimiento hídrico de ningún cultivo, por lo que el riego en esta zona debe ser integral.

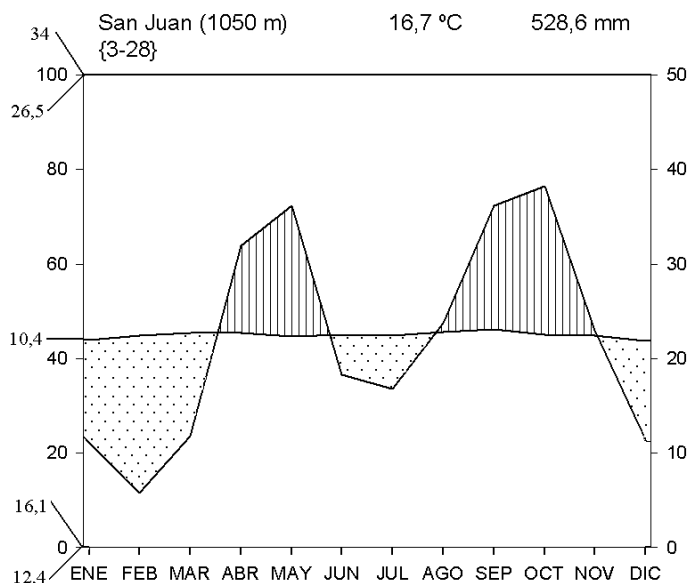


Figura 10. Climadiagrama de Gausse de San Juan de Lagunillas, Mérida, Venezuela, para los años 1970 a 1997 (Aranguren et al., 2012).

La exploración de estratos en profundidad en busca de agua podría ser uno de los primeros mecanismos de adaptación de las plantas a condiciones de estrés hídrico. Por otro lado, el ajuste osmótico es un mecanismo adaptativo que ocurre en muchos cultivos, lo cual permite mantener el turgor de la célula a bajos potenciales hídricos (Castel y Fereres, 1982).

Schulze (1986) señala que el déficit hídrico del suelo puede provocar la emisión por parte de las raíces de sustancias químicas que inducen a su vez en las hojas un efecto de mayor duración del cierre estomático para evitar la deshidratación foliar. Cuando este cierre es insuficiente, se inducen procesos de defoliación para disminuir las pérdidas de agua por transpiración.

El requerimiento hídrico de un cultivo puede establecerse para cada una de las diferentes fases, tomando en cuenta el coeficiente del cultivo y la evapotranspiración de la zona en donde se haya sembrado. Esto permite hacer un uso eficiente y controlado del agua.

Varios estudios han permitido evaluar algunos efectos de la aplicación de déficit hídrico controlado bajo riego en San Juan de Lagunillas, Mérida. Pérez (2007) demostró que la utilización del riego localizado (cinta de goteo) permite el ajuste de las cantidades de agua a aplicar y el tiempo apropiado para el método de reposición de la tina y el tensiómetro, y también permite que toda el área cultivada reciba uniformemente el agua aplicada y que ésta queda almacenada en la zona del suelo para el aprovechamiento del sistema radicular de las plantas de ají dulce en una parcela experimental del IIAP-ULA en San Juan de Lagunillas en Mérida, Venezuela. Además, para el ají resultó favorecedora la frecuencia de riego cada dos días en contraste con la frecuencia diaria, ya que incrementó el crecimiento y la producción mostrando un mayor número de hojas, flores y producción total.

Romero (2007) evaluó diferentes regímenes de riego siendo éstos 100 %, 80 %, 70 % y 60 % de la ETc (evapotranspiración del cultivo) de tomate para las condiciones del IIAP-ULA, y no obtuvo diferencias significativas entre los tratamientos para el rendimiento comercial, pero los mayores rendimientos los obtuvo con los tratamientos 80 % y 100 % del riego requerido para el cultivo con 53,16 t ha⁻¹ y 51,56 t ha⁻¹ respectivamente. Siendo el tratamiento 80%, es decir afectando la evapotranspiración del cultivo por el coeficiente de 0,80 el que mostró el rendimiento total y comercial más elevado con 62,71 t ha⁻¹ y 53,16 t ha⁻¹ correspondientemente. Así mismo, logró un ahorro de 22 % en el volumen de agua aplicado con relación al coeficiente 1 (100 %) que representa el manejo de agua que comúnmente aplican los agricultores para el tomate.

Rodríguez (2010) demostró que bajo tratamientos de estrés hídrico de 100 %, 80 % y 60 % de ETc del cultivo de pimentón, una frecuencia diaria y el tratamiento 60 % se obtiene una mayor eficiencia significativa de uso del agua siendo 18,73 kg m⁻³ para el 60 %, y 12,01 kg m⁻³ para el 100 % del requerimiento del agua, representando esto un incremento del 56 % de la EUA. En este estudio no hubo diferencias significativas entre los

tratamientos en cuanto al rendimiento, diámetro del tallo, materia seca, diámetro ecuatorial y polar del fruto, en la frecuencia de riego diaria, y el mayor rendimiento fue con el tratamiento 100 % ETc con 50,313 t ha⁻¹. Sin embargo, con la frecuencia de riego cada dos días y con el 60 % de la lámina de agua, se presentaron condiciones limitantes de agua y nutrientes en el desarrollo de las plantas que redujeron el rendimiento y las demás variables analizadas. Pero con la lámina 80 % ETc que también representó condiciones limitantes para el cultivo en el suelo del IIAP-ULA, las plantas pudieron desarrollarse desde el punto de vista fisiológico y utilizar más eficientemente el agua y los nutrientes disueltos y por ende alcanzar un mayor rendimiento, así como mayor diámetro del tallo, número de frutos, altura de la planta y diámetro del fruto, en comparación con la lámina de riego del 100 %. Esto sugiere que, para este cultivo en estas condiciones debe reponerse el agua entre el 80 y 100 % de la evaporación determinada por la tina de evaporación tipo A.

Sin embargo, como ya se mencionó anteriormente, los estudios que evalúen parámetros ecofisiológicos bajo estos regímenes de estrés hídrico controlado o inducido son escasos, aún más, los referentes al cultivo de cebolla.

El cultivo de cebolla (*A. cepa*)

La cebolla es originaria de Asia Central (antiguo reino de Persia) lo que es hoy día Irán. Los habitantes de comarcas asiáticas de la cuenca del Eufrates y Tigris fueron los que le dieron la importancia alimenticia y la consideraron una planta sagrada. Los babilonios la cultivaron y la dieron a conocer a los egipcios, y posteriormente se diversificó a Grecia, y al Imperio Romano. Finalmente ingresa a nuestro continente americano con la llegada de Cristóbal Colón en 1492, y se propagó el cultivo por todo lo que fue la América Española (Guzmán-Pérez, 1988). Es un cultivo de ciclo corto. Su principal uso es en la cocina como uno de los alimentos de mayor consumo en la población, además de tener usos medicinales, entre otros. Se propaga a través de semillas y bulbos (López-Torres, 2006). En el mundo, los países de mayor exportación son Holanda, España, Estados Unidos, Italia e India.

La cebolla es un cultivo de alto valor económico actualmente en Venezuela, pues como en la mayoría de las hortalizas, su producción es costosa por la carencia de semillas certificadas y de fertilizantes químicos, así como el alto costo de los agrotóxicos los cuales se han encarecido en los últimos 5 años en nuestro país. Según datos de la FAO (2020), para el año 2018, el rendimiento del cultivo fue de 21.124 kg ha⁻¹, ubicándose como el tercer cultivo de mayor importancia luego de la zanahoria y el tomate. Igualmente, el rendimiento de ese cultivo registró una disminución del 7 % desde el año 2010 en Venezuela. Asimismo, el área cosechada para este mismo año fue de 7849 ha y la producción de 165.803 t, lo que indica que según los datos reportados desde el año 2010 ha habido una reducción de 42 % y 46 %, respectivamente. En este mismo año la cebolla se ubicó como la tercera hortaliza de mayor producción en Venezuela después de la zanahoria y el tomate. Estas características del cultivo permiten que exista un alto consumo per cápita en nuestro país (aproximadamente 10,6 kg año⁻¹), para el cual es necesario proveer una

seguridad alimentaria. Los estados de mayor producción en Venezuela para el censo 2007-2008 del MPPAT (2017), fueron Lara, Guárico, Aragua y Táchira. Además del estado Táchira, en la región andina los estados Mérida y Trujillo tienen gran cantidad de productores de cebolla, así como una superficie cosechada de 491,39 y 765,84 ha respectivamente para este rubro, lo cual ubica a la región de Los Andes como una localidad importante para la siembra de cebolla en el país. La región de Los Andes podría explotarse con mayor sostenibilidad aplicando metodologías agroecológicas y optimizando el uso del agua en zonas semiáridas, que son propias para las condiciones climáticas favorables del cultivo de esta hortaliza, como en San Juan de Lagunillas, estado Mérida. De esta forma se podría incrementar el rendimiento de este cultivo en la región que además es rentable por su alta demanda en la población, aún como se le cultiva en Los Andes en parcelas pequeñas desde $\frac{1}{4}$ hasta 1 ha continúa siendo rentable.

Clasificación taxonómica y descripción botánica de la cebolla

Según Maroto (2000) es una hortaliza de bulbo, monocotiledónea, bianual que en condiciones normales se cultiva como anual para recolectar sus bulbos y bianual cuando se persigue obtener semilla. Perteneciente a la familia Liliaceae y su nombre científico es *Allium cepa* L. Posee un sistema radical formado por un gran número de raíces fasciculadas blancas y el tallo está representado por una masa caulinar llamado disco situado en la base del bulbo.

Las hojas insertas sobre el disco están constituidas por dos partes fundamentales, una inferior o vaina envolvente y una superior o filodio, hueca, redondeada y con sus bordes unidos las vainas pertenecientes a las hojas exteriores adquieren una consistencia membranosa y actúan como túnicas protectoras, mientras que las vainas de las hojas interiores engruesan, al acumular sustancias de reservas formando el bulbo. En la Figura 11 se observa el esquema de una planta de cebolla de bulbo (Vallejo y Estrada, 2004).

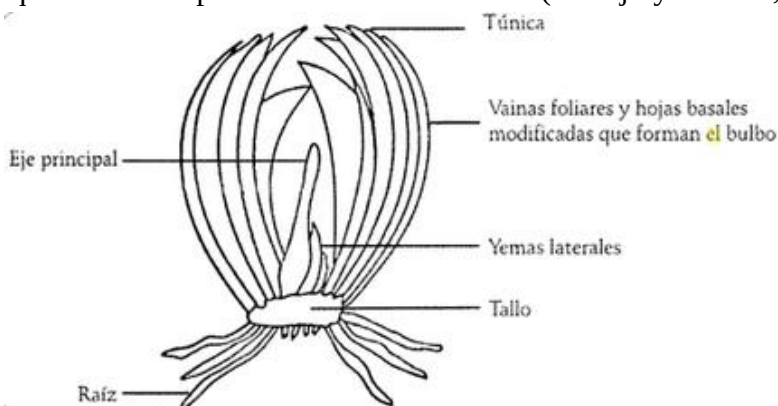


Figura 11. Esquema de una planta de cebolla de bulbo.

En el ciclo vegetativo de la cebolla se distinguen cuatro fases:

- Fase de crecimiento herbáceo.

Se inicia con la germinación, formándose una planta con un tallo muy corto o disco, en el que se insertan las raíces y en el que existe un meristemo que va originando progresivamente hojas, en esta fase la planta desarrolla ampliamente el sistema foliar y radical.

- Fase de formación de bulbo.

El desarrollo del sistema vegetativo se ve paralizado poco a poco y la planta inicia la movilización y acumulación de reservas en la base de las hojas interiores, que a su vez engrosan formando el bulbo.

- Fase de reposo vegetativo.

En el que el bulbo está en latencia y la planta no se desarrolla.

- Fase de reproducción sexual.

Se produce en el segundo año del cultivo y en el meristemo apical del disco se desarrolla a expensas de las sustancias de reserva acumuladas en el bulbo, un tallo floral que al rasgarse en el extremo se remata por una inflorescencia en umbela (Maroto, 2000).

Según Maroto (2000), la cebolla según su fotoperiodo se puede clasificar en:

- Cultivares de días cortos: exigen de 10 a 12 horas de luz y están limitadas por las fajas latitudinales comprendidas entre los 0° a 28°.
- Cultivares de días intermedios: exigen de 13 a 14 horas de luz y están limitadas por las fajas latitudinales comprendidas entre los 28° a 40°.
- Cultivares de días largos: exigen más de 14 horas de luz y están limitadas por las fajas latitudinales mayores a 36°.

Variedades de cebolla

Las formas hortícolas de *A. cepa* se ubican en tres grupos de variedades botánicas según Vallejo y Estrada (2004):

- Grupo *typicum*: *A. cepa* var. *cepa*: grupo de cebollas comunes, bulbos simples, grandes, inflorescencias típicamente sin bulbitos, plantas casi siempre originarias de semilla botánica. En este grupo se encuentran las cebollas comercialmente importantes. Se muestra una extrema variación en el color y forma los bulbos y responde a la temperatura y fotoperiodo. El número cromosómico de los tipos cultivados es de $2n = 16$ cromosomas.
- Grupo *aggregatum*: *A. cepa* var. *aggregatum*: Grupo de las cebollas con bulbos compuestos, inflorescencias típicamente sin bulbitos, puede producir semillas o ser estéril. Multiplicación casi exclusivamente vegetativa. Este grupo se caracteriza por la presencia de muchos bulbos laterales y que son usados por la propagación. Tiene tres formas distintas; cebolla papa, cebolla siempre lista y cebolla chalote.
- Grupo *proliferum*: *A. cepa* var. *proliferum*: Los bulbos son pobremente desarrollados. La inflorescencia está cargada de bulbitos y usualmente sin semillas botánicas, reproduciéndose vegetativamente por bulbitos que se originan en la inflorescencia.

Para Guzmán-Pérez (1988), el material de siembra debe ser adaptado a la explotación en nuestro medio, en el caso de la cebolla, a las condiciones del trópico. El clima tropical le facilita a la planta un buen desarrollo del bulbo y su resistencia a distintas enfermedades que limitan en gran medida la producción. En el caso de Venezuela, Perú, Colombia y muchos países de Centroamérica es importante cultivar variedades adaptadas y en condiciones agronómicas favorables para producir un producto de buena aceptación para el consumo fresco a nivel de consumidor o para la industria, por ejemplo adaptadas a días cortos. Este aspecto es relevante para el éxito del cultivo, tomando en cuenta que se originó en otras latitudes con condiciones agroclimáticas muy diferentes a las nuestras. Fenotípicamente las variedades se dividen en amarillas, blancas, y rojas. Según la Guía Rural Venezolana (1989) para hace 30 años las variedades e híbridos más conocidos y de producción en nuestro país eran las que se observan en la Tabla 7.

Tabla 7. Variedades agronómicas e híbridos de mayor producción en Venezuela en la década de 1980 (Guía Rural Venezolana, 1989).

Variedad	Uso
Yellow Granex	Consumo fresco
Texas Grano 502	
Excel 986	
New Méjico y Yellow Grano	
Isleña amarilla	
Isleña roja	
Red Burgundy	
Red Creole	
Early Texas White Grano	
Granex F1	
New Méjico White grano	Procesamiento industrial
Yellow creole	
Madrugadora	
Blanco amanecer	
White Granex	
White Granex PRR	
Cristal way	

Actualmente se consiguen en el mercado venezolano con mucha dificultad y a elevados costos solo las variedades e híbridos: Princesa, Yellow Granex, Texas Grano, Esmeralda, F1 2000, y Super Star F1 (comunicación personal con ingenieros agrónomos en ejercicio).

Requerimientos edafoclimáticos:**Condiciones de siembra en Venezuela**

Para Guzmán-Pérez (1988), la cebolla requiere de días largos con abundante luz, pues de ello depende en gran medida la formación del bulbo. No obstante en Venezuela se están explotando cultivares que desarrollan bien y producen bulbos en fotoperíodos de 10 a 12 h luz. En términos generales cultivar una cebolla de día largo en un fotoperíodo corto produce pérdidas al productor porque se desarrolla mucho el sistema foliar y se producen bulbos pequeños.

Fotoperíodo: Preferiblemente fotoperíodos largos para producir bulbos de buen tamaño.

Temperatura: la óptima es de 15 a 25 °C para que haya un desarrollo rápido y fuerte de las plantas para producir bulbos de buen tamaño. En la zona de la Mesa de Guanipa en Venezuela y en ciertas zonas de los estados Lara y Falcón cuando las temperaturas son frescas y coinciden con un buen período de siembra, la planta se beneficia en sus etapas iniciales de desarrollo y de formación del bulbo, así como las condiciones secas y temperaturas cálidas al final del cultivo favorecen el secado del mismo. Por otra parte, temperaturas por debajo de 12 °C favorecen la floración temprana.

Condiciones del suelo: Pueden ser de una gran tipología siempre y cuando las condiciones climáticas sean favorables. Normalmente se usan suelos de textura media a ligera. Deben ser suelos bien desagregados para facilitar el drenaje en un espacio de 10 a 15 cm en donde se desarrollan las raíces y se forma el bulbo. En suelos más arcillosos como los de algunas zonas de los estados Lara y Falcón, tales como Quíbor, Duaca y El Tocuyo, cuando no son bien laborados se dificulta la penetración de las raíces y la retención de agua afecta el crecimiento del bulbo.

pH: el pH debe ser alcalino, porque en suelos con pH por debajo de 6 se dificulta la producción y los rendimientos finales son muy bajos. El pH ideal está entre 6,5 y 7.

Preparación del suelo: Debe ser bien desterronado y suelto para permitir una buena aireación, infiltración de agua y un buen aprovechamiento del abono. De esta manera se obtienen cosechas abundantes y plantaciones sanas, libres de enfermedades y plagas, además de facilitar el rebrote del material trasplantado, una mejor penetración del sistema de raíces y mantiene el suelo libre de malezas que compiten con el cultivo por la luz, aire, humedad y nutrientes. En la región de los andes en los estado Táchira, Mérida y Trujillo se utiliza el arado de bueyes para eliminar el material granular más grande y evitar la deformación de los bulbos, sobre todo en suelos con pendiente. En terrenos planos, como en los estados Anzoátegui, Aragua, y Distrito Capital, y por lo general en Venezuela se emplean motocultores y tractores e implementos que dan un buen rendimiento utilizando arados y rastras. Se recomienda dar un pase de arado inicial a una profundidad de 30 a 40 cm para eliminar la maleza mayor y reincorporarla al suelo para incrementar la materia orgánica, unos 40 días antes del trasplante. Asimismo, con este tiempo previo se debe encalar o hacer cualquier otra enmienda que requiera el suelo. Para desterronar el suelo se dará posteriormente un pase de rastra para dejar una cama para los cepellones, que sea

suelto y poroso, lo más mullido posible para facilitar el establecimiento de las plantas, o la germinación si fuera el caso de siembra directa. Se recomienda dar al menos tres pases de rastra.

Fertilización de la cebolla:

Normalmente se usan fórmulas completas para suplir los requerimientos de N, P, y K. Adicionando urea para completar el N requerido, o sulfato de potasio para completar el K que necesita el cultivo. La función del N en el cultivo es promover su crecimiento y desarrollo con tallos de coloración verde intenso. En su ausencia, se producen plantas desmedradas, hojas frágiles, pequeñas y pálidas. Por su parte, el P, es el elemento más requerido por el cultivo de cebolla para desarrollar el follaje y formar el bulbo. La deficiencia de P limita el crecimiento de la planta incluyendo el bulbo, hay marchitamiento de las hojas y dilatación del cuello de la planta. El K participa en el desarrollo y calidad del bulbo, y si no está disponible en el suelo se presenta un desecamiento extraño en las hojas primarias y se deshidratan por las puntas.

La IFA (1992), en el manual de fertilización mundial, señala que para sistemas de producción intensivos bajo condiciones tropicales la demanda o remoción de nutrientes para un rendimiento de 41 t ha⁻¹ es (Tabla 8):

Tabla 8. Extracción de nutrientes totales en el ciclo productivo de la cebolla.

Extracción de nutriente kg ha ⁻¹ para 41 toneladas de rendimiento				
N	P	K	Mg	Ca
102	18	93	17	29

Fuente: IFA 1992.

La fertilización puede ser aplicada de forma edáfica, o por fertirrigación (a través de riego por goteo). En la región andina de Venezuela varios productores aplican una cantidad de 1800 kg de fertilizante 15-15-15 por ha, lo que equivale a unos 270 kg de NPK por ha aproximadamente (datos personales E.L. Blanco). Adicionalmente se pueden hacer fertilizaciones foliares para corregir algunas deficiencias de macronutrientes secundarios como Ca, Mg, y S.

Los niveles óptimos de nutrientes en análisis de tejidos foliar en la etapa media del cultivo en hojas jóvenes maduras bajo condiciones de fertilización ideales se muestran en la Tabla 9, sin embargo no está disponible en la literatura la cantidad requerida de cada uno de ellos para determinada producción.

Tabla 9. Niveles óptimos de nutrientes en tejido foliar de cebolla

Nutrientes óptimos en tejido foliar									
% en base a materia seca					ppm de materia seca				
N	P	K	Mg	Ca	Fe	Mn	Zn	Cu	B
3.1	0.33	3.3	0.27	0.5	10	27	7	0.73	9

Fuente: IFA, 1992.

Casierra y Vargas (2015) resumen que para el caso de la cebolla es importante el tamaño de la plántula al momento del trasplante en cuanto al número de hojas, área foliar y peso total y que esto influencia su desarrollo en campo; incluso, que para el momento de la cosecha existe una correlación positiva entre el rendimiento del bulbo y variables como número de hojas por planta, longitud y número de raíces, altura de la planta y peso fresco del bulbo. La distribución de biomasa para los distintos compartimientos de la cebolla se observan en la Figura 12.

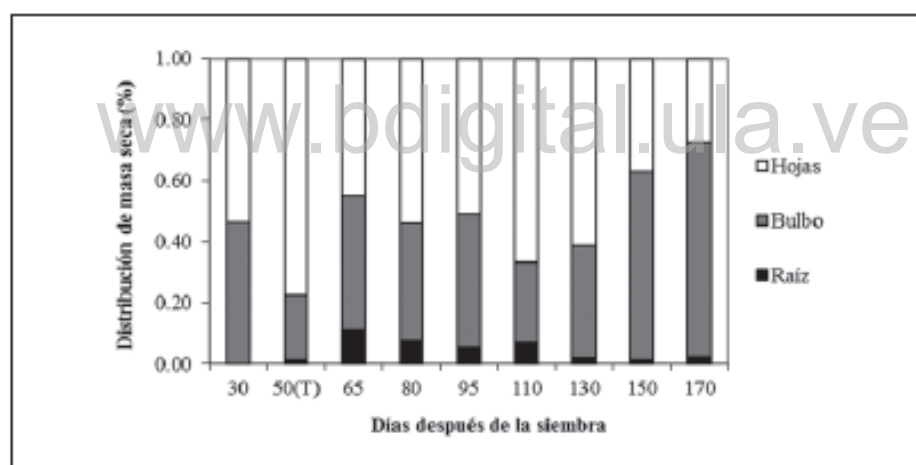


Figura 12. Asignación de biomasa a los diferentes órganos en plantas de cebolla híbrdo Yellow Granex en condiciones de campo en el trópico (Casierra y Vargas, 2015).

En la Figura 13 se observa la distribución de asimilados para los diferentes órganos de plantas de cebolla en un ciclo productivo de acuerdo con Casierra y Vargas (2015). En general, el N parece concentrarse en las hojas y en los bulbos alcanzando su mayor concentración alrededor de los 110 días después de la siembra (dds) (Figura 13a). Por otro lado el P presenta una mayor concentración en los bulbos durante la fase de bulbificación y la fase de maduración con respecto a las raíces y las hojas (Figura 13b), mientras que el K decrece en los órganos a medida que se forman los bulbos y hasta su cosecha, siendo muy

importante este elemento en la fase de desarrollo foliar, pues allí es donde aparece más presente en las hojas (Figura 13c).

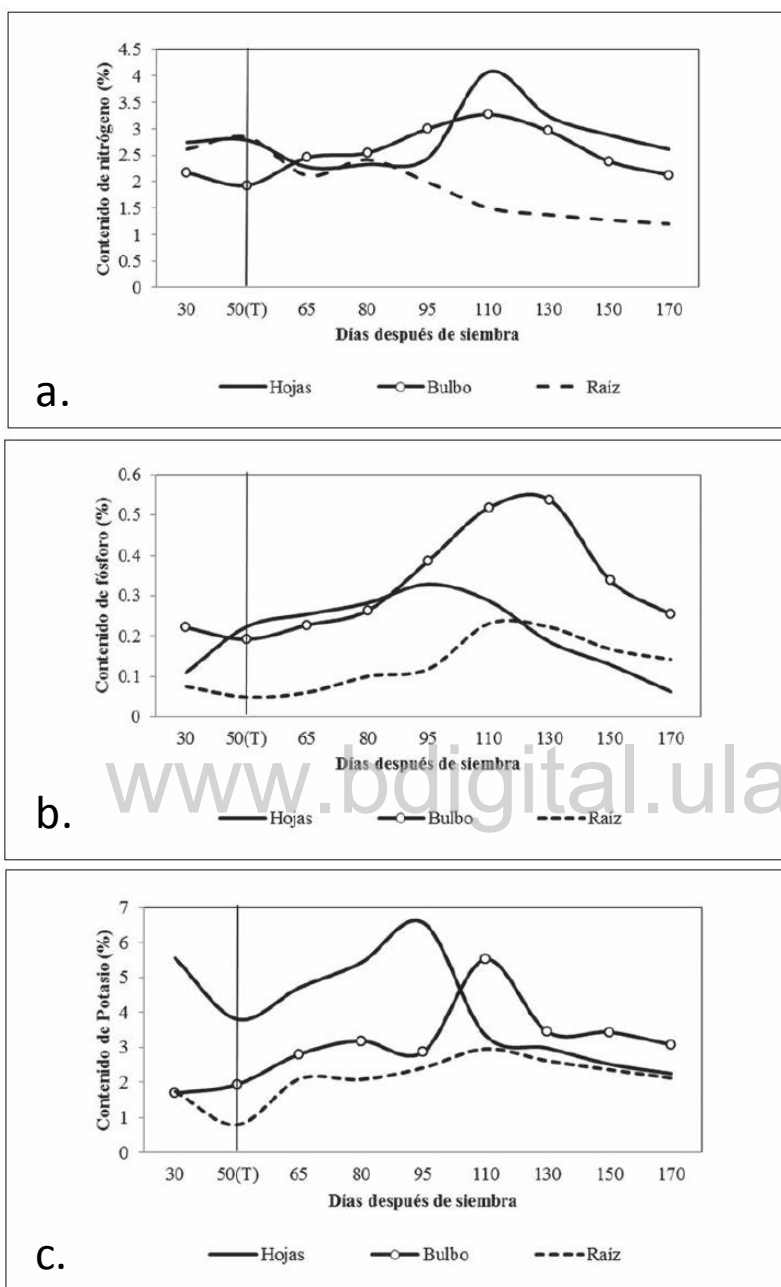


Figura 13. Distribución de asimilados en las plantas de cebolla a lo largo del ciclo productivo de *Allium cepa* híbrido Yelow Granex en el trópico (Casierra y Vargas, 2015). a. Contenido de N, b. Contenido de P, c. Contenido de K.

Siembra y plantación

Existen diferentes modalidades de siembra en el cultivo de cebolla, que van desde semilleros en almácigos en suelo para trasplante, o siembra directa de semilla sexual o

asexual, la cual se ha visto más generalizado en los últimos años, sin embargo el uso intensivo de los suelos y la producción de monocultivos ha permitido la proliferación de enfermedades del suelo, como la cachera (*Sclerotium cepivorum*) que causan pérdidas significativas debido a las pudriciones de raíz y bulbo, lo que ha obligado incorporar el uso de plántulas o semilleros en bandejas de polietileno con el fin de tener plantas sanas y de más alta calidad que garantice el éxito al momento de trasplante (Guzmán-Pérez, 1988).

Maroto (2000) señala que el marco de plantación que se ha utilizado con mayor intensidad, es la siembra en camas o canteros de 1 a 1,2 m de ancho, sobre la que se disponen cuatro filas de plantas, para una densidad de siembra de 220.000 a 300.000 plantas por hectárea, Sánchez y Serrano (1994) al igual que Maroto (2000) coincide con en el marco de plantación pero señala densidades de siembra de 500.000 plantas por hectárea, sin embargo Vilorio et al. (2003) en estudios realizados sobre el efecto de la fertilización y distancia de siembra sobre el rendimiento de la cebolla obtuvieron que el diámetro del bulbo era una característica dependiente de la fertilización y la distancia de siembra y que al variar la distancia de siembra de 6x20 cm hasta 12x20 cm se modificó significativamente la altura y el peso fresco del bulbo lográndose valores máximos a la distancia de 10x20 cm que representan un equivalente a 280.000 plantas ha⁻¹. Por otra parte, Rázuri-Ramírez et al. (2005) demostraron que la densidad de siembra no afecta el rendimiento del cultivo o producción total evaluando densidades entre 430.000 plantas ha⁻¹ hasta 860.000 plantas ha⁻¹, pero sí el tamaño del bulbo, siendo menor el tamaño para las densidades mayores.

Para la cebolla, se ha indicado que retrasa su bulbificación al estar en estrés lumínico, pues son los días largos y la temperatura los factores que regulan la bulbificación. El largo del día crítico se acorta al aumentar la temperatura. Además de estos factores, la bulbificación también se afecta por la calidad de luz, intensidad lumínica, reguladores de crecimiento, provisión de agua y disponibilidad de nutrientes. La cebolla es ineficiente en cuanto a interceptar la energía solar y convertirla en materia seca, pero la mayor parte de esta materia fijada es traslocada a los bulbos. El incremento del tamaño de área foliar parece ser el requerimiento básico para aumentar los rendimientos, por lo que para esta hortaliza se usan altas densidades de siembra. Por otra parte, la floración se produce cuando se aplica vernalización entre 9-12 °C, en cultivos a partir de bulbos, pero en cultivos establecidos a partir de semilla esto ocurre de forma distinta (Galmarini, 2011).

Control de malezas

Durante el crecimiento y desarrollo del cultivo se presentan varios tipos de arvenses, como el alpieste (*Phalaris canariensis*), la malva (*Malva sylvestris*), la avena negra (*Avena fatua*), el carretón blanco (*Trifolium repens*), y en menor proporción, la cerraja (*Sonchus oleraceus*), el cenizo (*Chenopodium album*), (Casierra y Vargas, 2015). Otras arvenses propias de las zonas semiáridas son la verdolaga (*Portulaca oleracea*), yerba Caracas (*Amarantus dubius*), paja jhonson (*Sorghum halepense*), ojo de pajarito (*Thunbergia alata*),

planta maravilla (*Calendula officinalis*), flor escondida (*Phyllanthus niruri*) y el corocillo (*Cyperus rotundus*) (comunicación personal con ingenieros agrónomos en ejercicio).

En pre-siembra: control mecánico, Glifosato, Paraquat, Linuron, Oxifluorfen, S-metolaclo.oro.

Post-siembra: Control manual o aplicación de herbicidas selectivos pre-emergentes o de post-emergencia temprana como el Linuron y Oxifluorfe.

Plagas de la cebolla

***Thrips tabaci* y *Tetranychus urticae*:** Control químico con Imidacloprid (Relevo) y Abacmetina (Inimectin)

***Liriomyza sativae* y *Acrolepia assectella*:** Control químico con Cyromazina (Trigard) y Zetacipermetrina (Furia)

Enfermedades de la cebolla

***Alternaria porri* y *Stemphylium vesicarium*:** Control químico con Clorotalonil (Bravo 720), Azoxistrobin (Amistar) y Difenconazol (Score).

***Sclerotium cepivorum*:** Control químico con PCNB (Terraclor) y control biológico con *Trichoderma harzianum* y *Paecilomyces lilacinus*.

El riego en el cultivo de cebolla

La cebolla en nuestro país se cultiva en suelos áridos del occidente y soleados del oriente, por ello se caracteriza por una alta evaporación ante la elevada insolación, lo cual hace imprescindible el uso del riego. En lugares en donde la precipitación anual está alrededor de los 600 mm, se puede sembrar en cualquier mes del año porque el riego debe ser integral, mientras que en los sitios en donde está marcada una época seca y una de lluvia, se debe coincidir la época de lluvia con el establecimiento del cultivo y la fase de desarrollo, y la época seca con el final de la bulbificación y la maduración. La frecuencia del riego y el volumen hídrico va a estar determinado por las condiciones de clima y el tipo de suelo (Guzmán-Pérez, 1988). Los métodos de riego que se utilizan varían de surcos largos, por aspersión, por inundación, o más recientemente por riego localizado o cintas de goteo. Lugares como el Valle de Quíbor en Venezuela, de amplia tradición agrícola y con características climatológicas donde el agua es un recurso precioso y escaso, merece un esfuerzo capaz de mejorar el aprovechamiento de los recursos hídricos para optimizar su rendimiento en los cultivos tradicionales y en la expansión de las nuevas áreas de riego (Rázuri-Ramírez et al., 2005). Métodos de riego superficiales como el serpentín y el cantero producen altas pérdidas de agua por evaporación, alrededor de 52 %, lo cual hace pensar en

la superficie adicional que podría regarse con un método más eficiente, como el riego localizado. La cinta de riego por goteo funciona como elemento corrector del déficit hídrico, y funciona como base para una agricultura sostenible y rentable en la optimización del uso del agua. Para Rázuri-Ramírez et al. (2005) las etapas de riego para la cebolla pueden considerarse en riegos de asiento o trasplante, de establecimiento, riegos de crecimiento y desarrollo, de bulbificación y riegos finales, y la producción de cebolla regada por goteo se incrementa 242 % en comparación a la producción bajo riego tradicional con serpentín.

En la Figura 14 se observan las fases del cultivo de cebolla desde su siembra en bandejas hasta la cosecha en campo; también se observa el requerimiento hídrico en cada fase luego del trasplante a partir del valor de Kc (coeficiente del cultivo ajustado para las condiciones del área de estudio). También se observa que el requerimiento hídrico aumenta a medida que avanza la fase de desarrollo foliar y se hace imprescindible durante la formación de bulbos.

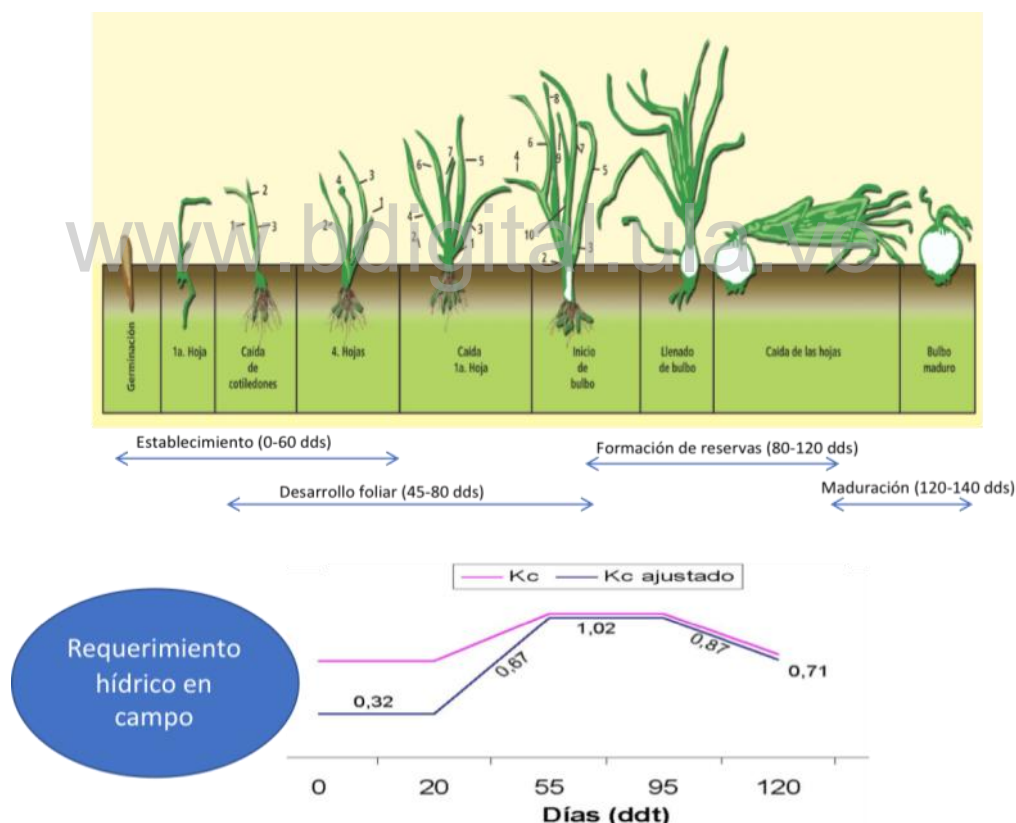


Figura 14. Fases del cultivo y requerimiento hídrico de *A. cepa*. dds: días después de la siembra; ddt: días después del trasplante; Kc: coeficiente del cultivo. Fuente: datos personales E.L. Blanco, adaptado de Haifa-Group (2016) y Allen et al. (2006).

En las últimas décadas la fertilización inorgánica de NPK ha sido indiscriminada, especialmente en la región andina de Venezuela, donde los cultivos de hortalizas se realizan de manera intensiva, lo que ha modificado significativamente el equilibrio ecológico del suelo alterando las poblaciones microbianas, acidificando y aumentando los contenidos de sales, incrementando la eutrofización, disminuyendo la calidad y salud del suelo, disminuyendo la materia orgánica en el mismo, y afectando directamente el desarrollo de los cultivos, entre otros. Esta condición, aunada a la poca disponibilidad de agua para riego en zonas semiáridas, que ocasionan la reducción de áreas disponibles para la siembra de cultivos hortícolas, aumentan el desequilibrio en los agroecosistemas, y requiere de atención para generar estrategias para la eficiencia del uso del agua a gran escala, más aun bajo un escenario de cambio climático y crecimiento demográfico.

Por su parte, el cultivo de la cebolla es de suma importancia en nuestra región porque forma parte de las hortalizas de mayor consumo en la población, por lo tanto, disminuir los costos de producción y generar un impacto positivo en el consumidor, además de asegurar la conservación del agua y del suelo como parte de un enfoque agroecosistémico es un tema muy importante de abordar en vías de una agricultura sostenible que permita asegurar la soberanía alimentaria en la zona andina de Venezuela y el resto del país.

En este sentido, se propone la utilización de RPCV, autóctonas del estado Mérida y con potencial como biofertilizantes y posibles mitigadoras del déficit hídrico, como una alternativa agroecológica para el desarrollo de agroecosistemas en zonas semiáridas, especialmente para el cultivo de la cebolla a nivel regional y nacional, así como estudiar el impacto que éstas puedan tener en la calidad y salud del suelo en su interacción con la comunidad microbiana nativa. Además, es necesario determinar los mecanismos fisiológicos de la cebolla para desarrollarse bajo condiciones de déficit hídrico mediante el estudio de parámetros ecofisiológicos, y si éstos se ven afectados por la presencia de las RPCV. Con base a este planteamiento, surgen las siguientes interrogantes:

¿Podrían las RPCV ser una alternativa para mejorar las condiciones de nutrición mineral a través de sus mecanismos que mejoran los procesos químicos y microbiológicos del suelo, y la disponibilidad de nutrientes en el cultivo de cebolla utilizando menores dosis de NPK manteniendo o incrementando la producción del cultivo y por ende disminuir el impacto ambiental ocasionado por las altas dosis de fertilizantes inorgánicos aplicadas convencionalmente por los agricultores?

¿Podrían las RPCV atenuar el estrés hídrico en las plantas producido por la poca disponibilidad de agua de riego en zonas semiáridas y de esta manera mantener o mejorar la producción del cultivo de cebolla?

¿Podrían las RPCV incrementar la calidad y fertilidad del suelo mediante la

estimulación de la actividad de la comunidad microbiana en el agroecosistema, y además en condiciones de estrés hídrico?

HIPÓTESIS

General

La aplicación de RPCV permitirá reducir las dosis de fertilizante inorgánico (NPK) aplicado al cultivo de cebolla, consiguiendo un rendimiento similar al comercial, así como reducir los efectos negativos que sobre el cultivo puedan tener las condiciones de déficit hídrico y nutricional, además incrementando la actividad biológica del suelo, estableciendo de esta forma un índice mayor de calidad y salud del suelo, y en general mejorando las propiedades del agroecosistema, desde un enfoque agroproductivo y sostenible.

Específicas

- I. Las RPCV permitirán reducir las concentraciones de fertilizantes inorgánicos de NPK aplicados por los agricultores al cultivo de cebolla, estimulando sus mecanismos promotores de crecimiento vegetal en concentraciones medias (50 % NPK) facilitando la disponibilidad de nutrientes en el suelo para las plantas y la mineralización en condiciones de estrés nutricional, igualando así el rendimiento a los tratamientos de fertilización completa, y afectando favorablemente las variables de crecimiento y distribución de asimilados (tasas de crecimiento e índices foliares); mientras que los tratamientos inoculados sin la aplicación de fertilizantes inorgánicos serían susceptibles a inmovilizar los nutrientes del suelo y estos no estarían disponibles para cubrir el requerimiento nutricional de la cebolla, y por ello se obtendrá un rendimiento bajo en comparación al tratamiento de fertilización completa.**

Justificación:

Numerosos estudios han reportado la reducción significativa entre el 25 % y el 50 % de NPK con el uso de RPCV en varios cultivos gracias a su efecto biofertilizante, logrando el mismo rendimiento que se alcanza cuando se emplea la dosis completa del fertilizante inorgánico. Específicamente para la cebolla se logró reducir el 50 % de NPK con el uso de vermicompost y un consorcio microbiano de *Azospirillum* + *Azotobacter* (Jayathilake et al., 2003). Los microorganismos a utilizar en esta investigación han mostrado características como RPCV especialmente como biofertilizantes (en la disolución de P y aporte de N), producción de AIA, y como agentes de biocontrol, tanto de forma individual como en consorcio, por lo que, bajo el efecto de los fertilizantes inorgánicos en una dosis moderada (50 %) se espera que se activen estos mecanismos y favorezcan el crecimiento del cultivo, ya que habría disponibilidad suficiente de

nutrientes para el metabolismo microbiano, lo que facilitaría la mineralización y con esto una mayor disponibilidad de nutrientes para el cultivo. En condiciones de insuficiencia nutricional los microorganismos tienden a inmovilizar el N en el suelo, y por tanto, en los tratamientos inoculados pero sin la aplicación de fertilizante NPK, las RPCV capturarían los nutrientes disponibles en el suelo para su metabolismo, y desproverían de los nutrientes a las plantas, lo que limitaría el desarrollo del cultivo.

- II. Las RPCV podrían aminorar en las plantas de cebolla los efectos del estrés hídrico y el estrés nutricional ocasionado por una menor frecuencia de riego y menor aplicación de NPK en una zona semiárida, igualando o incrementando las variables de intercambio gaseoso como la tasa de asimilación de CO₂, tasa de transpiración, conductancia estomática, y la eficiencia del uso del agua en comparación con el tratamiento no inoculado y sin los estreses abióticos mencionados.**

Justificación:

Existe evidencia que las rizobacterias a utilizar en este experimento incrementan el contenido de N y clorofila en plantas de pimentón en condiciones de umbráculo (Castro y Blanco, 2018), por lo que se espera que estas condiciones incrementen al menos la tasa de asimilación de CO₂ en las plantas de cebolla inoculadas con el consorcio microbiano, y esto favorezca el rendimiento. En condiciones de estrés hídrico los estomas se cierran y la transpiración disminuye en respuesta a la producción de ácido abscísico, lo que reduce el crecimiento vegetal. Entonces, es probable que la inoculación con RPCV induzca mayor eficiencia en el uso del agua en las plantas inoculadas en comparación con las plantas no inoculadas.

- III. Las RPCV tendrán un efecto positivo sobre las plantas sometidas a estrés hídrico en los parámetros de las relaciones hídricas, aumentando la capacidad de extracción de agua del suelo produciendo ajustes (incrementos) en cuanto a las variables como potencial hídrico, reducción del potencial osmótico en el punto de saturación, potencial osmótico en el punto de pérdida de turgor, contenido relativo hídrico, y una concomitante disminución del módulo de elasticidad de la pared celular, lo que podría incrementar la formación de sustancias de reserva y estas a su vez incrementar el rendimiento de los bulbos; igualmente, las RPCV promoverán la toma de agua y nutrientes en la planta estimulando el crecimiento de las raíces, además de incrementando el N en las plantas en condiciones de déficit hídrico.**

Justificación:

Existe un reporte de la acción de RPCV (*Azospirillum brasilense* Sp245) sobre plantas

de trigo en condiciones de estrés hídrico en donde hubo un mayor potencial hídrico, una reducción del módulo de elasticidad, con lo cual se contrarrestaron los efectos negativos causados por la sequía sobre el rendimiento de ese cereal incrementando su tolerancia ante este estrés; además, en otros estudios hay un indicio de modificación de las acuaporinas por efecto de las RPCV y que esto posiblemente mejora la conductividad hidráulica en las raíces, pero es algo que requiere de más estudios (Aroca y Ruiz-Lozano, 2009). Por otro lado, para el caso del cultivo de cebolla se han identificado incrementos en la cantidad de proteínas como un ajuste osmótico en respuesta al déficit hídrico (Creus et al., 2004; Kumar et al., 2007), por esta razón, se espera que las plantas de cebolla muestren un ajuste osmótico que mejore su estatus hídrico. Las RPCV también pueden restar el efecto negativo en las plantas en condiciones de estrés hídrico por su actividad ACC (1-aminociclopropano-1-carboxílico) deaminasa que disminuye el contenido de etileno en las plantas producido bajo este estrés y favorecen el crecimiento vegetal en condiciones adversas, además de incrementar la disponibilidad de N (en forma de amonio) como producto de este mecanismo (Aroca y Ruiz-Lozano, 2009; Dimkpa et al., 2009), por lo que se espera que en condiciones limitantes de agua el contenido de N en las plantas inoculadas sea mayor que en las plantas no inoculadas. En este sentido, se reportó recientemente una cepa de *Rhizobium* con actividad ACC deaminasa y productora de exopolisacáridos (EPS) (Moronta-Barrios et al., 2018), y aunque es ampliamente conocido que el grupo de los rizobios producen estas sustancias mucilaginosas, su producción podrían mantener el estatus hídrico en la rizósfera de plantas inoculadas, que además servirían como adherentes de nutrientes del suelo por lo tanto incrementarían el aporte de minerales, como una especie de trampa para nutrientes incrementando el crecimiento bacteriano y vegetal, y además favoreciendo de esta forma el mantenimiento del potencial hídrico en las plantas inoculadas en condición de estrés hídrico.

Igualmente, las RPCV podrían aumentar la capacidad de extracción de agua del suelo estimulando un mayor crecimiento de las raíces, especialmente debido a la producción de AIA de las RPCV a utilizar en el estudio. A pesar que esto podría producir un aumento en la relación raíz/vástago, esto no afectaría el rendimiento de bulbos porque de forma simultánea el aumento del potencial osmótico en respuesta al déficit hídrico y a la inoculación con RPCV, se formarían sustancias de reservas dirigidas hacia el órgano de reserva que es el bulbo, y esto favorecería el rendimiento.

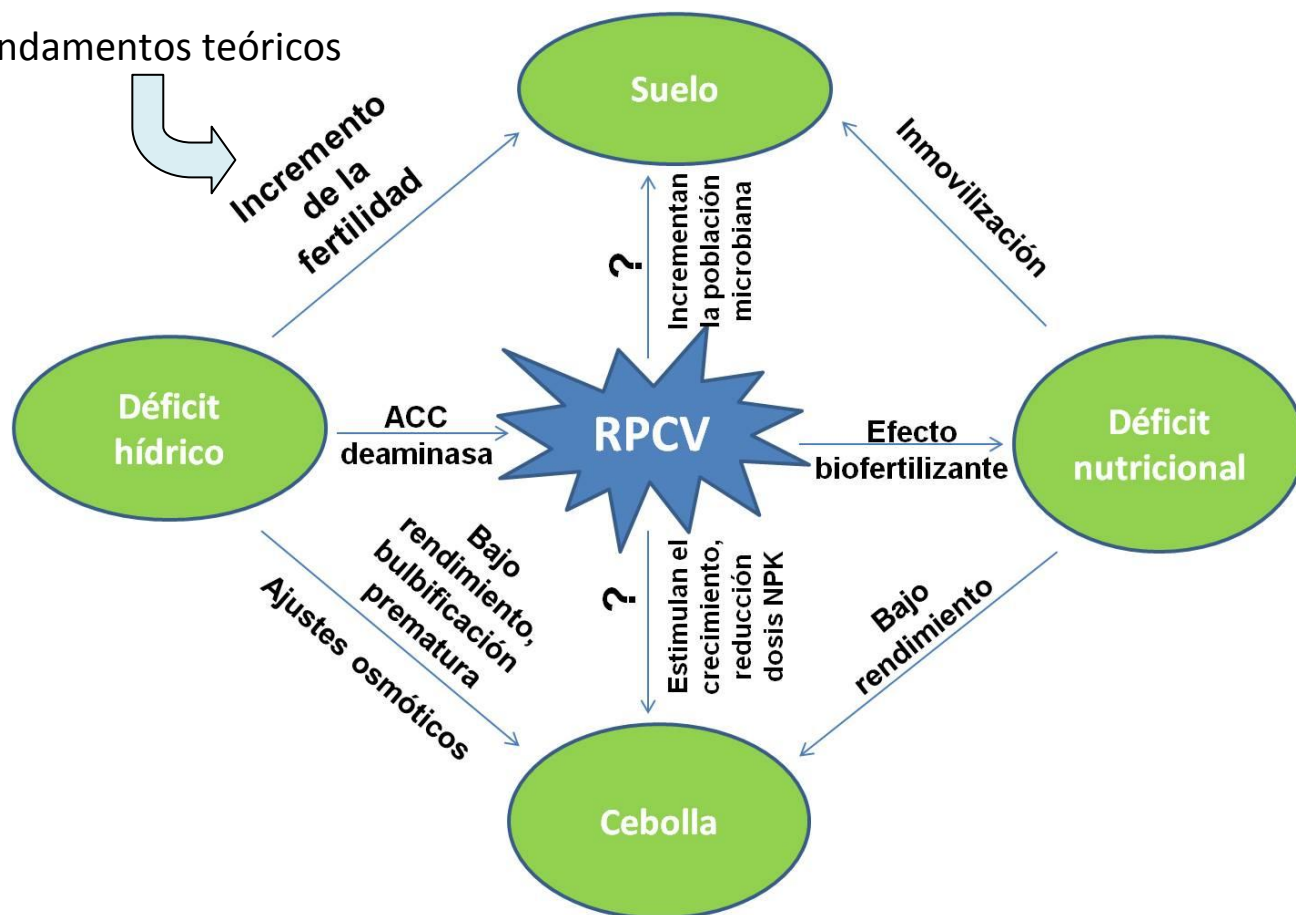
- IV. Las RPCV podrían afectar benéficamente los parámetros biológicos y la actividad enzimática de la comunidad microbiana rizosférica asociada a las plantas tratadas con el consorcio microbiano, mediante el incremento de los indicadores de calidad y salud del suelo como la biomasa microbiana, respiración basal, y las actividades enzimáticas determinadas en el cultivo especialmente en condiciones no limitantes de agua, y así mejorar las propiedades del agroecosistema cebolla.**

Justificación:

Las RPCV presentan diversos mecanismos con acción biofertilizante, bioestimulante y biocontroladora, los cuales mostrarían un efecto directo sobre la salud del suelo al disminuir la aplicación de fertilizantes y pesticidas al campo que normalmente se aplican en exceso y disminuyen la actividad microbiana. La presencia de estas RPCV en el suelo rizosférico incrementa la disponibilidad de nutrientes, y con esto, su disponibilidad para microorganismos nativos, por lo que se espera que incremente la biomasa microbiana y la respiración basal en el tratamiento fertilizado con el 50 % de NPK y el no fertilizado, y también que mejore los cocientes ecofisiológicos. Aunque, en condiciones de estrés hídrico se espera que por la carencia de agua y mayor concentración de fertilizantes inorgánicos en el suelo disminuya la biomasa microbiana y la respiración basal debido a que el agua es necesaria para un mantenimiento óptimo del metabolismo microbiano, y un exceso de fertilizantes limitaría la acción de la microbiota en el suelo por la toxicidad ocasionada. Igualmente, la adición de fertilizantes estimula el desarrollo de grupos funcionales que podrían favorecer la disponibilidad de N o de P en el ambiente del suelo y con ello su disponibilidad para la comunidad microbiana. En contraste, se ha descrito que la fertilización inorgánica inhibe o reduce la actividad enzimática en el suelo debido a la presencia del producto en el suelo, por lo cual, en los tratamientos inoculados con 0 % y 50 % de NPK al haber una presencia parcial del producto se esperaría que aumente la actividad enzimática debido a la acción del consorcio microbiano, y que con la dosis 100 % de NPK tanto inoculada como no inoculada disminuya la actividad enzimática del suelo en el suelo por un efecto inhibitorio del metabolismo microbiano.

En la Figura 15 se muestran los fundamentos teóricos más relevantes de la interacción planta-microorganismo-suelo de acuerdo a la naturaleza de la investigación y los estreses aplicados, los cuales sirvieron como base para el desarrollo de las hipótesis planteadas. Aunque en este capítulo se ha hecho una revisión ampliada de los aspectos tratados en el esquema de la Figura 15, los aquí mostrados se consideran clave para el desarrollo del experimentos y fueron de dónde partieron las interrogantes y los resultados esperados. Se puede observar que existen evidencias no profundizadas del efecto de las RPCV sobre el cultivo de cebolla, y algunas evidencias puntuales de las interrelaciones entre los aspectos más importantes a evaluar en esta investigación, y en otros casos no hay conocimiento del efecto de las RPCV. Teniendo esto en cuenta se mencionan los aportes que se esperan conseguir con esta investigación.

Fundamentos teóricos



Aportes esperados

- Registrar la temperatura y radiación para cumplir el ciclo productivo de cebolla (no inoculado) en condiciones ambientales no estresantes, con fines de planificación agrícola en donde haya disponibilidad de estos datos.
- Conocer las respuestas ecofisiológicas del cultivo de *A. cepa* ante las condiciones de estrés hídrico y estrés nutricional, y bajo la influencia de las RPCV como mitigadoras de los estreses aplicados.
- Conseguir una reducción significativa de la aplicación de agua de riego, sobre todo para los ambientes semiáridos o donde el recurso agua sea un factor limitante para la producción de cebolla.

- Reducir al menos a la mitad la cantidad de fertilizante NPK que se aplica regularmente en el cultivo de cebolla sin afectar el rendimiento, con la aplicación del consorcio microbiano.
- Conocer el efecto de los biofertilizantes sobre la actividad microbiológica y enzimática del suelo.
- Mejoramiento de las propiedades agroecosistémicas con la aplicación del biofertilizante.
- Desarrollo de un consorcio microbiano promotor del crecimiento vegetal para la producción de plántulas y plantas de cebolla como una contribución de impacto agrosostenible en Venezuela.

Figura 15. Base teórica y aportes esperados de la investigación.

OBJETIVOS

General

Determinar el efecto que tiene la aplicación de RPCV sobre el cultivo de *A. cepa* mediante el análisis del intercambio gaseoso, las relaciones hídricas y el estudio de su crecimiento y producción, así como la determinación de parámetros de calidad y salud del suelo, bajo una menor frecuencia de riego y menor dosis de fertilización inorgánica en un ambiente semiárido con base a los regímenes de riego y fertilización con los que se alcanza el requerimiento hídrico y nutricional de este rubro.

Específicos

1. Determinar el mejor consorcio microbiano de RPCV para el cultivo de cebolla a nivel de semillero en condiciones de umbráculo, mediante el análisis de parámetros no destructivos y destructivos de las plantas como la longitud aérea, la longitud de raíz, el peso fresco y el peso seco aéreo y de raíz, el número de hojas, y el diámetro de la base del bulbo.
2. Estimar la acumulación de grados/día en cada fase fenológica del cultivo de cebolla con base en las condiciones de temperatura y radiación particulares de San Juan de Lagunillas-Mérida, y el efecto del déficit hídrico y la inoculación sobre el rendimiento de la cebolla y la EUA en términos del riego aplicado.
3. Estudiar las respuestas ecofisiológicas del intercambio de gases como la tasa de asimilación de CO₂, la tasa de transpiración y la conductancia estomática en las fases de establecimiento, desarrollo y bulbificación del cultivo en los tratamientos con RPCV y sin RPCV.
4. Establecer los mecanismos fisiológicos de las plantas de cebolla para responder a condiciones de estrés hídrico analizando las relaciones hídricas mediante variables como el potencial hídrico, y la realización de curvas presión-volumen para obtener el potencial osmótico en el punto de saturación, potencial osmótico en el punto de pérdida de turgor, contenido relativo hídrico, y los ajustes de elasticidad de las paredes celulares en las fases de desarrollo y bulbificación del cultivo en los tratamientos inoculados y no inoculados.
5. Determinar propiedades microbiológicas (biomasa microbiana, respiración basal) y bioquímicas del suelo (actividad enzimática) a nivel de la comunidad microbiana autóctona, y la rizosférica asociada a las plantas inoculadas y no inoculadas con el consorcio microbiano promotor del crecimiento vegetal en la fase clímax del cultivo (llenado del bulbo) en el agroecosistema establecido.
6. Analizar el efecto que tiene el consorcio microbiano de RPCV sobre la dinámica de la distribución de asimilados de las plantas inoculadas y no inoculadas, mediante la determinación de las tasas de crecimiento relativo y absoluto, índice de área foliar, parámetros morfométricos como el número de hojas, pesos frescos y secos de la

parte aérea de la planta y de la raíz, y el diámetro y peso de los bulbos durante el desarrollo del cultivo y la producción de bulbos.

7. Establecer las correlaciones entre las variables estudiadas para determinar el efecto de la biotecnología (biofertilizantes) sobre las propiedades del agroecosistema de cebolla.

METODOLOGÍA

De acuerdo con la naturaleza de los objetivos de la investigación, esta se realizó en tres fases:

1. Fase experimental

1.1. Descripción del área

La investigación se realizó en la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP-ULA) de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes, ubicada en San Juan de Lagunillas, municipio Sucre, estado Mérida, con una superficie total de 35.965,08 m², con una altitud entre 1050 a 1100 msnm, las coordenadas UTM 240946E – 941369N, 240737E – 941369N, 240737E – 941754N, 240946 E – 941759 N. Su ubicación geográfica está comprendida entre los 8° 31' N y 71° 22' W. Según la taxonomía de suelos pertenece a un Aridisol (USDA, 2020). El suelo característico de San Juan de Lagunillas se formó a partir de lavas torrenciales de la formación La Quinta; y las texturas varían desde gruesas en la superficie a medias en la profundidad, cuya clasificación taxonómica sería Camborthid Típico, franco fino, micáceo, isohipertérmico, con pendiente del 7 al 12 %, profundidad efectiva que no sobrepasa los 21 cm, drenaje moderado, ausencia de nivel freático y marcas visibles de erosión laminar y en surcos. Se recomienda utilizar para estos suelos cultivos de raíces cortas, hortalizas, pastos de corte, frutales, asimismo recomienda hacer uso minucioso del agua para riego (Malagón, 1979). Algunas características de los diferentes horizontes de este suelo se pueden ver en el Anexo 1 (Ochoa et al., 2010). Las características físico-químicas del suelo de la parcela entre 0-15 cm son: textura franco arenosa, materia orgánica 3,61 %, P disponible 30 mg kg⁻¹, pH 6.04, conductividad eléctrica 0,14 mS cm⁻¹, K 568 mg kg⁻¹, Ca 2060 mg kg⁻¹, Mg 1872 mg kg⁻¹ (Anexo 2).

De acuerdo al sistema de zonas de vida de Holdridge, la zona de vida que corresponde al área de estudio corresponde a un Bosque Seco Premontano con temperatura media de 22,5 °C, en la transición entre el Bosque Espinoso y el Bosque Muy Seco en la región tropical; mientras que de acuerdo a Ataroff y Sarmiento (2004) esta zona corresponde a la unidad ecológica Arbustal Espinoso. La precipitación total anual promedio registrada para la zona es de 600 mm, observándose dos periodos húmedos con los picos

máximos: abril-mayo y septiembre-octubre (Figura 10). La temperatura media anual es de 23,7 °C, la máxima anual promedio es de 28 °C y la mínima anual promedio de 18 °C. La evaporación está en el orden de 1500 mm año⁻¹, superando abiertamente durante todo el año a la precipitación (datos aportados por la estación agrometeorológica del IIAP-ULA).

La fuente de agua para riego proviene de un tanque de almacenamiento de 1.220.000 L, perteneciente a la estación experimental, el abastecimiento del recurso es proveniente del sistema de riego Estanquillo alto, cuya fuente es el río Miraflores, encontrándose aproximadamente a 30 km de distancia (Rodríguez, 2010). El análisis del agua de riego se observa en el Anexo 3 y el capítulo 3. Según información del personal encargado de la estación, la parcela experimental estuvo en desuso al menos durante los tres años previos a la investigación.

1.2. Descripción del objeto de estudio

1.2 a. Características de las RPCV

Se utilizaron los consorcios microbianos de cinco cepas rizobacterianas (ME01, YE1, ES1, Leu2A, y Alf) autóctonas, aisladas y caracterizadas en el Laboratorio de Fitobiotecnología de la Facultad de Ciencias-ULA que han sido identificadas con los géneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Ochrobactrum* y *Pseudomonas*, y han mostrado alto potencial como promotoras del crecimiento vegetal de forma individual y en consorcio, tanto en condiciones *in vitro* como en condiciones de umbráculo en especies como la lechuga, tomate y pimentón (Capítulo 2; Blanco et al., 2021).

1.2 b. Características de la cebolla

Se utilizó cebolla certificada correspondiente al híbrido F1 2000, de la compañía Hazera Genetics, la cual ha mostrado cierta tolerancia al bajo contenido de humedad en el suelo (Estrada-Prado et al., 2015). La semilla fue donada por un productor agrícola de la región central de Venezuela.

1.3. Ensayo en condiciones de umbráculo

Se realizó un experimento probando todos los consorcios microbianos y se evaluó su potencial para promover el crecimiento de plantas de cebolla en fase de semillero. Se utilizaron bandejas provistas del suelo de la parcela experimental, y se mantuvieron durante 60 días. A las plantas del mejor tratamiento (el que favoreció más parámetros en esta fase) y a las del control se les realizó una curva de saturación de luz para determinar el efecto del consorcio sobre la actividad fotosintética (ver detalles en Capítulo 2; Blanco et al., 2021). Las características de los equipos utilizados para este ensayo fueron: luxómetro marca Sper scientific LTD modelo 840006, termohigrómetro digital HT 92-18, vernier digital marca General No. 143 UPC 22064, pHmetro y conductímetro digital marca HANNA modelo HJ9811. De este experimento se escogió el consorcio más promisorio para las plantas de cebolla que se utilizó para el ensayo de campo.

1.4. Ensayo en campo

El ensayo en campo se realizó en la parcela descrita del IIAP-ULA en San Juan de Lagunillas, Mérida, utilizando dos condiciones de riego (riego diario, y riego cada tres días), y cuatro tratamientos de fertilización inorgánica con diferentes dosis de NPK en combinación con el consorcio microbiano escogido a saber: 0 % NPK + inóculo, 50 % NPK + inóculo, 100 % NPK + inóculo, 100 % NPK No inoculado (ver detalles en Capítulo 3; Blanco et al., en prep.). La disposición de los tratamientos en campo se observan en la Figura 16. Se usó un diseño bifactorial 2x4 en bloques completamente aleatorizados con tres repeticiones.

Durante todo el experimento se midieron las variables ambientales (temperatura, humedad relativa, radiación, contenido de humedad en el suelo) con la finalidad de establecer la integral térmica del cultivo de cebolla (ver Capítulo 3), y se evaluaron las variables ecofisiológicas del cultivo (intercambio de gases, relaciones hídricas, variables de crecimiento) en tres tiempos: T0 45 días después de la siembra (dds) en semillero antes del trasplante y antes de la aplicación de los tratamientos, T1 35 días después del trasplante (ddt), T2 69 ddt (ver detalles en Capítulo 4 y Capítulo 6), y el rendimiento a los 71 ddt (ver detalles en Capítulo 3). El efecto borde se tomó en cuenta tanto para los bordes de cada parcela de repetición por tratamiento, como el efecto borde ocasionado por cada muestreo destructivo dentro de cada parcela en cada tiempo de medición. Por ello, no se muestrearon plantas en las filas de los bordes entre tratamientos, ni se tomaron plantas que quedaban alrededor del muestreo destructivo para la siguiente medición.

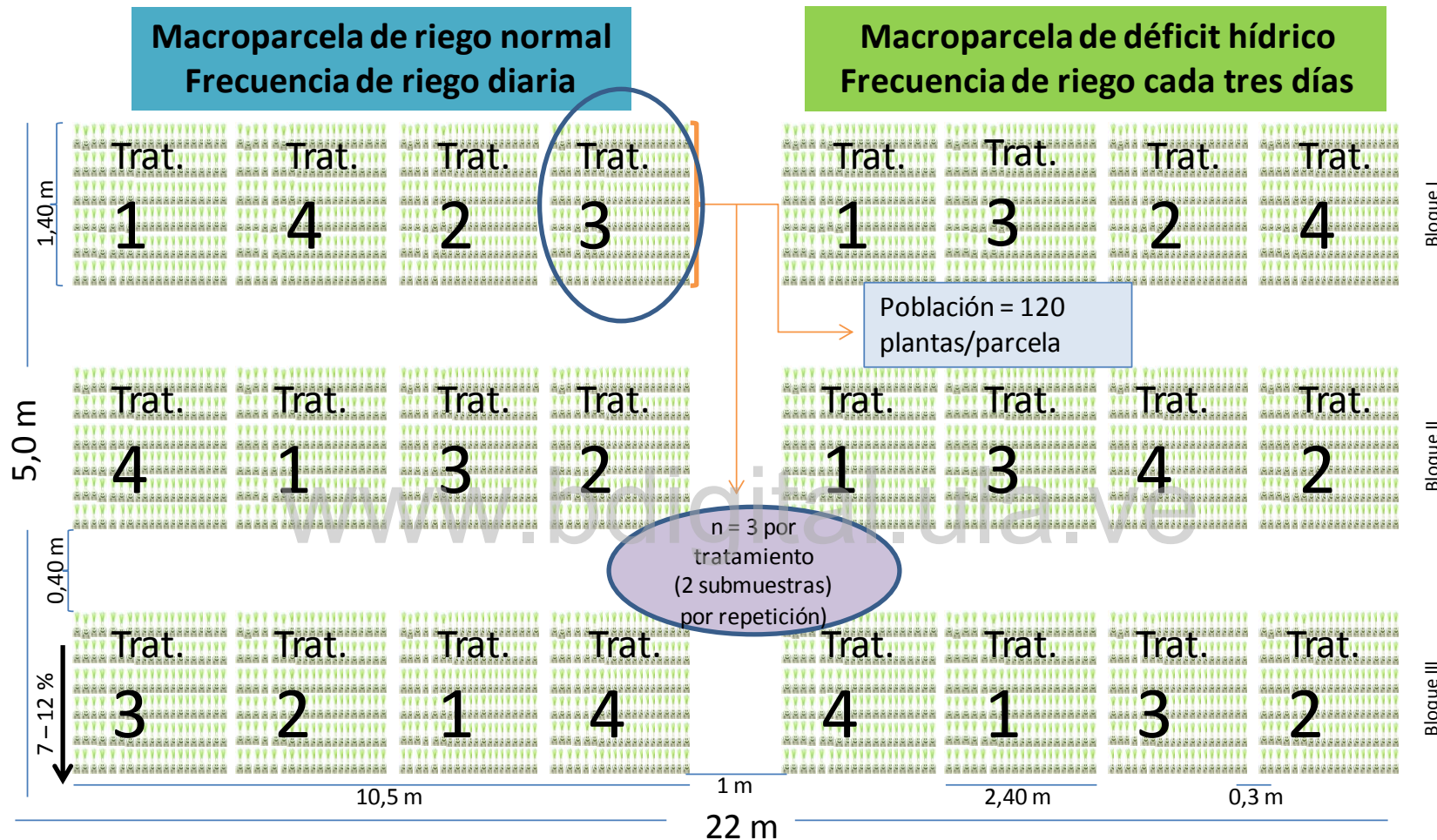


Figura 16. Distribución espacial en campo en la Estación Experimental IIAP-ULA San Juan de Lagunillas, Mérida. Los números indican los tratamientos aplicados. 1= 0 % NPK + inóculo, 2= 50 % NPK + inóculo, 3= 100 % NPK + inóculo, 4= 100 % NPK No inoculado.

2. Fase de laboratorio

2.1 Curvas presión-volumen

Las curvas presión-volumen se determinaron a los 48 ddt (fase de formación del bulbo) a través de mediciones del potencial hídrico con una bomba de presión y del peso de las muestras por medio de una balanza analítica, para establecer si la especie realizó ajustes osmóticos, y conocer los valores de turgencia y potencial osmótico, así como el módulo de elasticidad para cada tratamiento (ver Capítulo 4).

2.2 Distribución de asimilados

Este análisis se realizó en tres tiempos: T0 45 días después de la siembra (en semillero antes del trasplante y antes de la aplicación de los tratamientos), T1 35 días después del trasplante (ddt), T2 69 ddt. En estos tiempos se determinaron parámetros como la longitud foliar, longitud de raíz, diámetro del bulbo, número de hojas, área foliar, y la biomasa en hojas, bulbo y raíz. También se determinó el % N foliar para el T1 y T2, y el % N en bulbos para el T2. Del mismo modo se determinó el índice de área foliar, el área foliar específica, y las tasas de crecimiento relativo y absoluto (ver detalles en Capítulo 6).

2.3 Análisis de las propiedades microbiológicas y enzimáticas del suelo

La comunidad microbiana rizosférica se estudió mediante la determinación de propiedades microbiológicas y enzimáticas del suelo. Las muestras del suelo rizosférico se tomaron a los 64 ddt correspondiente a la etapa final de la fase de bulbificación por considerarla la etapa clímax del cultivo (ver detalles en Capítulo 5). Las propiedades microbiológicas determinadas fueron biomasa microbiana, respiración basal, índices ecofisiológicos (cociente microbiano, cociente ecofisiológico, y cociente de eficiencia metabólica), y la mineralización del N. Igualmente se determinó la actividad enzimática del suelo: actividad deshidrogenasa, hidrólisis del diacetato de fluoresceína, actividad fosfatasa, actividad β -glucosidasa, actividad ureasa, y amonificación de arginina. Asimismo se determinaron características físico-químicas como carbono orgánico total, nitrógeno total del suelo, el pH y la conductividad eléctrica (ver detalles en el Capítulo 5).

3. Fase de análisis

Los datos obtenidos en los diferentes experimentos se analizaron mediante la verificación de la homogeneidad de la varianza con la prueba de Bartlett, y posteriormente se trataron con el análisis de la varianza (ANOVA), con un nivel de significación $p < 0,05$ y se aplicó la prueba de la mínima diferencia significativa (LSD) para determinar la diferencia entre la media de los tratamientos, utilizando el programa Statgraphics (Statistical Graphics Corporation, 2002). En caso de no cumplir con la homogeneidad de la varianza se aplicó la

prueba de Kruskal Wallis ($p < 0,05$) con el programa Infostat a un nivel de confianza del 95% (Montgomery, 1991; InfoStat Statistical Software, 2002). Los datos del ensayo en umbráculo se analizaron mediante un ANOVA de una vía, mientras que los datos provenientes del ensayo en campo se analizaron mediante un ANOVA de dos vías. En el caso del ensayo de campo se tomó en cuenta el posible efecto del bloque; pero, como en ninguna variable fue significativo los bloques se trataron como repeticiones. Asimismo, para el ensayo de campo la interacción entre los factores no se mostró de forma explícita en los análisis estadísticos, puesto que uno de los factores tiene más de dos niveles, razón por la cual se consideró que mostrar la interacción solo permite indicar el efecto principal entre el factor y la variable dependiente, pero la interpretación de esta interacción requiere comparar diferencias entre las medias (Garrido, 2008); diferencias que sí se pueden observar con las pruebas post ANOVA realizadas, cuando en caso de haber interacción, se realizó un análisis de una sola vía para los dos factores. En las tablas y figuras en caso de ser significativa la interacción en cada variable dependiente con el factor riego, se puede identificar cuando existen letras diferentes entre los mismos tratamientos para cada nivel de riego; y la interacción en cada variable dependiente con el factor de fertilización, se puede identificar si existen letras diferentes entre los distintos tratamientos para una misma condición de riego (ver capítulos 3, 4, 5, 6, 7).

Finalmente los datos se analizarán de forma global mediante las correlaciones entre las variables más significativas de los distintos capítulos tratados, índices de calidad del suelo, y además se hará un análisis de gráficos de radar con estas variables para determinar el efecto de la biotecnología (RPCV) sobre las propiedades del agroecosistema (Capítulo 7).

Las variables determinadas y su relación con las hipótesis y objetivos planteados se resumen en la Tabla 10.

Estructura de la tesis

En este capítulo se explicaron las razones que motivaron la realización de esta tesis, así como las hipótesis y objetivos planteados, y la metodología general. En cada uno de los siguientes capítulos se desarrollan los objetivos planteados. Para una mejor comprensión del trabajo, se organizaron y estructuraron los siguientes capítulos de acuerdo con tesis anteriores revisadas en el Postgrado de Ecología Tropical-ULA, y estos se estructuraron intencionalmente en: resumen, introducción, materiales y métodos, resultados, discusión, conclusiones, referencias; de manera que cada uno de los capítulos pueda constituirse en un artículo publicable de forma independiente.

Tabla 10. Variables estudiadas en cada etapa del cultivo de cebolla para cada uno de los tratamientos aplicados, y su relación con las hipótesis y objetivos planteados.

Variables	Ensayo en umbráculo (plantas de 60 días en semillero)				Hipótesis	Objetivos	
Morfométricas	Número de hojas, diámetro de la base del pseudotallo, longitud aérea, longitud raíz, peso fresco aéreo, peso fresco raíz, peso seco aéreo, peso seco raíz				I y II	1	
Ecofisiológicas	Curva de saturación de luz				II		
	Ensayo en campo						
	Establecimiento		Desarrollo foliar	Formación de bulbos			Maduración
	T0 Semillero 45 dds	T1 35 ddt		T2 69 ddt			T3 71 ddt
Ambientales	Temperatura, humedad relativa, radiación, contenido de humedad en el suelo, precipitación, evaporación, velocidad del viento				-	2	
Ecofisiológicas	Intercambio gaseoso (A, Gs, E)	Intercambio gaseoso (A, Gs, E)		Intercambio gaseoso (A, Gs, E)	II	3	
	Potencial hídrico	Potencial hídrico		Potencial hídrico Curvas P-V	III	4	
	Variables morfológicas PF y PS hojas y raíces, AF	Variables morfológicas PF y PS hojas y raíces N foliar AF, IAF, TCR, TCA		Variables morfológicas PF y PS hojas, bulbo y raíces N foliar y N en bulbos AF, IAF, TCR, TCA	Rendimiento	I 6 y 2	
Microclimáticas	Temp. aire y foliar, Humedad Relativa	Temp. aire y foliar, Humedad Relativa		Temp. aire y foliar, Humedad Relativa	III	4	
Bioquímicas y microbiológicas				Biomasa microbiana, RB, COT, ureasa, fosfatasa, amonificación de la arginina, mineralización del N, Hidrólisis DAF, índices ecofisiológicos, qMic, qCO ₂ ,	IV	5	
	Correlaciones y análisis gráfico				I, II, III, IV	7	

A: tasa de asimilación de CO₂, Gs: conductancia estomática, E: tasa de transpiración, PF: peso fresco, PS: peso seco, RB: respiración basal, COT: carbono total, AF: área foliar, Curvas P-V: curvas presión-volumen, IAF: índice de área foliar, TCR: tasa de crecimiento relativo, TCA: tasa de crecimiento absoluto.

REFERENCIAS

- Agren, G., Bosatta, E., 1996. Theoretical Ecosystem Ecology. Understanding Element Cycles. Cambridge University Press. 234 p.
- Aguirre, J., Irizar, M., Durán, A., Grajeda, O., Peña, M., Loredó, C., Gutiérrez, A., 2009. Los biofertilizantes microbianos: Alternativa para la agricultura en México. Instituto Nacional de Investigaciones forestales, agrícolas y pecuarias. Centro de investigación regional pacífico sur Campo experimental Rosario Izapa Tuxtla, Chico, Chiapas, México. p.p 11, 13. Consultado en marzo de 2017. Disponible en: <http://www.pifsv.org.mx/Boletines/FolletoBiofert.pdf>.
- Adan, G., Duncan, H., 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range soils. *Soil Biol. Biochem.* 33: 943-951.
- Ai, C., Liang, G., Sun, J., Wang, X., Zhou, W., 2012. Responses of extracellular enzyme activities and microbial community in both the rhizosphere and bulk soil to long-term fertilization practices in a fluvo-aquic soil. *Geoderma* 173-174: 330-338. doi:10.1016/j.geoderma.2011.07.020.
- Alef, K., 1995. Soil respiration. En: *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Alef K. and Nannipieri (eds) P. Academic Press. Harcourt Brace & company, Publishers. p. 214-217.
- Alef, K., Kleiner, D., 1987. Applicability of arginine ammonification as indicator of microbial activity in different soils. *Biol Fertil Soils*. 5:148-151.
- Alexander, M., 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. Second edition. John Wiley and Sons. New York. p.p 442, 447.
- Allen, R., Pereira, L., Raes, D., Smith, M., 2006. Evapotranspiración del cultivo. Guías para la determinación de los requerimientos de agua de los cultivos. Estudio FAO Riego y Drenaje. Documento FAO 56. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. ISBN 92-5-304219-2. Roma. 323 p.
- Altamirano, F.E., 2003. Ecofisiología de las rizobacterias. En: *Microbiología Agrícola: Un aporte a la investigación argentina*. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Argentina. Albanesi, A., Anriquez, A., Luna, S., Kunst, C., Ledesma, R. (eds.). Universidad Nacional de Santiago del Estero. pp. 113-118.
- Anderson, J.P.E., Domsch, K.H., 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol Biochem* 10: 215-222.
- Antoun, H., Prévost, D., 2005. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria in PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Z.A. Siddiqui (ed.). Springer, The Netherlands. pp. 1-39.
- Anzuay, M.S., Ruiz Ciancio, M.G., Ludueña, L.M., Angelini, J.G., Barros, G., Pastor, N., Tauriana, T., 2017. Growth promotion of peanut (*Arachis hypogaea* L.) and maize

- (*Zea mays* L.) plants by single and mixed cultures of efficient phosphate solubilizing bacteria that are tolerant to abiotic stress and pesticides. *Microbiological Research* 199: 98–109.
- Aranguren, A., Andressen, R., Henao, Á., 2012. El clima estacional del cinturón montano en el estado Mérida-Venezuela. *Revista Geográfica Venezolana*, 53(2): 187-212.
- Armado A., Contreras, F., García, P., Paolini, J., 2009. Correlación de actividades enzimáticas con la respiración basal en suelos cacaoteros del occidente venezolano. *Avances en Química*. 4(2): 73-77.
- Aroca, R., Ruiz-Lozano, J.M., 2009. Induction of plant tolerance to semi-arid environments by beneficial soil microorganisms – a review. En: E. Lichtfouse (ed.), *Climate Change, Intercropping, Pest Control and Beneficial Microorganisms, Sustainable Agriculture Reviews 2*. Springer Science+Business Media B.V. Pag. 121-135. DOI 10.1007/978-90-481-2716-0_7.
- Ataroff, M., Sarmiento, L., 2004. Las unidades ecológicas de Los Andes de Venezuela. En: *Reptiles de Los Andes de Venezuela*. La Marca, E., Soriano, P. (eds). Fundación Polar, Codepre-ULA, Fundacite-Mérida, BIOGEOS. Pag. 11-26.
- Azócar, A., Rada, F., 2006. *Ecofisiología de plantas de páramo*. Centro editorial Litorama, C.A. Mérida, Venezuela. 182 p.
- Barrera, J., Suárez, D., Melgarejo, L.M., 2010. Análisis de crecimiento en plantas. En: *Experiments in plant Physiology*. L. M. Melgarejo (ed). Universidad Nacional de Colombia. 25-38 p.
- Barriuso, J., Ramos Solano, B., Lucas, J.A., Probanza Lobo, A., García-Villaraco, A., Gutiérrez Mañero, F.J., 2008. Ecology, Genetic Diversity and Screening Strategies of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). En: *Plant-Bacteria Interactions. Strategies and Techniques to Promote Plant Growth*. Ahmad, I., J. Pichtel y S. Hayat (eds). WILEY-VCH. Germany. pp 1-18.
- Basharat, A., Anjum, N., Shahida, H., 2010. Rhizobacterial potential to alter auxin content and growth of *Vigna radiata* L.. *World J Microbiol Biotechnol*. 26:1379–1384.
- Berthelin J., Leyval C., Laheurte F., De Guidici, P., 1990. Some considerations on the relations between phosphate solubilizing rhizobacteria and effect on seedlings and plants growth related to phosphorus mobilization. *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria-Progress and Prospect*. C keel, B. Koller and Défago (eds) pag 359-364.
- Bhattacharyya, C., Roy, R., Tribedi, P., Ghosh, A., Ghosh, A., 2020. Biofertilizers as substitute to commercial agrochemicals. In: *Agrochemicals detection, treatment and remediation*. M. N. Vara Prasad (ed). Butterworth-Heinemann, pp. 263-290. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-103017-2.00011-8>.

- Blanco, E.L., Marquina, M.E. y Castro, Y. 2013. Respuestas a la aplicación de carbamatos en dos aislados rizobianos provenientes de Mucuchíes, estado Mérida, Venezuela. *Bioagro* 25(2): 117-128. ISSN 1316-3361.
- Blanco, E.L., Reyes, I., 2018. Aplicación de un biosustrato compuesto por microorganismos y roca fosfórica sobre el cultivo de dos variedades de lechuga (*Lactuca sativa* L.) [Application of a biological substrate mixture composed by microorganisms and rock phosphates to two lettuce cultivars (*Lactuca sativa* L.)]. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 35: 408-434.
- Blanco, E.L., Rada, F., Castro, Y., Paolini, J., 2021. Selección de un consorcio microbiano promotor del crecimiento de plántulas de cebolla en condiciones de umbráculo [Selection of a growth promoter microbial consortium in onion seedlings under shade-house conditions]. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 38(2): 301-321.
- Boiero, L., Perrig, D., Masciarelli, O., Penna, C., Cassán, F., Luna, V., 2007. Phytohormone production by three strains of *Bradyrhizobium japonicum* and possible physiological and technological implications. *Appl Microbiol Biotechnol* 74:874–880.
- Bolaños, M., Vasco, A., Mercado, A., Caicedo Corozo, J., Castro Arroyo, S., Morales, D., Castillo Palacios, C., Tezara, W., 2016. Comportamiento agroproductivo de 31 clones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) con la aplicación de un biocontrolador para moniliasis (*Moniliophthora roreri*). *Investigación y Saberes*, 5(1): 39-54.
- Bosh, A., 1999. Bases ecofisiológicas de la producción de la cebolla (*Allium cepa* L.): aportaciones para la mejora de las técnicas de cultivo en el Pla d'Urgell (Lleida). Tesis Doctoral. Universidad de Lleida, España. Disponible en: <http://www.tesisenred.net/handle/10803/8228>. Consultado en marzo de 2016.
- Bravo, S., 2000. Aspectos básicos de química de suelos. Ediciones de la Universidad Ezequiel Zamora. Barinas, Venezuela. pp. 249.
- Brom, S., Pistorio, M., Romero, D., Torres-Tejerizo, G., 2014. Boundaries for Conjugative Transfer of Rhizobial Plasmids: Restraining and Releasing Factors. En: *Plasticity in Plant-Growth-Promoting and Phytopathogenic Bacteria*. Katsy, E.I.(ed) Springer. Rusia. pp. 43-54.
- Caetano – Anollés, G., Lagares, A., Favelukes, G., 1989. Adsorption of *Rhizobium meliloti* to alfalfa roots: Dependence on divalent cations and pH. *Plant and Soil* 117: 67 – 74.
- Carter, M.R., 1986. Microbial biomass as an index for tillage-induced changes in soil biological proprieties. *Soil and Tillage Research*. 7:29-40.
- Casierra, F., Vargas, N., 2015. Fisiología del crecimiento y la nutrición en cebolla de bulbo (*Allium cepa* L. hib. ‘Yellow Granex’) en condiciones tropicales. Editorial UPTC. Tunja, 156 p.

- Casida, L.E. Jr., Klein, D.A., Santoro, T., 1964. Soil dehydrogenase activity. *Soil Sci.* 98: 371-376.
- Castel, J.R., Ferreres, E., 1982. Responses of young almond trees to drought periods in the field. *J. Hort. Sci.* 57: 175-187.
- Castro, Y., Blanco, E.L., 2018. Estimación del contenido de clorofila y nitrógeno en plantas de pimentón inoculadas con bacterias rizosféricas. *Revista Científica UNET* 30 (1), 105-112.
- Chapin, F.S. III, Matson, P., Mooney, H.A., 2002. *Principles of terrestrial ecosystem ecology*. Springer. Nueva York. 435 p.
- Colo, J., Hajnal-Jafari, T. I., Đurić, S., Stamenov, D., Hamidović, S., 2014. Plant Growth Promotion Rhizobacteria in Onion Production. *Polish Journal of Microbiology*. 63(1): 83–88.
- Coyn, M., 2000. *Microbiología del Suelo: un enfoque exploratorio*. Editorial Paraninfo. España. Pag. 12, 140.
- Chelli-Chaaboum, A., 2014. Mechanisms and Adaptation of Plants to Environmental Stress: A case of Woody species. En: *Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment*. Parvaiz Ahmad y Mohd Rafiq Wani. Springer. Pp. 1-18.
- Creus, C.M., Sueldo, R.J., Barassi, C.A., 2004. Water relations and yield in *Azospirillum*-inoculated wheat exposed to drought in the field. *Can. J. Bot.* 82: 273-281. doi: 10.1139/B03-119.
- Dalal, R., Meyer, R., 1987. Long term trends in fertility of soils under continuous cultivation and cereal cropping in southern Queensland. VII. Dynamics of nitrogen mineralization potentials and microbial biomass. *Aust. J. Soil Res.* 25:461- 473.
- Delgado, R., España, M., 2000. Evaluación de la biomasa microbiana por los métodos fumigación-incubación y fumigación-extracción y su relación con la disponibilidad de nitrógeno en suelos de Venezuela. *Agronomía Tropical* 50(4): 537-551.
- Dilly, O., 2005. Microbial energetics in soils. In: *Microorganisms in soils: roles in genesis and functions*. *Soil Biology*, Volume 5 (P. Buscot y A. Varma, eds.). Pp. 123-138. Springer Verlag, Berlin.
- Dilly, O., Winter, K., Lang, A., Munch, J.C., 2001. Energetic eco-physiology of the soil microbiota in two landscapes of southern and northern Germany. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 164: 407-413.
- Dimkpa, C., Weinand, T., Asch, F., 2009. Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant Cell Environ.* 32: 1682-1694. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02028.x.
- Doran, J.W., Sarrantonio, M., Liebig, M.A., 1996. Soil health and sustainability. *Advances in Agronomy*. 56:2-54.

- Escalante, L., Trejo, R., Esquivel, O., Arreola, J.G., Flórez, A., 2008. Comparación de tasas fotosintéticas en algunas plantas cultivadas y malezas. *Revista Chapingo Serie Zonas áridas*. 7: 165-172.
- Estrada-Prado, W., Lescay-Batista, E., Álvarez-Fonseca, A., Maceo-Ramos, Y.C., 2015. Niveles de humedad en el suelo en la producción de bulbos de cebolla. *Agron. Mesoam*. 26(1): 111 -117.
- Etesami, H., Emami, S., Alikhani, H.A., 2017. Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospect – a review. *J. Soil Sci. Plant Nutr*. 17(4): 897-911.
- Fabeiro, C., López, R., 2005. Riego deficitario controlado. Editorial Mundi Prensa. Madrid. Capítulo X. Pp. 410-429.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura), 2020. FAOSTAT. Disponible en <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC> 8. Consultado en abril 2020.
- Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A., Siddique, K.H.M., 2012. Drought Stress in Plants: An Overview. In: *Plant Responses to Drought Stress*. Aroca, R. Springer. Germany. 460 p.
- Ferreira, E., Selles, G., 1997. Manejo del riego en condiciones de restricción hídrica. Ministerio de agricultura. Serie la platina N°67, Santiago de Chile, Chile. 36 p.
- Frioni, L., 1981. Efecto de Atrazina, Linurón y 2-4 D amina sobre algunas propiedades biológicas de un suelo. *Revista Argentina de Microbiología* 13(1).
- Frioni, L., 1999. Procesos microbianos. Editorial de la Fundación universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina. Pp. 15, 59, 62.
- Frioni, L., Sicardi, M., Pereyra, C., 2003. Indicadores biológicos de la calidad del suelo sensibles a diferentes prácticas de manejo. En: *Microbiología Agrícola. Un aporte de la investigación argentina*. Albanesi, A., Anriquez, A., Luna, S., Kunst, C., Ledesma, R. (eds.). Universidad Nacional de Santiago del Estero. Pp. 23-37.
- FUNDASES (Fundación de asesorías para el sector rural)., 2007. Efecto de la bacteria *Azotobacter* sp. sobre el desarrollo vegetativo y rendimiento en la producción de flor en plantas de clavel (*Dianthus* sp.) y pompón (*Dendranthema grandiflora*) En: *Potencial biotecnológico de microorganismos en ecosistemas naturales y agroecosistemas*. Sánchez J. (ed). Universidad Nacional de Colombia. ISBN 958-701-571-1. 433 p.
- Galmarini, C.R., 2011. Manual del cultivo de la cebolla. INTA. Pp. 18-22. Disponible en: http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-4caracteristicas_botanicas_y_fisiologicas.pdf. Consultado en febrero de 2016.

- Garrido, J., 2008. La interacción entre factores en el análisis de varianza: errores de interpretación. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid, España. 240 p.
- Gianfreda, L., 2015. Enzymes of importance to rhizosphere processes. J. Soil Sci. Plant Nutr. 15(5): 1-10.
- Glenn, A.R., Dilworth, M.J., 1994. The life of root nodule bacteria in the acidic underground. FEMS Microbiol. Lett 123: 1 – 10.
- Gómez, G., Corlay, L., 2010. Microbiota edáfica y su importancia en la agricultura. En: Microbiología Agrícola. Ferrera-Cerrato, R. y Alarcón, A. Editorial Trillas. México. Pp. 39-54, 186,187.
- Guía Rural Venezolana, 1989. 22 Ed. Servicio agropecuario INDULAC. Caracas, Venezuela. 304 p.
- Guzmán-Pérez, J.E., 1988. Cultivo del ajo y la cebolla. Espasande S.R.L. Editores. Serie agrícola vegetal N° 9. Caracas, Venezuela. 160 p.
- Haifa-Group, 2016. Disponible en: http://www.haifa-group.com/spanish/files/Articles/Articles_spanish/ Haifa_Cebollas.pdf. Consultado en febrero de 2016.
- Haichar, F.Z., Santaella, C., Heulin, T., Achouak, W., 2014. Root exudates mediated interactions belowground. Soil Biol. Biochem. 77: 69-80.
- Hecht, S., 1999. La evolución del pensamiento agroecológico. En: Agroecología: bases científicas para una agricultura sustentable. Altieri, M. A. (ed). Editorial Nordan-Comunidad. Nueva York. 325 p.
- Hernández, M., Chailloux, M., 2004. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como alternativa a la nutrición mineral del tomate. Cultivos Tropicales 25: 5–16.
- Hozore, E., Alexander, M., 1991. Bacterial characteristics important to rhizosphere competence. Soil Biol. Biochem. 23: 717-723.
- Howard, R., Abotsi, E., Rensburg, J., Howard, S., 2003. Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. African Journal of Biotechnology. 2: 602-619.
- Hunt, R., 1982. Plant growth curves. Editorial Eduard Arnold. Londres. 227 p.
- IFA (International Fertilizer Association), 1992. World fertilizer use manual. Consultado en marzo de 2021. Disponible en: https://www.fertilizer.org/images/Library_Downloads/1992_ifa_world_fertilizer_use_manual.pdf.
- Ikeda, K., Toyota, K., Kimura, M., 1998. Effects of bacterial colonization of tomato roots on subsequent colonization by *Pseudomonas fluorescens* MelRC2Rif. Can. J. Microbiol. 44: 630-636.

- InfoStat Statistical Software, 2002. InfoStat/Profesional Versión 2.0. Estadística y Diseño F.C.A., Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Insam, H., Haselwandter, K., 1989. Metabolic quotient of the soil microflora in relation to plant succession. *Oecología*. 79: 174-178.
- Insam, H., 1990. Are the soil microbial biomass and basal respiration governed by the climatic regime? *Soil Biol. Biochem.* 22: 525-532.
- Jacobsen, C. S., 1997. Plant protection and rhizosphere colonization of barley by seed inoculated herbicide degrading *Burkholderia* (*Pseudomonas*) cepacia DBO1(pRO101) in 2,4-D contaminated soil. *Plant Soil* 189:139–144.
- Jaimez, R.E., Rada, F., 2015. Gas exchange, growth, flowering and fruit production in sweet pepper (*Capsicum chinense* Jacq) along a thermal gradient determined by altitudinal differences in a tropical region. *Exp. Agric.* Pp. 1–15. doi:10.1017/S0014479715000071.
- Jaimez, R.E., Rada, F., García-Núñez, C., Azócar, A., 2005. Seasonal variations in leaf gas exchange of plantain cv. Hartón (*Musa AAB*) under different soil water conditions in a humid tropical region. *Sci. Hortic.* 104: 79-89.
- Jaurixje, M., Torres, D., Mendoza, B., Henríquez, M., Contreras, J., 2013. Propiedades físicas y químicas del suelo y su relación con la actividad biológica bajo diferentes manejos en la zona de Quíbor, estado Lara. *Bioagro* 25(1): 47-56.
- Jayathilake, P.K.S., Reddy, I.P., Srihari, D., Reddy, K.R., Neeraja, G., 2003. Integrated nutrient management in onion (*Allium cepa* L.). *Tropical Agricultural Research* 15: 1-9.
- Jenkinson, D.S., Ladd, J.N., 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. En: *Soil Biochemistry*. Paul, E.A., Ladd, J.N. (eds). Marcel Dekker. Nueva York: Pp. 415-471.
- Joergensen, R.G., 1996. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the k_{EC} value. *Soil Biol. Biochem.* 28(I): 25-31.
- Kandeler E., Gerber, H., 1988. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol. Fertil. Soils* 6: 68-72.
- Karlen, D.L., Gardner, J.C., Rosek, M.J., 1998. Soil quality framework for evaluating the impact of CRP (Conservation Reserve Program). *Journal of Production Agriculture*. 11(1):5 6-60.
- Kumar, S., Imtiyaz, M., Kumar, A., Singh, R., 2007. Response of onion (*Allium cepa* L.) to different levels of irrigation water. *Agricult. Water Manag.* 89: 161-166. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2007.01.003>.
- Kutty, M.S., Gowda, R.V., Rao, N.K.S., 2014. Genotypic variability for physiological, biochemical and morphological responses to drought stress in onion (*Allium cepa* L.). *Trop. Agric. (Trinidad)* 91(4): 202-219.
- Lambers, H., Oliveira, R.S., 2019. *Plant Physiological Ecology*. Third Edition. Springer.

- New York, USA. 736 p.
- Lenz, T.I., Wright, I.J., Westoby, M., 2006. Interrelations among pressure–volume curve traits across species and water availability gradients. *Physiol. Plant.* 127: 423–433.
- Leong, J., 1986. Siderophores: Their biochemistry, and possible role in the biocontrol of Plant pathogens. *Ann. Rev. Phytopathol.* 24:187-209.
- Leaungvutiviroj, Ch., Ruangphisarn, P., Hansanimitkul, P., Shinkawa, H., Sasaki, K., 2010. Development of a new biofertilizer with a high capacity for N₂ fixation, phosphate and potassium solubilization and auxin production. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74(5): 1098-1101.
- Lin, Q., Brookes, P.C., 1999. Arginine ammonification as a method to estimate soil microbial biomass and microbial community structure. *Soil Biol. Biochem.* 31: 1985-1997.
- Llambí, L.D., Sarmiento, L., 1998. Biomasa microbiana y otros parámetros edáficos en una sucesión secundaria de los páramos venezolanos. *Ecotrópicos*, 11(1): 1-14.
- López-Torres, M., 2006. Horticultura. 2da Ed. Editorial Trillas. México. Pp. 111-112.
- Lupwayi, N.Z., Arshad, M.A., Rice, W.A., Clayton, G.W., 2001. Bacterial diversity in water-stable aggregates of soils under conventional and zero-tillage management. *Applied Soil Ecology.* 16(3): 251-261.
- Machado, D., 2005. Un enfoque agroecosistémico para el manejo eficiente del suministro de nitrógeno en el cultivo de papa en los Andes venezolanos. Tesis Doctoral. Postgrado en Ecología Tropical. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 257 p.
- Malagón, D., 1979. Mineralogía, Micro morfología y bienes de los principales suelos en la topo secuencia (T1-T4) Rio Chama – San Juan de Lagunillas. Estado Mérida RD-25. CIDIAT-Mérida.
- Manoharachary, C., Mukerji, K.G., 2006. Rhizosphere biology – an overview. In: *Soil Biology, Microbial activity in the rhizosphere.* Mukerji, K.G., Manoharachary, C., Singh J. (eds.). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. 15 p.
- Maroto, J.V., 2000. Horticultura herbácea especial. 4ta ed. Ediciones Mundi – Prensa. España. p.p. 215, 221, 234, 235.
- Meena, V.S., Maurya, B.R., Verma, J.P., 2014. Does a rhizospheric microorganism enhance K⁺ availability in agricultural soils?. *Microbiological Research* 169: 337-347. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.003>
- Mitchell, D., Jeri, E., Chalmers, J., 1984. The effects of regulated water deficits on pear tree growth, flowering, fruit growth, and yield. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 109(5): 604-606.
- Mitra, D., Anđelković, S., Panneerselvam, P., Senapati, A., Vasić, T., Ganeshamurthy, A.N., Chauhan, M., Uniyal, N., Mahakur, B., Radha, T.K., 2020. Phosphate-solubilizing microbes and biocontrol agent for plant nutrition and protection: current

- perspective. Commun Soil Sci Plant Anal. 13 p.
<https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1729379>.
- Mohr, H., Schopfer, P., 1995. Plant Physiology. Springer. Berlin. 603 p.
- Montgomery, D., 1991. Diseño y análisis de experimentos. Editorial Iberoamericana. 541 p.
- Monzón de Asconegui, M., 2003. *Azospirillum* y su interacción con las plantas. En: Microbiología Agrícola. Un aporte de la investigación argentina. Albanesi, A., Anriquez, A., Luna, S., Kunst, C., Ledesma, R. (eds.). Universidad Nacional de Santiago del Estero. Pp. 131.
- Moreno, N., 2007. Producción de biofertilizantes y biocontroladores para una agricultura sostenible. En: Potencial biotecnológico de microorganismos en ecosistemas naturales y agroecosistemas. Sánchez, J. (Ed.). Universidad Nacional de Colombia. 433 p.
- Moronta-Barrios, F., Gionechetti, F., Pallavicini, A., Marys, E., Venturi, V., 2018. Bacterial microbiota of rice roots: 16S-based taxonomic profiling of endophytic and rhizospheric diversity, endophytes isolation and simplified endophytic community. Microorganisms 6(14). doi:10.3390/microorganisms6010014.
- MPPAT (Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras), 2017. Disponible en: <http://censo.agriculturaproductiva.gob.ve/>. Consultado el enero de 2017.
- Munns, D.N., 1970. Nodulation of *Medicago sativa* in solution culture: V. Calcium and pH requirements during infection. Plant and Soil 32: 90-102.
- Nava-Sánchez, R., Almaguer-Vargas, G., Pérez-Grajales, M., Maldonado-Torres, R., Cárdenas-Soriano, E., 2004. Fertilización foliar en cebolla. Revista Chapingo Serie Horticultura 10(2): 159-163.
- Navarro, G., 2003. Química agrícola. Ediciones Mundi-Prensa. 2da ed. Madrid, España. 487 p.
- Ochoa-Carreño, D.C., Montoya-Restrepo, A., 2010. Consorcios microbianos: una metáfora biológica aplicada a la asociatividad empresarial en cadenas productivas agropecuarias. Revista de la Facultad de Ciencias Económicas de la Universidad Militar Nueva Granada. Rev.Fac.Cienc.Econ, 17(2): N56-M29.
- Ochoa, G., Malagón, D., Palacios, E., Oballos, J., 2010. Caracterización morfológica, química y mineralógica de suelos de la región andina venezolana. Revista Geográfica Venezolana, 51(1): 31-44.
- Odum, E. P., 1969. The strategy of ecosystem development. Science 164: 262-270.
- Olmedo, C., 2003. Aspectos biotecnológicos de las interacciones microorganismos planta. En: Microbiología Agrícola. Un aporte de la investigación argentina. Albanesi, A., Anriquez, A., Luna, S., Kunst, C., Ledesma, R. (eds.). Universidad Nacional de Santiago del Estero. Pp. 97-103.
- Osman, K.T., 2014. Chapter 1. Soil Resources and Soil Degradation. En: Degradation, Conservation and Remediation. Springer. 248 p.

- Paolini, J., 2011. Métodos de análisis de suelos, aguas y plantas. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Centro de Ecología. Laboratorio de Ecología de Suelos. Miranda, Venezuela.
- Paolini, J. 2018. Actividad microbiológica y biomasa microbiana en suelos cafetaleros de los andes venezolanos. *Terra Latinoamericana* 36:13-22.
- Paredes-Mendoza, M., Espinosa-Victoria, D., 2010. Ácidos orgánicos producidos por rizobacterias que solubilizan fosfato: una revisión crítica. *Terra Latinoamericana* 28: 61-70.
- Peña, H., Reyes, I., 2007. Aislamiento y evaluación de bacterias fijadoras de nitrógeno y disolventes de fosfatos en la promoción del crecimiento de la lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Interciencia* 32(8):560-565.
- Pérez, A.T., 2007. Manejo del agua en el cultivo del ají (*Capsicum chinense* Jacq.) bajo riego localizado a través de tensiómetro y tina de evaporación. Trabajo de grado para optar al título de *Magíster Scientiae* en Desarrollo de los Recursos Agua y Tierras, mención: Ingeniería de Riego y Drenaje. Centro Interamericano de Desarrollo e Investigación Ambiental y Territorial. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 105 p.
- Pieterse, C.M.J., Van Loon, L.C., 1999. Salicylic acid-independent plant defence pathways. *Trends Plant Sci.* 4:52-58.
- Piotrowska-Dlugosz, A., 2014. Enzymes and soil fertility. In: Gianfreda L. y M.A. Rao. (Eds.) *Enzymes in Agricultural Sciences*. OMICS Group eBooks. USA. Pp. 44-79.
- Rada, F., Jaimez, R.E., García-Núñez, C., Azócar, A., Ramírez, M.E., 2005. Relaciones hídricas e intercambio de gases en *Theobroma cacao* var. Guasare bajo períodos de déficit hídrico. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 22: 112-120.
- Rao, M.A., Scelza, R., Gianfreda, L., 2014. Soil enzymes. In: *Enzymes in Agricultural Sciences*. Gianfreda L., Rao, M.A. (eds). OMICS Group eBooks. USA. Pp. 10.
- Rázuri-Ramírez, L., Romero, E., Galindo-Rodríguez, A. Hernández, J. D., Rosales, J. D., Linares, J., 2005. Efecto de la densidad de siembra sobre el rendimiento de la cebolla, variedad americana, con riego por goteo, en el Valle de Quibor. *Agricultura andina* 10 (extraordinario): 9-22.
- Reyes, I., Bernier, L., Simard, R., Tanguay, P., Antoun, H., 1999. Characteristics of phosphate solubilization by an isolate of a tropical *Penicillium rugulosum* and two UV-induced mutants. *FEMS Microbiology Ecology* 28: 291-295.
- Reyes, I., Álvarez, L., El-Ayoubi, H., Valery, A., 2008. Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimentón y maíz. *Bioagro* 20(1):37-48.
- Reyes, I., Valery, A., 2007. Efecto de la fertilidad del suelo sobre la microbiota y la promoción del crecimiento del maíz (*Zea mays* L.) con *Azotobacter* spp. *Bioagro* 19(3): 117-126.

- Richardson, A., Simpson, R., 2011. Soil microorganisms mediating phosphorus availability. *Plant Physiology* 156(1): 989-996.
- Rivera-Cruz, M., González-Mancilla, A., Almaraz-Suárez, J.J., Ortiz-García, C.F., Trujillo-Narcía, A., Vázquez-López, P., Cruz-Navarro, G., 2020. Crecimiento de Citrange troyer y atributos químicos-microbiológicos del suelo en respuesta a diferentes fertilizantes orgánicos. *TERRA Latinoamericana* 38(3): 519-528.
- Rodríguez, R., 2010. Efecto del riego deficitario controlado en el cultivo de pimentón (*Capsicum annuum* L.) bajo riego localizado en la localidad de San Juan de Lagunillas, Mérida, estado Mérida. Trabajo de grado para optar al título de *Magíster Scientiae* en Desarrollo de los Recursos Agua y Tierras, mención: Ingeniería de Riego y Drenaje. Centro Interamericano de Desarrollo e Investigación Ambiental y Territorial. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 215 p.
- Rodríguez, N., Coronado, H., Torres, D., Zamora, F., 2009. Cambios en la biomasa microbiana, respiración basal y germinación de cebolla (*Allium cepa* L.) luego de la aplicación de los herbicidas Oxifluorfen, Fluaxifop y Pendimetalin en un entisol del estado Falcón. *Revista UDO Agrícola* 9(3): 579-589.
- Rodríguez, H., Fraga, R., González, T., Bashan, Y., 2006. Genetics of phosphate solubilization and its potencial applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and Soil* 287: 15-21.
- Romero, G., 2007. Efecto del riego deficitario controlado en el cultivo de tomate (*Lycopersicum esculentum* Miller) bajo riego localizado en condiciones de San Juan de Lagunillas, estado Mérida. Trabajo de grado para optar al título de *Magíster Scientiae* en Desarrollo de los Recursos Agua y Tierras, mención: Ingeniería de Riego y Drenaje. Centro Interamericano de Desarrollo e Investigación Ambiental y Territorial. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 400 p.
- Rosas, S., Correa, N., 2003. Microorganismos que promueven el crecimiento y desarrollo vegetal (PGPR's). En: *Microbiología Agrícola. Un aporte de la investigación argentina*. Albanesi, A., Anriquez, A., Luna, S., Kunst, C., Ledesma, R. (eds.). Universidad Nacional de Santiago del Estero. Pp. 83, 84, 86.
- Rosenberg, W., Nierop, K., Knicker, H., Jager, P., Kreutzer, K., Weib, T., 2003. Liming effects on the chemical composition of the organic surface layer of a mature Norway spruce stand (*Picea abies* [L.] Karst.). *Soil Biology and Biochemistry*. 35(1): 155-165.
- Ruiz, M., Paolini, J., 2004. El cultivo y el agua de riego sobre el carbono de la biomasa microbiana. *Agronomía Trop.* 54(2): 161-178.

- Salmerón, V., Martínez-Toledo, M.V., González-López, J., 1991. Effects of alachlor and metolachlor on the biological activity of *Azospirillum brasilense* grown in chemically defined and dialyzed-soil media. *Toxicol. Environment. Chem.* 42:241-247.
- Sanaullah, M., Blagodatskaya, E., Chabbi, A., Rumpel, C., Kuzyakov, Y., 2011. Drought effects on microbial biomass and enzyme activities in the rhizosphere of grasses depend on plant community composition. *Appl. Soil Ecol.* 48, 38-44.
- Sánchez, E., Serrano, E., 1994. Manual de Producción de Cebolla en las Tierras Altas de Chiriquí. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá.
- Sánchez, B., Torrecillas, A., 1995. Aspectos relacionados con la utilización de estrategias de riego deficitario controlado en cultivos leñosos. En: *Riego deficitario controlado*. Zapata, M., Segura, M. (eds). Editorial Mundi Prensa. Madrid. 43-63 p.
- Schulze, E.D., 1986. Carbon dioxide and water vapor exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 37: 247-274.
- Schulze, E.D., Beck, E., Buchmann, N., Clemens, S., Müller-Hohenstein, K., Scherer-Lorenzen, M. 2019. *Plant Ecology*. Springer. Alemania. 926 p.
- Singh, V., Lal, M., Kumar, S., Biswas, S.K., 2014. Potential and use of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) in organic crop production. In: *Organic farming and management of biotic stresses*, Biswas, S.K., and Pal, S. (eds). Biotech books, New Delhi, pp. 270-281.
- Shaharoon, B., Naveed, M., Arshad, M., Zahir, Z.A., et al., 2008. Fertilizer-dependent efficiency of pseudomonads for improving growth, yield, and nutrient use efficiency of wheat (*Triticum aestivum* L). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 79, 147–155.
- Smith, G., Tubbing, D.M.J., Jijne, J.W., Lugtenberg, B.J.J., 1991. Role of Ca^{2+} in the activity of ricadhesin from *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*, which mediates the first step in attachment of Rhizobiaceae cells to plant root hair tips. *Arch. Microbiol.* 155: 278 – 283.
- Smith, J., Paul, E., 1990. The significance of soil microbial biomass estimations. In: *Soil Biochemistry*. Vol. 6. J. Bollag and G. Stotzky (Eds.). Marcel Dekker, New York. pp. 357 – 396.
- Song, F., Han, X., Zhu, X., Herbert, S.J., 2012. Response to water stress of soil enzymes and root exudates from drought and non-drought tolerant corn hybrids at different growth stages. *Can. J. Soil Sci.* 92, 501-507.
- Sparling, G.P., 1992. Ratio between microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of change in soil organic matter. *Aus. J. Soil res.* 30: 195-207.
- Solaiman, Z., 2007. Measurement of Microbial Biomass and Activity in Soil. En: *Soil Biology Volume 11. Advanced Techniques in Soil Microbiology*. Varma, A. Oelmüller, R. (eds) Springer-Verlag Berlin Heidelberg. P.p 201-211.
- Statistical Graphics Corporation, 2002. Statgraphics Plus Versión 5.1.

- Sulbarán, J., Barrios, R., López, M., Ferrer, J., 2011. Evaluación de biofertilizantes bacterianos conjuntamente con agricultores en el cultivo de cebolla (*Allium cepa*). Memorias del Congreso Venezolano de la Ciencia del Suelo. Disponible en: <http://www.sian.inia.gob.ve/repositorio/congresos/CVCS19/ums.htm>. Consultado en febrero de 2016.
- Tabatabai, M.A., 1995. Soil enzymes. In: Microbiological and biochemical properties. Weaver, R.W., Angle, S., Bottomley, P., Bezdicsek, D., Smith, S., Tabatabai, A., Wollum, A. (eds). Soil Science Society of America. Pp. 775-883.
- Tabatabai, M.A., Bremner, J.M., 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. Soil biology and biochemistry, 1(4), 301-307.
- Taiwo, L.B., Oyedele, A.O., Ailenokhuoria, B.V., Okareh, O.T., 2019. Plant-Microbes Relationships in soil ecological system and benefits accruable to food health. In: Maheshwari, D.K., Dheeman, S. (eds.), Field Crops: Sustainable Management by PGPR. Sustainable Development and Biodiversity 23. Springer, Cham. Pp. 177-190.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2010. Plant Physiology. 5th ed. Sinauer Associates Inc. USA. 755 p.
- Tanimoto, E., 2005. Regulation of root growth by plant hormones: Roles for auxin and gibberellin. Crit. Rev. Plant Sci. 24: 249–265.
- Thuar, A., 2003. Rizobacterias y promoción del crecimiento en cultivos de maíz y trigo. En: Microbiología Agrícola. Un aporte de la investigación argentina. Albanesi, A., Anriquez, A., Luna, S., Kunst, C., Ledesma, R. (eds.). Universidad Nacional de Santiago del Estero. Pp. 107.
- Torella, J.L., Garuzzo, R., Faita, E.C., 2007. Efecto del encalado sobre las propiedades químicas del suelo y la germinación del trébol rojo (*Trifolium pratense*). Informaciones agronómicas 36(4): 13-16.
- Urbina, C., Herrera, Y., Suárez, Y., 2015. Sequía climatológica en Lagunillas estado Mérida. Ministerio del Poder Popular para Ecosocialismo y Aguas. Caracas, Venezuela. 37 p.
- USDA (United States Department of Agriculture), 2020. https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/survey/class/maps/?cid=nrcs142p2_053594 (consulta del 17/06/2020).
- Valery, A., Reyes, I., 2013. Evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento bajo diferentes esquemas de fertilización en el cultivo de maíz variedad HIMECA-95. Revista Colombiana de Biotecnología 15(2): 81-88.
- Vallejo, F., Estrada E., 2004. Producción de hortalizas de clima cálido. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. Colombia. 345 p. Disponible en: <https://books.google.co.ve/books?id=UpyfvNokkroC&pg=PA143&dq=el+cultivo+de+la+cebolla&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi->

- 0qWX4MLRAhUnDcAKHRnaA94Q6AEIJjAD#v=onpage&q=el%20cultivo%20de%20la%20cebolla&f=false. Consultado en enero de 2017.
- Van Bruggen, A.H.C., Semenov, A.M., 2000. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. *Applied Soil Ecology*. 15: 13-24.
- Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.* 19(6): 703-707.
- Vessey, J., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255: 571-586.
- Viloria, A., Arteaga, L., Díaz, L., Delgado, D., 2003. Efecto de la Fertilización con N-P-K y la Distancia de Siembra en el Rendimiento de la Cebolla (*Allium cepa* L.). *Bioagro* 15(2):129-133.
- Wang, J., Li, R., Zhang, H., Wei, G., Li, Z., 2020. Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application. *BMC Microbiology* 20:38. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-1708-z>.
- Watkins, J.M., Hechler, P.J., Muday, G.K., 2014. Ethylene-induced flavonol accumulation in guard cells suppresses reactive oxygen species and moderates stomatal aperture. *Plant Physiol.* 164: 1707-1717.
- Witter, E., 1996. Soil C balance in a long-term field experiment in relation to the size of the microbial biomass. *Biol.Fertil. Soils*. 23: 33 – 37.
- Yang, J., Kloepper, J.W., Ryu, Ch.M., 2009. Trends in Plant Science. 14(1): 1- 4.
- Yadav, B.K., Akhtar, M.S., Panwar, J., 2015. Rhizospheric plant-microbe interactions: key factors to soil fertility and plant nutrition. In: Arora, N.K. (ed.), *Plant microbes symbiosis: Applied facets*. Springer India. Pp. 127-145. DOI 10.1007/978-81-322-2068-8_6,
- Zak, J., Willing, M., Moorhead, D., Wildman, H., 1994. Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach. *Soil Biology and Biochemistry*. 26: 1101-1108.

ANEXOS

Perfil Nº	Ubicación y altitud	Material parental	Geomorfología	Vegetación	P mm	T °C	Clima (Köppen) y zona de vida (Holdridge)	Clasificación
3	San Juan de Lagunillas. Mérida 1050msnm	Sedimentos cuaternarios aluvio- coluviales	Cono terraza Q ₂ Pendientes entre 2 y 4%	Cactáceas y Prosopis juliflora	502	24	BSwh. Bosque seco premontano	Typic Haplocambids, franco fino, micáceo, isohipertérmico

Perfil	Horizonte	Prof.	Color	Estructura	Arena	Limo	Arilla	pH	CO	NT	Ca	Mg	Na	K	ClC	ClCE	AI	SB	SAI
Nº		(cm)			(%)			H ₂ O (1:1)	(g kg ⁻¹)		(cmol kg ⁻¹)							(%)	
3	Ap	0-13	5YR3/3	bsa-m-mff	65,9	19,3	14,7	7,9	7		7,46	4,50	0,23	1,47	9,52	0	0	100	0
	Bw	13-21	5YR3/3	bsa-m-mff	63,7	19,3	17,05	7,6	4,2		8,1	4,53	0,33	0,55	9,53	0	0	100	0
	2C	21-95	5YR4/3	ba-m-fmd	64,25	20,9	14,85	6,8	2,4		7,90	2,47	0,40	0,40	8,23	0	0	100	0

Anexo 1. Perfil, condiciones de formación, clasificación, propiedades físicas y químicas del suelo de San Juan de Lagunillas. Fuente: Malagón, 1979; Ochoa et al., 2010.



UNIVERSIDAD NACIONAL EXPERIMENTAL DEL TÁCHIRA
DECANATO DE EXTENSIÓN
COORDINACIÓN DE EXTENSIÓN AGRARIA
LABORATORIO BIOAMBIENTAL UNET



Código:	SF16350	Finca:	Estación Experimental IIAP Parroquia:	S/I	
Fecha:	07/11/2016	Propietario:	Lorena Blanco	Municipio:	S/I
Estado:	Merida	Localidad:	San Juan de Lagunillas	Identificación:	IIAP-ULA San Juan L

RESULTADOS DE ANALISIS DE SUELOS

	Arcilla	Limo	M. Org	Fósforo	Potasio	Calcio	Magnesio	pH	Con Ele	Rel Ca/Mg
Unidades	%	%	%	ppm	ppm	ppm	ppm		mmho/cm	Eq/Eq
	18	24	3,61	30	nd	2060	1872	6,04	0,14	0,66
Interpret			Alto	Alto	Bajo	Alto	Alto		Bajo	OK
Textura:	Franco arenoso (Textura gruesa)									
nd:	no determinado									


Ing. Alexander Barbosa
Jefe de Laboratorio

Métodos de análisis:

Textura: Bouyucos.

Materia Orgánica: Wakley y Black

Fósforo: Bray I

Calcio, Magnesio: Acetato de Amonio.

Lectura Absorción Atómica.

Conductividad Eléctrica: Conductímetro (1:5)

Fósforo: Lectura Colorimetría azul

de molibdeno.Spectronic. 20

pH: peachimetro (1:2)

Dirección: Av. Universidad. Sector Paramillo anexo a los Bomberos. Teléfonos: 0276-3406570 Ext. 570. San Cristóbal. Edo. Táchira.

www.bdigital.ula.ve

Anexo 2. Análisis físico-químico del suelo de la parcela experimental.

Nota: en este análisis no se reportó el contenido de K, pero posteriormente el responsable del laboratorio indicó el valor correspondiente para esta muestra de suelo (568 mg kg⁻¹).



UNIVERSIDAD NACIONAL EXPERIMENTAL DEL TACHIRA
VICERRECTORADO ACADEMICO
DECANATO DE EXTENSION
COORDINACIÓN DE EXTENSIÓN AGRARIA
LABORATORIO BIOAMBIENTAL UNET



CLIENTE: Lorena Blanco MUNICIPIO: Sucre

LOCALIDAD: San Juan de Lagunillas PARROQUIA: S/I

EMPRESA: IIAP- San Juan ESTADO: Mérida

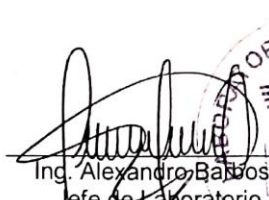
FECHA DE RECEPCION: 20-06 -2017 FECHA DE ENTREGA: 04-07-2017

FORMATO: RAFQA

RESULTADOS DE ANÁLISIS DE RIEGO DE AGUAS

CÓDIGO:	Unidades	ARC17 003	Rango	Método de análisis
IDENTIFICACIÓN:		San Juan- Mérida		
PH		7.0	6-8.5	Peachimetro
C.E	mmhos/cm	0.28	0-3	Conductimetro
Bicarbonatos	meq/L	1.24	0-10	Titulación
Sulfatos	meq/L	0.14	0-20	Spectronic 20 BaCl2
Calcio	meq/L	0.87	0-20	Absorción Atómica
Magnesio	meq/L	0.43	0-5	Absorción Atómica
Potasio	meq/L	Trazas	0-0.2	Absorción Atómica
Sodio	meq/L	0.09	0-40	Absorción Atómica
Cloruros	meq/L	Trazas	0-30	Titulación con AgN03
RAS	meq/L (1/2)	1.40	0-15	*****

- Fuente de Interpretación: Manual de asistencia técnica No. 47. El análisis de Suelos, Plantas y Aguas para Riego del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) Año: 1.989
- Interpretación: Los Parámetros analizados en la muestra cumple con la norma.


Inc. Alexander Barbosa
Jefe de Laboratorio

Dirección: Av. Universidad. Sector Paramillo al lado de la Estación de Bomberos. Teléfonos:
0276-3406570 Ext.570 San Cristóbal – Estado Táchira, Venezuela

Anexo 3. Análisis del agua de riego de la parcela experimental.

CAPÍTULO 2

Selección de un consorcio microbiano promotor del crecimiento de plántulas de cebolla en condiciones de umbráculo

RESUMEN

La práctica de producir plántulas más vigorosas representa una ventaja competitiva al momento del trasplante de un cultivo, y el uso de biofertilizantes combinados son una alternativa ecológica sustentable. El objetivo de esta investigación fue seleccionar un consorcio microbiano para la producción de cebolla híbrido F1 2000 en semilleros bajo condiciones de umbráculo. Para ello se utilizaron cinco cepas rizobacterianas de los géneros *Rhizobium* (cepa ME01), *Bradyrhizobium* (cepas Leu2A y YE1), *Ochrobactrum* (cepa ES1) y *Pseudomonas* (cepa Alf), que han mostrado efectos benéficos sobre plántulas de pimentón y lechuga. Estas rizobacterias se inocularon de forma mixta (consorcio microbiano) en cebolla así: Alf+ES1, ME01+ES1, ES1+Leu2A, Alf+Leu2A, YE1+ES1, ME01+Alf, YE1+Alf, ME01+YE1, YE1+Leu2A, ME01+Leu2A, utilizando un suelo proveniente de San Juan de Lagunillas-Mérida, Venezuela en condiciones de umbráculo durante 60 días. Se determinaron las variables: número de hojas, diámetro de la base del pseudotallo, longitud aérea y de la raíz, peso fresco y seco aéreo y de la raíz. Adicionalmente, a las plántulas del consorcio seleccionado, se les realizó una curva de asimilación de CO₂ con diferentes niveles de luz para observar su respuesta fotosintética. El consorcio ME01 + Leu2A (*Rhizobium tropici* + *Bradyrhizobium japonicum*) fue el que incrementó todas las variables determinadas, especialmente el diámetro de la base del pseudotallo, determinante para el cultivo de cebolla, y produjo una mayor tasa de asimilación de CO₂ en las plántulas. Se propone el uso de este consorcio microbiano como una opción para la producción agrícola en condiciones de semillero.

Palabras clave: *Allium cepa*, biofertilizantes, rizobios, tasa de asimilación de CO₂.

INTRODUCCIÓN

Los vegetales requieren un cuidado especial durante su crecimiento inicial, bien sea para formar plántulas más vigorosas y tener más éxito durante el trasplante o para estar protegidas contra agentes fitopatógenos. Estos efectos benéficos sobre el crecimiento vegetal pueden ser producidos por la aplicación de microorganismos promotores del crecimiento vegetal (MPCV) que han mostrado ventajas sobre la germinación y el desarrollo de distintos semilleros (tomate, ají, lechuga, pimentón) bien sea de forma individual o en consorcio, gracias a sus variados mecanismos de acción biológica (Jayashree y Jagadeesh, 2017; Blanco et al., 2018; Alcedo y Reyes, 2018).

Un consorcio microbiano desde el punto de vista de la co-inoculación es una asociación de dos o más poblaciones microbianas, de diferentes géneros y especies, que interactúan sinérgicamente como una comunidad en un sistema complejo, donde todos se benefician de las actividades de los demás, mediante estilos de vida sinérgicos en el que el crecimiento y

el flujo cíclico de nutrientes se conduce más efectiva y eficientemente que en poblaciones individuales (Olmedo, 2003; Ochoa-Carreño y Montoya-Restrepo, 2010; Gangaraddi y Brahmaprakash, 2018). Los consorcios microbianos pueden resistir mejor los periodos de limitación de nutrientes debido a la diversidad metabólica disponible por la diversidad de especies, combinada con la habilidad de compartir metabolitos dentro de la comunidad. Una condición de limitación de nutrientes puede favorecer a una población minoritaria si esta tiene la habilidad metabólica capaz de sostener la supervivencia de todo el consorcio, o ante variadas condiciones de fertilidad del suelo, puede incentivarse la acción de un grupo funcional microbiano (Reyes y Valery, 2007). Esto también dependerá del éxito del *quorum sensing* (también llamado autoinducción), el cual se conoce como un mecanismo bacteriano de comunicación célula-célula en respuesta al tamaño de la población bacteriana para regular la expresión genética con el objetivo de producir algunos polisacáridos extracelulares, enzimas degradativas, antibióticos, sideróforos, formación de biopelículas, lo que muestra la importancia del *quorum sensing* en comunidades bacterianas asociadas a plantas (Antoun y Prévost, 2005; Brom et al., 2014; Yashaswini y Vijay Kumar, 2016).

Estudios recientes promueven el uso de consorcios con bacterias de distintos géneros como *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bacillus*, *Sphingomonas*, *Enterobacter*, *Agrobacterium*, *Paenibacillus*, para la promoción del crecimiento de trigo (Wang et al., 2020), y el uso de consorcios formados por *Rhizobium*, *Enterobacter cloacae* y *Pseudomonas* sp. para la promoción del crecimiento de haba bajo condiciones de estrés oxidativo (Fatnassi et al., 2015).

La cebolla es un cultivo de alto valor económico actualmente en Venezuela debido a la carencia de semillas certificadas, y altos costos de fertilizantes químicos y agrotóxicos. Su cultivo se realiza normalmente en suelos de textura media (franco arenosos), con buen drenaje y ricos en materia orgánica para favorecer el desarrollo de las raíces y de los bulbos (Enciso et al., 2019). En el estado Mérida este cultivo posee una superficie cosechada de 491,39 ha para este rubro, lo cual ubica a la región andina como una localidad importante para la siembra de cebolla en el país, con zonas semiáridas que propician las condiciones climáticas favorables para su cultivo (MPPAT, 2017).

El objetivo de esta investigación fue seleccionar un consorcio microbiano promotor del crecimiento vegetal de microorganismos autóctonos del estado Mérida, para el crecimiento de plántulas de cebolla en condiciones de umbráculo, utilizando un suelo proveniente de una zona semiárida, con miras a incrementar la producción regional y nacional, así como disminuir las dosis de fertilizantes químicos en campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se utilizaron cinco cepas rizobacterianas autóctonas del estado Mérida, pertenecientes al Laboratorio de Fitobiotecnología-ULA, que de forma individual mostraron potencial

biofertilizante sobre plántulas de pimentón y lechuga (Blanco et al., 2018). Las cepas usadas fueron ME01 (*Rhizobium tropici*) (Marquina et al., 2011), Leu2A (*Bradyrhizobium japonicum*), YE1 (*Bradyrhizobium* spp.), ES1 (*Ochrobactrum* spp.) y Alf (*Pseudomonas fluorescens*) (Blanco et al., 2018), además caracterizadas como productoras de ácido indol acético, sideróforos, ácido cianhídrico, disolventes de fósforo, y antagónicas contra los fitopatógenos *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides* (Blanco y Castro, 2021).

Se utilizó cebolla certificada híbrido F1 2000 (compañía Hazera Genetics), una cebolla amarilla de día corto que ha mostrado cierta tolerancia al bajo contenido de humedad en el suelo (Estrada-Prado et al., 2015).

Suelo

Se usó un suelo proveniente de la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP) de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la ULA, ubicada en San Juan de Lagunillas-Mérida, municipio Sucre, estado Mérida, por tratarse de una zona semiárida con suelos favorables para el cultivo de cebolla. La altitud del lugar se encuentra entre 1050 a 1100 msnm, y su ubicación geográfica corresponde a los 8° 31' N y 71° 22' W. Se tomó una muestra compuesta del suelo y se tamizó a través de una malla de 2,36 mm de diámetro para preparar el semillero. Las características físico-químicas de suelo se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Características físico químicas del suelo proveniente de la parcela experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP) de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la ULA, en San Juan de Lagunillas, estado Mérida

Textura ^a	MO ^b	Pdisp ^c	pH	C.E	K ^d	Ca ^d	Mg ^d	Rel Ca/Mg
	%	mg kg ⁻¹	(1:2,5)	(1:5)	mS cm ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	
Franco arenosa	3,61	30	6,04	0,14	568	2060	1872	0,66

^aBouyoucus; ^bMateria orgánica por Walkley y Black; ^cFósforo disponible por Bray I (0,03 M NH₄F + 0,025 M HCl); ^dCationes intercambiables por extracción con acetato de amonio 1 M pH 7,0.

Preparación de los inóculos

Las cepas rizobianas crecieron en medio agarizado extracto de levadura-manitol YMA modificado con 0,5 g L⁻¹ K₂HPO₄, 0,2 g L⁻¹ MgSO₄·7H₂O, 0,1 g L⁻¹ NaCl, 0,5 g L⁻¹ extracto de levadura, 2,5 g L⁻¹ manitol, 7,5 g L⁻¹ sacarosa, 2,5 mg mL⁻¹ rojo congo pH 6,7-6,8 (Vincent, 1975) a 29 °C. El período de incubación de los rizobios se realizó según la

dinámica de crecimiento de cada cepa, hasta su fase exponencial-estacionaria (24-36 h) utilizando como modelo la curva de crecimiento para rizobios determinada por Blanco et al. (2013) en este medio de crecimiento. Los inóculos se prepararon de forma mixta con el cultivo de cada cepa mediante el conteo celular con una cámara de Neubauer a una concentración 1×10^8 cel mL^{-1} de cada cepa en solución salina 0,89 % NaCl. Se preparó un control solo con solución salina 0,89 % NaCl y sin consorcios. Seguidamente los inóculos se mantuvieron durante 20 minutos a 90 rpm en una agitadora a temperatura ambiente con la finalidad de homogenizar la suspensión celular. Los tratamientos utilizados correspondieron a los consorcios preparados (proporción 1:1), según la Tabla 2.

Tabla 2. Tratamientos utilizados en el experimento (preparados en solución salina 0,89 % NaCl).

Tratamientos	Descripción
Biológicos	
Control (sin inocular)	Sin consorcios
Alf+ES1	<i>Pseudomonas fluorescens</i> + <i>Ochrobactrum</i> spp.
ME01+ES1	<i>Rhizobium tropici</i> + <i>Ochrobactrum</i> spp.
ES1+Leu2A	<i>Ochrobactrum</i> spp. + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>
Alf+Leu2A	<i>Pseudomonas fluorescens</i> + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>
YE1+ES1	<i>Bradyrhizobium</i> ssp. + <i>Ochrobactrum</i> spp.
ME01+Alf	<i>Rhizobium tropici</i> + <i>Pseudomonas fluorescens</i>
YE1+Alf	<i>Bradyrhizobium</i> ssp. + <i>Pseudomonas fluorescens</i>
ME01+YE1	<i>Rhizobium tropici</i> + <i>Bradyrhizobium</i> ssp.
YE1+Leu2A	<i>Bradyrhizobium</i> ssp. + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>
ME01+Leu2A	<i>Rhizobium tropici</i> + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>

Ensayo en umbráculo

Las semillas de cebolla se desinfectaron mediante lavado con solución jabonosa al 1 % (jabón azul en barra) durante 10 min, seguido de 5 enjuagues con agua destilada estéril, luego lavado con cloro al 1 % por 1 min, y por último 10 enjuagues con agua destilada estéril, según protocolo estandarizado en el Laboratorio de Fitobiotecnología. Las semillas desinfectadas se agregaron a los inóculos de cada consorcio y se colocaron en agitación a 90 rpm por 1 h. Se utilizaron bandejas de horticultura de 50 celdas sustentadas con el suelo de la parcela experimental a utilizar (aproximadamente 50 g de suelo por celda), se sembraron dos semillas por celda (40 semillas por tratamiento), se humedecieron y se cubrieron con sustrato comercial estéril para facilitar la emergencia cotiledonar. Las bandejas se mantuvieron en condiciones de umbráculo (temperatura 27,4 °C, humedad relativa 65 %, luz $137 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A los 20 días de la emergencia cotiledonar se realizó un raleo dejando así una sola plántula por celda. Las plántulas se reinocularon inmediatamente cada una con $1 \text{ mL } 1 \times 10^8 \text{ cel mL}^{-1}$ del inóculo correspondiente. El riego se realizó a capacidad de campo con frecuencia interdiaria o diaria según las condiciones ambientales. El riego nutricional se realizó con solución Hoagland (Taiz y Zeiger, 2010) dos veces por semana a capacidad de campo, fraccionando la concentración de sus nutrientes 12,5 % días 15-20, 20 % todos sus nutrientes (Ca y K 100 %) días 20-25, 25 % todos sus nutrientes (Ca y K 125 %) días 25-45, y 50 % todos los nutrientes (Ca y K 100 %) días 45-60 después de la siembra en bandejas. Esta dosificación nutricional se realizó con base en Blanco et al. (2018), y a sugerencias de productores agrícolas de cebolla con respecto al Ca y al K en fase de semillero, por la importancia de los mismos para la formación de las plántulas y debido a que no hay evidencias hasta ahora de que estos elementos sean facilitados por la presencia de los consorcios empleados (Enciso et al., 2019).

Los tratamientos se evaluaron con 15 repeticiones cada uno. El ensayo se desmontó a los 60 días y se determinaron las siguientes variables morfológicas: longitud de tallo y raíz (de forma manual utilizando una regla milimetrada), peso fresco y seco de tallo y raíz, número de hojas, y el diámetro de la base del pseudotallo para estudiar el efecto de los consorcios sobre el crecimiento de la cebolla en fase de semillero bajo condiciones controladas. Adicionalmente, a las plántulas del tratamiento control y del seleccionado como el consorcio más promisorio ($n=5$), se les realizó una curva de saturación de luz para determinar su actividad fotosintética, utilizando un sistema portátil de intercambio de gases (LC-Pro, ADC Bioscientific Ltd.), programando mediciones entre 0 y $1800 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ a través de una fuente de luz artificial y el respectivo software del equipo; y los datos se procesaron con el programa Sigmaplot. De dicha curva se obtuvo la tasa de asimilación máxima a saturación de luz.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante un ANOVA de una vía y la prueba LSD ($p < 0,05$) con el programa Statgraphics (Statistical Graphics Corporation, 2002). Se comprobó el supuesto de homogeneidad de varianza con el test de Bartlett. Sin embargo, los resultados de las variables de peso seco, peso fresco raíz, y diámetro de la base del pseudotallo, se sometieron a la prueba de Kruskal Wallis con el programa estadístico Infostat (InfoStat Statistical Software, 2002), debido a que los datos no cumplieron con el supuesto de homogeneidad de las varianzas (Montgomery, 1991).

RESULTADOS

Efecto de los consorcios sobre el crecimiento de las plántulas de cebolla

En la Tabla 3 se pueden observar los efectos de la compatibilidad consorcios-cultivo. En este sentido, los consorcios promisorios para las variables de crecimiento determinadas fueron ME01+YE1, YE1+Leu2A, y ME01+Leu2A, debido a que incrementaron significativamente ($p < 0,05$) las variables: número de hojas, longitud (total, raíz y aérea), pesos fresco y seco (raíz y aéreo), así como el diámetro de la base del pseudotallo, por encima de los otros consorcios probados y del control (sin inocular). Por otro lado, los consorcios Alf+ES1, ME01+Alf, y YE1+Alf, no ejercieron ningún efecto sobre las plántulas, ya que los valores en las variables determinadas no muestran diferencias significativas respecto al control no inoculado.

De estos consorcios destacó el ME01+Leu2A, formado por una cepa de *Rhizobium tropici* y una cepa de *Bradyrhizobium japonicum* respectivamente, por su efecto positivo sobre el incremento de todas las variables determinadas, especialmente el diámetro de la base del pseudotallo o cuello (incremento de hasta 300 %), lo que significa el comienzo del engrosamiento del bulbo.

Tabla 3. Efecto de los consorcios sobre las variables evaluadas a nivel de semillero en cebolla (*A. cepa*)

Tratamientos biológicos	Número de hojas	Diámetro de la base del pseudotallo (mm)	Longitud total (cm)	Longitud raíz (cm)	Longitud aérea (cm)	Peso fresco raíz (g)	Peso fresco aéreo (g)	Peso seco raíz (g)	Peso seco aéreo (g)
Control (sin inocular)	3,47 d	0,80 d	27,6 g	2,00 f	25,6 e	0,04 b	0,67 e	0,003 def	0,05 f
Alf+ES1	3,60 cd	1,15 d	29,1 fg	2,70 ef	26,4 de	0,03 b	0,69 de	0,003 ef	0,05 ef
ME01+ES1	3,93 abc	2,27 bc	31,57 ef	2,07 f	29,5 bc	0,03 b	0,96 bc	0,002 f	0,06 cdef
ES1+Leu2A	3,93 abc	2,59 ab	31,97 def	2,93 def	29,03 cd	0,04 b	1,00 bc	0,003 def	0,07 bcde
Alf+Leu2A	3,93 abc	1,92 c	33,1 cde	3,07 cde	30,03 abc	0,07 a	1,04 bc	0,004 bcd	0,07 bcd
YE1+ES1	4,06 ab	2,26 bc	33,97 bcde	3,80 abc	30,17 abc	0,07 a	1,04 bc	0,005 abc	0,07 bcde
ME01+Alf	3,73 bcd	2,03 c	34,17 bcde	3,73 bcd	30,43 abc	0,09 a	0,90 cde	0,004 cde	0,06 def
YE1+Alf	3,47 d	2,09 c	34,7 bcd	3,86 bcd	30,84 abc	0,07 a	0,91 cd	0,005 bcde	0,06 def
ME01+YE1	4,13 a	2,27 bc	36,1 abc	4,80 ab	31,3 abc	0,06 a	1,16 ab	0,017 ab	0,15 ab
YE1+Leu2A	4,13 a	2,35 bc	36,13 ab	3,60 cd	32,53 a	0,06 a	1,36 a	0,004 bcde	0,09 a
ME01+Leu2A	4,00 ab	3,20 a	38,4 a	6,23 a	32,17 ab	0,07 a	1,18 ab	0,017 a	0,08 abc

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) para un nivel de confianza del 95 %.

Efecto del consorcio seleccionado sobre la actividad fotosintética de las plántulas

Adicionalmente, y en términos fisiológicos, se pudo observar la actividad fotosintética de las plántulas del consorcio ME01+Leu2A como una medida del buen estado metabólico en fase de semillero para la cebolla a los 60 días después de la siembra (Figura 1). En la Tabla 4 se pueden observar las variables ecofisiológicas calculadas para los tratamientos control (sin inocular) y consorcio ME01+Leu2A, a partir de la ecuación determinada con las curvas. Sin embargo, como no fue posible establecer comparaciones estadísticas entre ambos tratamientos a partir de las curvas, se compararon los cinco valores máximos de asimilación de CO₂ en ambos tratamientos y se observaron diferencias significativas entre ellos ($p < 0,05$), siendo mayores para el consorcio ($13,2 \pm 0,2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y menores para el control ($11,5 \pm 0,1 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

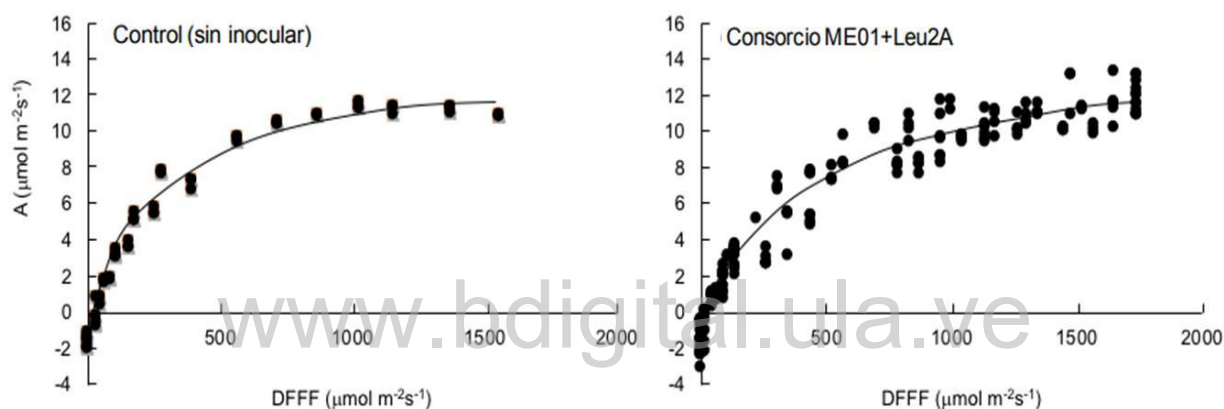


Figura 1. Curvas de saturación de luz realizada a las plántulas a los 60 dds en condiciones de umbráculo. Densidad de flujo fotónico fotosintético (DFFF) Vs. Tasa de asimilación de CO₂ (A). Control (sin inocular): $[A = 13,88 * (-29,64 + DFFF) / (-29,64 + 269,07 + DFFF); R^2 = 0,986]$. Consorcio ME01+Leu2A: $[A = 14,65 * (-32,01 + DFFF) / (-32,01 + 459,50 + DFFF); R^2 = 0,956]$.

Tabla 4. Variables fotosintéticas determinadas a partir de las ecuaciones de las curvas de saturación de luz en plántulas con 60 dds en condiciones de umbráculo.

Variable	Unidades	Control	Consorcio
		(sin inocular)	ME01+Leu2A
Punto de compensación de luz	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	29,6	32,0
Punto de saturación de luz	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	800	1200
A_{max}	$\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	11,4	11,9
		(11,5)	(13,2)
Eficiencia cuántica	-	0,037	0,034
Respiración en oscuridad	$\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	1,25	1,20

A_{max} = tasa de asimilación de CO_2 máxima a una radiación de $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; tasa máxima absoluta entre paréntesis, n=5.

DISCUSIÓN

Dentro de las variables evaluadas, el diámetro de la base del pseudotallo o cuello fue el que permitió escoger el consorcio más promisorio (ME01+Leu2A), ya que este parámetro es determinante en el cultivo de cebolla, debido a que el momento del trasplante depende del grosor del cuello para evitar la formación de bulbos de mala calidad (Enciso et al., 2019). Nuevos reportes han mostrado efectos positivos sobre el incremento de parámetros de crecimiento sobre plántulas de cebolla inoculadas, aunque de forma individual, con cepas bacterianas de la especie *Bacillus megaterium* y los géneros *Leifsonia* sp. y *Pantoea* sp., las cuales incrementaron los pesos fresco y seco total, y las longitudes aérea y de raíz a las 7 semanas de inoculadas y con dosis 50 % de fertilizante, pero en este mismo estudio los consorcios probados no ejercieron ningún efecto sobre las variables de crecimiento (Samayoa et al., 2020), a diferencia de lo observado en la presente investigación con el consorcio ME01+Leu2A.

La evaluación de estas cepas en forma de consorcio permitió determinar entre cuáles hubo un efecto sinérgico, como fue propuesto por Blanco et al. (2018), específicamente para el híbrido de cebolla utilizada.

A su vez, las tasas de asimilación de CO_2 (Tabla 4) son superiores a las descritas para plántulas de cebolla sin inocular en otros estudios (Jasoni et al., 2004; Bhatt et al., 2004; Bachie et al., 2019) y similares a las reportadas por Wheeler et al. (2004), estas últimas de un estado fenológico más avanzado de las plantas y de igual forma no inoculadas. Esto sugiere que el consorcio microbiano ME01+Leu2A podría producir incrementos de la biomasa en plantas de cebolla en comparación a plantas no inoculadas, puesto que una mayor tasa de asimilación de

CO₂, junto a tasas respiratorias similares entre tratamientos, conllevaría a un aumento en la disponibilidad de carbono para el crecimiento y por ende a un posible mayor rendimiento de la cebolla en campo. Al respecto, Castro y Blanco (2018) determinaron que algunos de estos mismos consorcios microbianos inoculados en plantas de pimentón favorecieron la producción de clorofila y que esto estuvo relacionado con el contenido de nitrógeno foliar, demostrando así los beneficios de los MPCV sobre la capacidad fotosintética.

Cabe mencionar que las cepas bacterianas responden no solo a las características y tipo de suelo (Reyes y Valery, 2007) o a la especie vegetal (Blanco et al., 2018), sino también a la variedad de una misma especie vegetal (Blanco y Reyes, 2018). Con relación a este planteamiento, se pudo observar que el uso de algunos de estos consorcios iguales en pimentón, también arrojó resultados positivos, siendo el consorcio más promisorio el ME01+YE1 (Castro y Blanco, 2018). Por lo tanto, se comprobó que existe una especificidad y compatibilidad cepa-cepa y cepas-cultivo, en respuesta a la interacción planta-microorganismo-suelo, de acuerdo a la relación bioquímica, fisiológica y ecológica entre estos factores, debido a la variedad de exudados radicales que puedan expresarse, como lo mencionaron Blanco et al. (2018). Sin embargo, el efecto positivo sobre el crecimiento vegetal es común con la presencia de la cepa ME01, la cual de forma individual también promovió el crecimiento de plántulas de pimentón y lechuga (Blanco et al., 2018).

Igualmente, el efecto promotor del crecimiento vegetal producido por el consorcio ME01+Leu2A pudo deberse a los mecanismos de disolución de fosfatos y producción de ácido indol acético mostrados por estas mismas cepas (Marquina et al., 2018), a la actividad nitrato reductasa de ambas cepas, y a la actividad ureasa de la cepa ME01 (Y. Castro y E.L. Blanco, observaciones personales). Otros estudios han mostrado el efecto fitoestimulante que presentan los rizobios para promover el crecimiento de plantas no leguminosas, mediante la producción de fitohormonas, sideróforos, disolución de fosfatos, o como agentes de biocontrol contra fitopatógenos, destacando así que los rizobios tienen un alto potencial biofertilizante para cultivos hortícolas de interés comercial (García-Fraile et al., 2012; Santillana et al., 2012; Kumar et al., 2019; Borges et al., 2019).

Asimismo, se destaca la importancia de evaluar previamente las cepas con el cultivo a tratar, y tener en cuenta la caracterización previa que debe realizarse a cada microorganismo para determinar su tolerancia a temperaturas, pH y salinidad, además de verificar el establecimiento de una sinergia con la especie vegetal. En este caso, no es casualidad que el consorcio que mejor interactuó con las plántulas de cebolla, esté compuesto por dos microorganismos provenientes de suelos de zonas semiáridas como San Juan de Lagunillas y El Vigía, con condiciones físico químicas similares a las del suelo de donde provenía el que se usó en este ensayo (Tabla 1), y con un amplio rango de tolerancia a temperaturas, pH y salinidad del suelo (Marquina et al.,

2011), que le permitiría adaptarse a otras condiciones climáticas con fines de producción del inóculo del consorcio ME01+Leu2A y su uso en otras regiones del país.

De esta forma y en concordancia con Jayashree y Jagadeesh (2017) y Blanco et al. (2018), se propone el uso de consorcios microbianos promotores del crecimiento vegetal como un enfoque innovador para la producción de plántulas vigorosas y saludables con mayores posibilidades de éxito luego de un trasplante en la producción de hortalizas, y que quizás permitan reducir el uso de fertilizantes químicos en los vegetales.

CONCLUSIONES

El consorcio microbiano ME01+Leu2A aumenta o estimula el mayor crecimiento de las plántulas de cebolla reflejado en las variables determinadas, especialmente en el diámetro de la base del pseudotallo. Por lo tanto, se propone como un biofertilizante promisorio para el desarrollo de plántulas de esta especie vegetal, y que particularmente se vayan a trasplantar a suelos bajo condiciones de climas semiáridos donde es más propicio el cultivo de este rubro, y con características físico químicas similares a las mostradas en esta investigación. Además se recomienda evaluar este consorcio microbiano en la producción de cebolla a nivel de campo, y estudiar el efecto positivo que sobre variables de crecimiento y fisiológicas pueda tener la aplicación del mismo, y también probarlo en suelos con características físico químicas distintas, y en otras variedades de cebolla para de esta manera producir un inóculo con amplio rango de aplicación.

REFERENCIAS

- Alcedo, Y., Reyes, I., 2018. Microorganismos promotores de crecimiento en el biocontrol de *Alternaria alternata* en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Bioagro 30(1): 59-66.
- Antoun, H., Prévost, D., 2005. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In: PGPR: Biocontrol and Biofertilization (ed. Z.A. Siddiqui). Springer, The Netherlands, pp. 1–39.
- Bhatt, R.M., Rao, N.K.S., Gowda, R.V., 2004. Genotypic variability of physiological responses to water stress in onion (*Allium cepa* L.). Trop. Agric. (Trinidad) 81(4): 248-252.
- Bachie, O.G., Santiago, L.S., McGiffen, M.E., 2019. Physiological responses of onion varieties to varying photoperiod and temperature regimes. Agriculture. 9, 214.
- Blanco, E.L., Marquina, M.E., Castro, Y., 2013. Respuestas a la aplicación de carbamatos en dos aislados rizobianos provenientes de Mucuchíes, estado Mérida, Venezuela. Bioagro. 25(2): 117-128.
- Blanco, E.L., Castro, Y., Olivo, A., Skwierinski, R., Moronta Barrios, F., 2018. Germinación y crecimiento de plántulas de pimentón y lechuga inoculadas con rizobios e identificación molecular de las cepas. Bioagro. 30(3): 207-218.
- Blanco, E.L., Reyes, I., 2018. Aplicación de un biosustrato compuesto por microorganismos y roca fosfórica sobre el cultivo de dos variedades de lechuga (*Lactuca sativa* L.)

- [Application of a biological substrate mixture composed by microorganisms and rock phosphates to two lettuce cultivars (*Lactuca sativa* L.)]. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 35: 408-434.
- Blanco, E.L., Castro, Y., 2021. Antagonismo de rizobacterias sobre hongos fitopatógenos, y su actividad microbiana con potencial biofertilizante, bioestimulante y biocontrolador. Rev. Col. Biotecnol. 23(1): 6-16. DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v23n1.84808.
- Borges, C.S., Saccol de Sá, E.L. Muniz, A.W., Osorio Filho, B.D., 2019. Potencial use of *Rhizobium* for vegetable crops growth promotion. Afr. J. Agric. Res. 14(8): 477-483.
- Brom, S., Pistorio, M., Romero, D., Torres-Tejerizo, G., 2014. Boundaries for conjugative transfer of rhizobial plasmids: restraining and releasing factors. p. 43-54. En: Katsy, E.I. (Ed), Plasticity in Plant-Growth-Promoting and Phytopathogenic Bacteria. Springer, Rusia.
- Castro, Y., Blanco, E.L., 2018. Estimación del contenido de clorofila y nitrógeno en plantas de pimentón inoculadas con bacterias rizosféricas. Revista Científica UNET. 30(1): 105-112.
- Enciso, C., Vera, P., Santacruz, A., González, J., 2019. Guía técnica del cultivo de cebolla. Proyecto Paquetes Tecnológicos. Universidad Nacional de Asunción. Paraguay. 73 p.
- Estrada-Prado, W., Lescay-Batista, E., Álvarez-Fonseca, A., Maceo-Ramos, Y.C., 2015. Niveles de humedad en el suelo en la producción de bulbos de cebolla. Agron. Mesoam. 26(1): 111 -117.
- Fatnassi, I.C., Chiboub, M., Saadani, O., Jebara, M., Jebara, S.H., 2015. Impact of dual inoculation with *Rhizobium* and PGPR on growth and antioxidant status of *Vicia faba* L. under copper stress. C. R. Biologies. 338: 241–254.
- Gangaraddi, V., Brahmaprakash, G.P., 2018. Comparative evaluation of selected formulations of a microbial consortium. Mysore J. Agric. Sci. 52(2): 255-262.
- García-Fraile, P., Carro, L., Robledo, M., Ramírez-Bahena, M.H., Flores-Félix, J.D., Fernández, M.T., Mateos, P.F., Rivas, R., Igual, J.M., Martínez-Molina, E., Peix, A., Velázquez, E., 2012. *Rhizobium* promotes non-legumes growth and quality in several production steps: Towards and biofertilization of edible raw vegetables healthy for humans. PLoS One. 7(5): e38122.
- InfoStat Statistical Software., 2002. InfoStat/Profesional Versión 2.0. Estadística y Diseño-F.C.A., Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Jasoni, R., Kane, Ch., Green, C., Peffley, E., Tissue, D., Thompson, L., Payton, P., Paré, P.W., 2004. Altered leaf and root emissions from onion (*Allium cepa* L.) grown under elevated CO₂ conditions. Environmental and Experimental Botany. 51: 273–280.
- Jayashree, C., Jagadeesh, K.S., 2017. Testing the effect of the microbial consortium on growth of vegetable seedlings in a Farmer's Nursery. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 6(2): 1636-1639.
- Kumar, A., Meena, V.S., Roy, P., Vandana, Kumarli, R., 2019. Role of Rhizobia for sustainable agriculture: Lab to Land. p. 129-149. In: A. Kumar, V. S. Meena (Eds.), Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Agricultural Sustainability, Springer Nature, Singapore.

- Marquina, M.E., González, N.E., Castro, Y., 2011. Caracterización fenotípica y genotípica de doce rizobios aislados de diversas regiones geográficas de Venezuela. *Rev. Biol. Trop.* 59(3): 1017-1036.
- Marquina, M.E., Ramírez, Y., Castro, Y., 2018. Efecto de bacterias rizosféricas en la germinación y crecimiento del pimentón *Capsicum annuum* L. var. Cacique gigante. *Bioagro* 30(1): 3-16.
- Montgomery, D., 1991. Diseño y análisis de experimentos. Editorial Iberoamericana. 541 p.
- MPPAT (Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras), 2017. Disponible en: <http://censo.agriculturaproductiva.gob.ve/>. (consulta del 15/01/2017).
- Ochoa Carreño, D.C., Montoya Restrepo, A., 2010. Consorcios microbianos: una metáfora biológica aplicada a la asociatividad empresarial en cadenas productivas agropecuarias. *Rev. Fac. Cienc. Econ.* 17(2): N56-M29.
- Olmedo, C. 2003. Aspectos biotecnológicos de las interacciones microorganismos planta. p. 97-103. En: Albanesi, A., A. Anriquez, S. Luna, C. Kunst y R. Ledesma (Eds.), *Microbiología Agrícola. Un aporte de la investigación argentina*. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Argentina.
- Reyes, I., Valery, A., 2007. Efecto de la fertilidad del suelo sobre la microbiota y la promoción del crecimiento del maíz (*Zea mays* L.) con *Azotobacter* spp. *Bioagro*. 19(3): 117-126.
- Samayoa, B.E., Shen, F.T., Lai, W.A., Chen, W.Ch., 2020. Screening and assessment of potential plant growth-promoting bacteria associated with *Allium cepa* Linn. *Microbes Environ.* 35(2). 10 p.
- Santillana, N., Zúñiga, D., Arellano, C., 2012. Capacidad promotora del crecimiento en cebada (*Hordeum vulgare*) y potencial antagónico de *Rhizobium leguminosarum* y *Rhizobium etli*. *Agrociencia Uruguay* 16(2): 11-17.
- Statistical Graphics Corporation. 2002. *Statgraphics Plus* Versión 5.1.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2010. *Plant Physiology*. Sinauer. Sunderland, MA, USA. 623 p.
- Vincent, J. M., 1975. Manual práctico de rizobiología. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires. 74 p.
- Wang, J., Li, R., Zhang, H., Wei, G., Li, Z., 2020. Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application. *BMC Microbiol.* 20: 38.
- Wheeler, T.R., Daymon, A.J., Morison, J.I.L., Ellis, R.H., Hadley, P., 2004. Acclimation of photosynthesis to elevated CO₂ in onion (*Allium cepa*) grown at a range of temperatures. *Ann. appl. Biol.* 144: 103-111.
- Yashaswini, Ch., Vijay Kumar, S., 2016. *Quorum sensing*. *Agrobios Newsletter* 14(12): 120-121.

CAPÍTULO 3

Grados-día acumulados, radiación acumulada y rendimiento de cebolla (*Allium cepa* L.) bajo condiciones de déficit hídrico inducido y biofertilización en un ambiente semiárido neotropical

RESUMEN

En un escenario de constante aumento poblacional mundial y cambio climático, el uso eficiente del agua resulta un factor clave para la producción agrícola. El cultivo de cebolla es uno de los más rentables a nivel mundial y puede adaptarse a ciertas condiciones de estrés hídrico. El objetivo de esta investigación fue determinar los grados-día acumulados (GDA), la radiación acumulada, la eficiencia del uso del agua de riego (EUA_r), y el rendimiento del cultivo de *Allium cepa* L. bajo déficit hídrico y biofertilización con el fin de incrementar el área de siembra con el ahorro de agua y fertilizantes en un ambiente donde estas fuentes pueden ser limitantes. Se cultivó cebolla híbrido F1 2000 en la estación experimental del IIAP-ULA San Juan de Lagunillas-Mérida, con un diseño bifactorial en bloques completamente aleatorizados con tres repeticiones. Se determinaron las variables microclimáticas durante el ciclo y se estableció un requerimiento de nutrientes de 247 kg N, 240 kg P_2O_5 , 240 kg K_2O . Se aplicaron dos factores de riego: riego normal (RN) con frecuencia diaria, y déficit hídrico (DH) con frecuencia de riego cada tres días. El efecto de la biofertilización se evaluó a través de un consorcio microbiano en combinación con cuatro tratamientos de NPK. El cultivo acumuló 1334 °C y 1188 MJ m⁻² d⁻¹ en el momento de su cosecha a los 71 días después de trasplante (ddt). El rendimiento fue de 36 t ha⁻¹, similar en ambas condiciones de riego ($P>0,05$), y el tratamiento DH resultó en un ahorro de 35 % de agua y el incremento de 47 % de la EUA_r . El consorcio microbiano resultó en un ahorro del 50 % de NPK bajo condiciones no limitantes de agua y produjo un rendimiento similar al del control de producción 100 % NPK no inoculado. Los mejores resultados se obtuvieron con la menor frecuencia de riego y la dosis de fertilizantes 100 % NPK sin microorganismos, y el uso de microorganismos con el 50 % NPK sin estrés hídrico, y se plantean ambos tratamientos como prácticas agrosostenibles para la producción de cebolla.

Palabras clave: *Allium cepa*, biofertilizantes, eficiencia del uso del agua de riego, integral térmica, riego deficitario controlado.

INTRODUCCIÓN

La escasez de agua para la agricultura cada vez es más recurrente y la necesidad de lograr un mejor aprovechamiento de ella, ha interesado a grupos de investigación en dirigir estudios de nuevas estrategias de riego, que tiendan a disminuir los aportes hídricos, con el menor impacto posible en la producción y calidad de la cosecha (Ferreira y Selles, 1997; Abdelkhalik et al.,

2019; Mugoro et al., 2020). El riego deficitario controlado (RDC) fue desarrollado con el fin de optimizar el uso del recurso hídrico, y bajo esta premisa, plantea reducir el consumo de agua total aplicada a determinado cultivo (Sánchez y Torrecillas, 1995; Patel y Rajput, 2013). El RDC difiere de un estrés hídrico natural, ya que una estrategia de RDC busca llevar a la planta a un ligero estrés en un estado fenológico en el cual la producción no sea afectada (Mitchell et al., 1984).

La cebolla en Venezuela se cultiva en suelos áridos del occidente y soleados del oriente, caracterizados por una alta evaporación ante la elevada insolación, lo cual hace imprescindible el uso del riego. En lugares en donde la precipitación anual está alrededor de los 600 mm, se puede sembrar en cualquier mes del año porque el riego debe ser integral, mientras que en los sitios en donde está marcada una época seca y una de lluvia, se debe coincidir la época de lluvia con el establecimiento del cultivo y la fase de desarrollo, y la época seca con el final de la bulbificación y la maduración. La frecuencia del riego y el volumen hídrico están determinados por las condiciones del clima y el tipo de suelo (Guzmán-Pérez, 1988). En Venezuela existen zonas de larga tradición agrícola y con características climatológicas donde el agua es un recurso escaso y valioso (Rázuri-Ramírez et al., 2005; Olivares-Campos et al., 2018). En consecuencia existe la necesidad de mejorar el uso de los recursos hídricos para optimizar el rendimiento en los cultivos tradicionales y expandir las áreas de siembra. En este sentido, Rázuri-Ramírez et al. (2005) y Pérez-Ortolá y Knox (2014) recomiendan utilizar métodos de riego eficientes como el riego por goteo con el que se puede controlar el déficit hídrico, además de incrementar la producción de cebolla hasta en un 242 %, en comparación con la producción bajo riego tradicional de tipo serpentín. En particular para el cultivo de cebolla se conoce que este comienza a sufrir estrés hídrico cuando el contenido relativo de humedad en el suelo (CHS) está por debajo del umbral establecido como factor de agotamiento crítico del suelo (45 %), debido a que el agua no puede movilizarse lo suficientemente rápido para satisfacer la demanda transpiratoria del cultivo (Duarte et al., 2012).

El efecto promotor del crecimiento vegetal (PCV) de microorganismos rizosféricos ha sido demostrado principalmente por su propiedades biofertilizantes, biorremediadoras, y biocontroladoras (Mohammadi y Sohrabi, 2012; Blanco et al., 2013; Blanco y Reyes, 2018; Márquez et al., 2020). En los últimos años existe una tendencia a evaluar el efecto de estos microorganismos en condiciones de estrés abiótico (Parray et al., 2016). Según Aroca y Ruiz-Lozano (2009), las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) pueden modificar el contenido de hormonas en las plantas y de esta manera mejorar su tolerancia a la sequía. Por otro lado, la producción de exopolisacáridos (EPS) por los microorganismos juega un papel esencial en el desarrollo de la planta en condiciones de estrés ambiental como la sequía, ya que los EPS influyen sobre el mantenimiento del potencial hídrico, agregados del suelo, y la facilitación de la interacción planta-microorganismo (Pawar et al., 2013; Taiwo et al., 2019).

Por otro lado, el efecto de la temperatura sobre el desarrollo de los cultivos se puede evaluar mediante la integral térmica o con los grados-día acumulados (GDA) o grados-día de crecimiento (Tesfay et al., 2011; Díaz et al., 2012). En las plantas, cada fase del desarrollo

requiere un mínimo de temperatura acumulada para llegar a su término y pasar a la siguiente fase fenológica y a esta suma o total se le conoce como integral térmica, tiempo térmico o suma de calor y se mide en grados/día ($^{\circ}\text{Cd}$) (Rawson y Gómez, 2001). De acuerdo con la planificación agrícola, es beneficioso conocer la temperatura requerida para llevar a cabo el cultivo de cebolla y, de esta manera extrapolar según características climáticas de una zona determinada el tiempo que pueda durar el ciclo. Según los datos oficiales de la FAO (2020a), en Venezuela para el año 2018 el cultivo de cebolla fue el tercero de mayor importancia después de la zanahoria y el tomate. Además de esto, el cultivo de esta especie es uno de los más costosos actualmente debido a factores como semillas certificadas, fertilizantes y agrotóxicos, los cuales cada día resultan más escasos y de alto valor en el mercado nacional. Esta situación ha afectado notablemente el área cosechada y la producción de este rubro causando una reducción del 42 % y 46 %, respectivamente durante la última década. Según la tendencia mundial, para el año 2050, la población alcanzará el orden de los 9000 millones de personas, lo cual requiere de mayor cantidad de agua para lograr producir el 60 % más de alimentos que hoy día para cubrir las necesidades de la futura población (FAO, 2020b). Es por ello que utilizar un manejo agrícola adecuado y poder disminuir el consumo de agua y fertilizantes por este, y otros cultivos se hace imperante para masificar las áreas de siembra y con ello incrementar la producción con criterios de sostenibilidad.

El objetivo de esta investigación fue determinar los GDA y la radiación requerida durante el ciclo en condiciones no estresantes, y el rendimiento de un cultivo de cebolla bajo déficit hídrico inducido y biofertilización, con el fin de obtener un uso más eficiente del agua, siendo este un recurso tan valioso y limitante, y ahorrar fertilizantes con un enfoque agroproductivo y sostenible.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área

El experimento se realizó en la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes (IIAP-ULA), ubicada en San Juan de Lagunillas, municipio Sucre, estado Mérida, con una altitud entre 1050 a 1100 msnm, y las coordenadas UTM 240946E – 941369N, 240737E – 941369N, 240737E – 941754N, 240946 E – 941759 N. El suelo de la estación experimental fue clasificado como un Aridisol (USDA, 2020). Antes del establecimiento del experimento, se tomaron muestras de suelo desde la superficie (0-15 cm) y se determinaron algunas propiedades físicas y químicas según los métodos utilizados por Klute (1986) y Page et al. (1982) las cuales se muestran en la Tabla 1. De acuerdo al sistema de zonas de vida de Holdridge, la zona de vida corresponde a un bosque seco premontano, con una temperatura entre 18 $^{\circ}\text{C}$ y 24 $^{\circ}\text{C}$, en la transición entre el bosque espinoso y el bosque muy seco en la región tropical; mientras Ataroff y Sarmiento (2004) se refieren a esta zona como una unidad ecológica arbustal espinoso. El

experimento se realizó desde finales de febrero hasta mediados de junio de 2017. En la Figura 1 se puede observar la precipitación total anual promedio y la temperatura para la zona. La precipitación total anual promedio allí es de 509 mm, observándose claramente dos periodos húmedos definidos con los picos máximos en los meses de abril y octubre. Sin embargo, la precipitación no supe el requerimiento hídrico de ningún cultivo, por lo que el riego en esta zona debe ser integral. La temperatura media anual es de 23,7 °C, la máxima anual promedio es de 28 °C y la mínima anual promedio de 18 °C. La evaporación está en el orden de 1500 mm año⁻¹, superando abiertamente durante todo el año a la precipitación (datos aportados por la estación agrometeorológica del IIAP-ULA).

www.bdigital.ula.ve

Tabla 1. Características físico químicas del suelo y del agua de riego en la parcela experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP) de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la ULA, en San Juan de Lagunillas, estado Mérida.

Suelo	Textura ^a	MO ^b	Ntotal ^c	Pdisp ^d	pH (1:2,5)	C.E (1:5)	K ^e	Ca ^e	Mg ^e	Rel Ca/Mg	Capacidad de retención de agua %
		%	%	mg kg ⁻¹		mS cm ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹		
	Franco arenosa (18 % arcilla; 24 % limo)	3,61	0,12	30	6,04	0,14	568	2060	1872	0,66	27

Agua de riego	pH	CE	Bicarbonatos ^f	Sulfatos ^g	K ^h	Ca ^h	Mg ^h	Na ^h	Cloruros ⁱ	RAS
		mS cm ⁻¹	meq L ⁻¹	meq L ⁻¹	meq L ⁻¹	meq L ⁻¹	meq L ⁻¹	meq L ⁻¹	meq L ⁻¹	meq L ⁻¹ (1/2)
	7,0	0,28	1,24	0,14	Trazas	0,87	0,43	0,09	Trazas	1,40

CE Conductividad eléctrica, RAS relación de absorción de sodio, ^aBouyoucus; ^bMO Materia orgánica por Walkley y Black; ^cNtotal por el método de Kjeldahl; ^dFósforo disponible por Bray I (0,03 M NH₄F + 0,025 M HCl); ^eCationes intercambiables por extracción con acetato de amonio 1 M pH 7,0; ^fTitulación; ^gSpectronic 20 BaCl₂; ^hAbsorción atómica; ⁱTitulación con AgNO₃.

Fuente: Análisis del Laboratorio Bioambiental (UNET), año 2017, y datos propios.

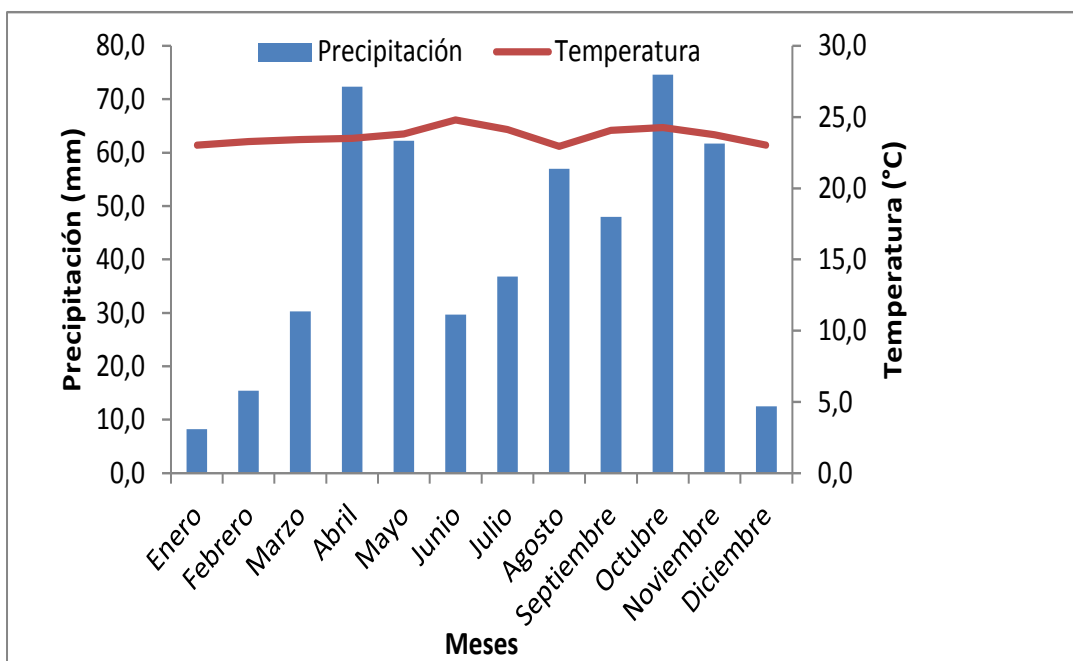


Figura 1. Características de precipitación y temperatura de la zona de San Juan de Lagunillas, Mérida-Venezuela. Precipitación y temperatura período enero 2010 - junio 2017. Fuente: datos de la Estación Experimental del IIAP-ULA San Juan de Lagunillas, Mérida.

Semillero

Se utilizó semilla de cebolla de tipo certificada híbrido F1 2000 (compañía Hazera Genetics), la cual se caracteriza por ser cebolla de coloración amarilla de días cortos y maduración temprana, que ha mostrado cierta tolerancia al bajo contenido de humedad en el suelo (Estrada-Prado et al., 2015). Las semillas se desinfectaron superficialmente según protocolo descrito en en Capítulo 2 (Blanco et al., 2021). El semillero se dispuso en bandejas plásticas de polietileno para hortalizas de 200 celdas, provistas de un sustrato comercial inerte y esterilizado por tindalización (pH de 5,8 y conductividad eléctrica de $0,127 \text{ dS m}^{-1}$ en suspensión 1:5); esta fase duró 45 días y se mantuvo en condiciones al aire libre techado con plástico transparente (temperatura 22°C , humedad relativa 80 %, luz $299 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). Estas plántulas se fertilizaron desde el día 15 al día 24 empleando una solución nutritiva 20-20-20 de tipo hidrosoluble a una concentración $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ (pH 6,0, conductividad eléctrica $680 \mu\text{S cm}^{-1}$); y desde el día 25 al día 45 se fertilizó con la misma solución nutritiva pero la concentración se incrementó a 1 g L^{-1} (pH 6,0, conductividad eléctrica $1160 \mu\text{S cm}^{-1}$). Las plantas se regaron diariamente a capacidad de campo y de acuerdo a las condiciones del tiempo, y la frecuencia de fertilización fue 3 veces por semana.

Establecimiento del cultivo en campo

En la parcela experimental se realizó un pase de arado de discos y un pase de rastra de discos para acondicionar el terreno y poder establecer el ensayo. Un mes antes del trasplante e inmediatamente después de la mecanización del terreno se aplicó un herbicida de tipo preemergente y selectivo (i.a s-metalocloro) en dosis 2 L ha^{-1} para el control de las malezas. Posteriormente se levantaron canteros trazando parcelas de 2,4 m de largo x 1,4 m de ancho, sobre las que se ubicaron seis filas de plantas para un total de 120 plantas por parcela, con un marco de siembra de 10 cm x 20 cm para una densidad de siembra de 360.000 plantas por hectárea. El deshierbe durante el ensayo se realizó manualmente.

Riego

El riego se aplicó por goteo, tomando en cuenta el 100% del requerimiento hídrico calculado por la evapotranspiración del cultivo de cebolla (100% ETc) con una frecuencia diaria de acuerdo a los valores del requerimiento hídrico calculados para la evapotranspiración del cultivo de cebolla según Allen et al. (2006). Esta condición de frecuencia diaria se tomó como la cantidad de agua requerida para llenar el déficit de humedad del suelo diariamente con el agua de riego aplicada (Bekele y Tilahun, 2007), y se denominó riego normal (RN). En el presente trabajo, de acuerdo a la uniformidad de aplicación de agua por los emisores, formación del bulbo de humedad y a la textura del suelo asegurando que todas las plantas quedaran regadas a capacidad de campo, el programa de riego se ajustó de la siguiente manera: 15-30 minutos durante la fase inicial del cultivo (20 días), 20-40 minutos en las fases de desarrollo e intermedia (37 días), y 15-20 minutos para la fase final (7 días). Después de ese periodo el riego se suspendió hasta la cosecha (7 días). El riego también dependió de los eventos de precipitación diaria. Ahora bien, la condición de déficit hídrico (DH) se indujo mediante una menor frecuencia de riego (Fernández y Gyenge, 2010), aplicando el riego cada tres días a partir de los 20 ddt, tiempo en el cual se consideró que había terminado la etapa inicial del cultivo de acuerdo con Allen et al. (2006), y para evitar mortalidad de las plantas durante la fase de establecimiento en campo porque el trasplante se considera como un momento sensible dentro del ciclo del cultivo (Castro et al. 2009). De esta manera, se irrigó cada 96 h con tiempo de riego igual al de la parcela RN según la fase del cultivo. La lámina total de riego para RN y DH se calculó con la sumatoria final de la cantidad de agua aplicada diariamente a las parcelas RN y DH respectivamente, de acuerdo al tiempo de riego utilizado y al caudal conocido. La eficiencia del uso del agua de riego por el cultivo (EUA_r , kg m^{-3}) o productividad del agua de cultivo, se calculó mediante la ecuación: $\text{EUA}_r = Y / \text{IW}$; donde Y es el rendimiento de

la cebolla en kg ha^{-1} , e IW es la cantidad total de agua de riego aplicada en $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$ (Kumar et al., 2007; Semida et al., 2017; Temesgen et al., 2018; Mugoro et al., 2020).

Variables microclimáticas e integral térmica

Los datos climáticos se registraron cada 15 minutos desde el día del trasplante hasta la cosecha, a través de microestaciones de cuatro canales con sensores externos de temperatura, humedad relativa, radiación global y contenido de humedad del suelo (HOBO Onset Corp.), los tres primeros colocados a una altura de 0,40 m sobre el suelo y el último (5-10 cm) por debajo del suelo. La precipitación y la evaporación fueron registradas en la estación agrometeorológica de la estación experimental del IIAP-ULA en San Juan de Lagunillas, Mérida. El CHS también se monitoreó en un momento del cultivo (43 – 47 ddt) durante cuatro días continuos (intervalo de riego), a través de la diferencia entre pesos húmedos y secos del suelo (5-15 cm) secado a 105 °C por 24 h (Pla, 1983), en cada condición de riego. Durante este tiempo la precipitación registrada fue cero o insignificante, por lo que se consideró que el CHS dependió únicamente del agua de riego durante el monitoreo. Con base en estos datos se determinó la integral térmica del cultivo de cebolla solo para la condición RN. La fenología se determinó de forma cualitativa identificando las fases de crecimiento para esta especie según Maroto (2000) e Yzarra y López (2011), luego del trasplante y hasta la cosecha, identificando el inicio de cada fase cuando hubo el 20% de ocurrencia en el total de plantas observadas. La T_b es la temperatura basal del cultivo por debajo de la cual se detiene el desarrollo vegetativo, y en este caso para la cebolla la T_b es 6 °C (Tascón et al., 2011). Conociendo la temperatura media diaria T_m y la T_b se calcularon los grados-día acumulados (GDA, °Cd) para el cultivo mediante la fórmula $\text{GDA} = (T_m - T_b) \times \text{ciclo}$ (Hassan et al., 2007). La radiación global acumulada se estableció con la sumatoria de la radiación media diaria ($\sum R_m$) recibida por el cultivo durante las 12 h luz al día ($\text{MJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$).

Características, preparación y aplicación del inóculo

Se usaron dos cepas rizobianas autóctonas del estado Mérida-Venezuela, pertenecientes al cepario del Laboratorio de Fitobioteconología-ULA. El inóculo estuvo compuesto por el consorcio microbiano de las cepas rizobianas ME01+Leu2A que resultaron promisorias para el crecimiento de la cebolla en fase de semillero (Capítulo 2; Blanco et al., 2021). Las características de las cepas ME01 y Leu2A como promotoras del crecimiento vegetal se observan en la Tabla 2. Para efectos del análisis el inóculo se denominó CM por las iniciales de consorcio microbiano.

Tabla 2. Características de las cepas ME01 y Leu2A como promotoras del crecimiento vegetal.

Cepa	Origen de la cepa	Identificación molecular	Producción de AIA	Producción de sideróforos	Disolución de fosfatos	Actividad ureasa	Actividad nitrato reductasa	Antagonismo contra <i>Fusarium oxysporum</i>
ME01	Nódulo de <i>Phaseolus vulgaris</i> San Juan de Lagunillas, Mérida	<i>Rhizobium tropici</i>	+	-	+	+	+	++
Leu2A	Nódulo de <i>Leucaena leucocephala</i> . Mérida	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	+	+	-	-	+	+

Fuentes: Marquina et al. (2011); Blanco et al. (2018); Blanco y Castro (2021); Blanco et al. (2021).

Las cepas rizobianas crecieron en medio agarizado extracto de levadura-manitol YMA modificado con $0,5 \text{ g L}^{-1} \text{ K}_2\text{HPO}_4$, $0,2 \text{ g L}^{-1} \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $0,1 \text{ g L}^{-1} \text{ NaCl}$, $0,5 \text{ g L}^{-1}$ extracto de levadura, $2,5 \text{ g L}^{-1}$ manitol, $7,5 \text{ g L}^{-1}$ sacarosa, $2,5 \text{ mg mL}^{-1}$ rojo congo pH 6,7-6,8 (Vincent, 1975) a 29°C . El período de incubación de los rizobios se realizó según la dinámica de crecimiento de cada cepa, hasta su fase exponencial-estacionaria (24-36 h) utilizando como modelo la curva de crecimiento para rizobios determinada por Blanco et al. (2013) en este medio de crecimiento. El inóculo se preparó de forma mixta con el cultivo de cada cepa mediante el conteo celular con una cámara de Neubauer a una concentración $1 \times 10^8 \text{ cel mL}^{-1}$ en solución salina 0,89 % NaCl. Seguidamente, el inóculo se mantuvo durante 20 minutos a 90 rpm en una agitadora a temperatura ambiente con la finalidad de homogenizar la suspensión celular. El inóculo se aplicó a las plántulas del semillero a los 46 dds, el mismo día antes de ser trasplantadas a campo. Para esto se humedecieron las bandejas con agua corriente, y las bandejas destinadas a ser inoculadas se regaron con el inóculo preparado con la ayuda de una regadera de jardinería, con un total de 500 mL por bandeja (2,5 mL de inóculo por plántula). Luego, las bandejas drenaron entre 3-4 h antes del trasplante. Las bandejas control no se inocularon. Las plantas se reinocularon en campo a los 15 días después del trasplante (ddt) con aproximadamente 5 mL del inóculo CM $1 \times 10^8 \text{ cel mL}^{-1}$ por planta, aplicado con una bomba de aspersión eléctrica.

Fertilización y diseño experimental

Se aplicó un diseño bifactorial 2×4 en bloques completamente aleatorizados con tres repeticiones. El factor riego consistió en los dos niveles ya descritos RN y DH. La fertilización fue edáfica y se realizó basada en el requerimiento nutricional según el criterio de fertilización química por extracción de nutrientes para un rendimiento de 40 t ha^{-1} (185 N, 96 P_2O_5 , 192 K_2O), de acuerdo a la experiencia práctica y tomando en cuenta el % de eficiencia de nutrientes (Silva, 1988; Blanco y Lagos, 2017; Gómez et al., 2007; Homeck, 2004). De esta forma, la extracción neta de nutrientes establecida fue 247 kg N, 240 kg P_2O_5 , 240 kg K_2O , para un total de 577 g de la fórmula edáfica comercial 15-15-15 N-P-K (N amoniacal 10,3%, N nítrico 4,7%; fosfato soluble 15%; cloruro de potasio 15%) más 5,4 g de urea para cada parcela de $3,36 \text{ m}^2$, según el área efectiva de siembra. La dosis se fraccionó en tres porciones (60 %, 20 % y 20 %) de la siguiente manera para cada parcela de $3,36 \text{ m}^2$: 1era fertilización 9 ddt a razón de 346 g 15-15-15/parcela; 2da fertilización 20 ddt empleando 115,2 g 15-15-15/parcela; y para la 3ra fertilización a los 37 ddt se usó 115,2 g 15-15-15 + 5,4 g urea/parcela. La fertilización se aplicó en bandas a nivel de las parcelas. Los cuatro tratamientos de fertilización fueron: 100% NPK no inoculado, 100% NPK + CM, 50% NPK + CM, y 0% NPK + CM. De acuerdo al total del requerimiento nutricional (100% NPK), se calculó el total de fertilizante para la dosis 50% NPK y se aplicó de la misma forma y en los mismos momentos durante el ciclo del cultivo. Todos los tratamientos estuvieron separados física y espacialmente a través de zanjas para evitar

contaminación entre ellos. Finalmente, los datos se analizaron mediante un ANOVA de dos vías y la prueba de medias LSD ($p < 0,05$) con el programa Statgraphics 5.1 (Statistical Graphics Corporation, 2002).

RESULTADOS

Variables microclimáticas y contenido de humedad en el suelo durante el cultivo

Los datos microclimáticos durante el ciclo del cultivo se muestran en la Tabla 3. Adicionalmente, la precipitación y la evaporación total estimada durante el tiempo del ensayo fueron 175,6 mm y >289,6 mm, respectivamente. La precipitación incrementó los últimos días del ciclo cuando los bulbos ya estaban en fase de maduración, por tanto se decidió efectuar la cosecha para evitar mayores pérdidas comerciales (Figura 2).

Tabla 3. Variables climáticas registradas durante el ciclo del cultivo en IIAP-ULA San Juan de Lagunillas, Mérida-Venezuela (7 de abril al 17 de junio 2017).

Parámetros	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)	Radiación global $\text{MJ m}^{-2} \text{d}^{-1}$	Velocidad del viento (m s^{-1})
Media diaria	$24,6 \pm 1,1$	$80,9 \pm 5,7$	$16,5 \pm 4,3$	$0,6 \pm 0,3$
Mínima media diaria	$19,2 \pm 0,9$	$47,1 \pm 7,0$	$0,2 \pm 0,2$	-
Máxima media diaria	$33,8 \pm 2,1$	$99,4 \pm 1,4$	$38,9 \pm 7,4$	-
Mínima absoluta	17,1	30,3	0,03	0,03
Máxima absoluta	38,8	100	50,9	1,7

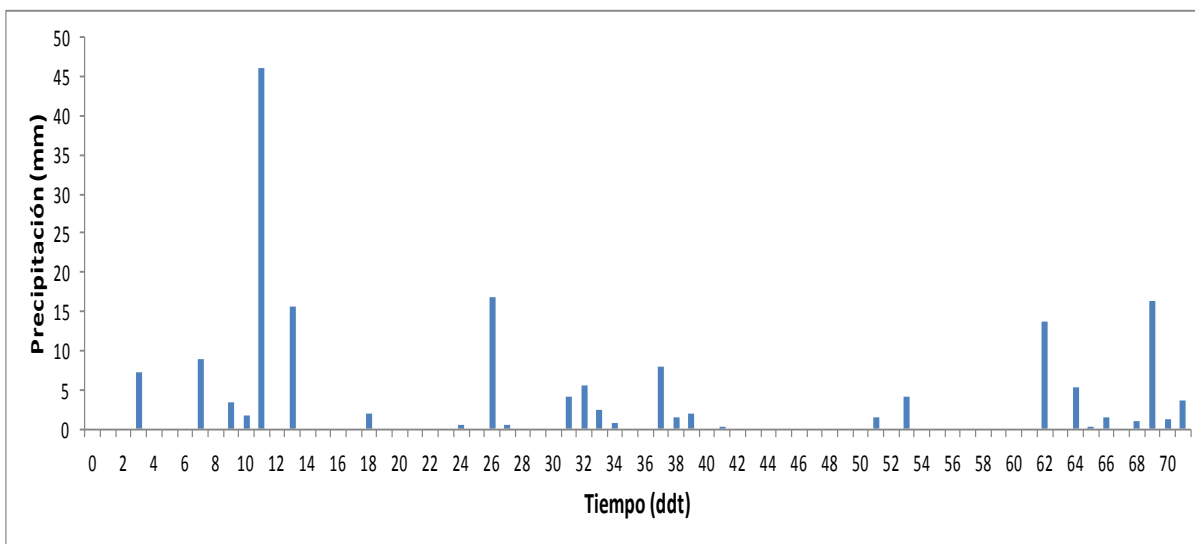


Figura 2. Precipitación diaria durante el ciclo de cultivo de cebolla. ddt = días después del trasplante.

Por otra parte, en la Figuras 3 y Figura 4 se puede observar la variación del contenido de humedad en el suelo (CHS) de las parcelas tanto para el tratamiento RN como para el tratamiento DH. En la Figura 3 se muestra el CHS medido con los sensores de humedad de las microestaciones de cuatro canales, en donde el CHS para la parcela RN solo fue posible monitorear hasta el día 29 después del trasplante ya que los sensores dejaron de funcionar en ese momento; sin embargo, se logró observar que a partir de los 20 ddt cuando el DH comenzó, las parcelas muestran un CHS diferente entre sí. En la Figura 4 se observó que la humedad del suelo con RN estuvo entre 67 % y 41 %, mientras que con DH estuvo entre 67 % y 11,8 % de CHS. El efecto del DH se evidenció entre 24 h y 96 h sin riego, por debajo de 42 % de CHS (Figura 4).

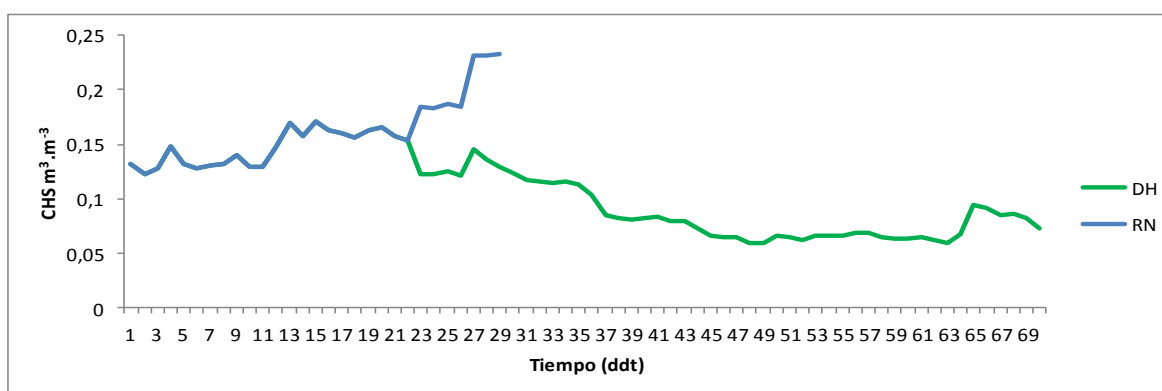


Figura 3. Condiciones de humedad del suelo durante el ciclo del cultivo determinadas con los sensores de humedad del suelo.

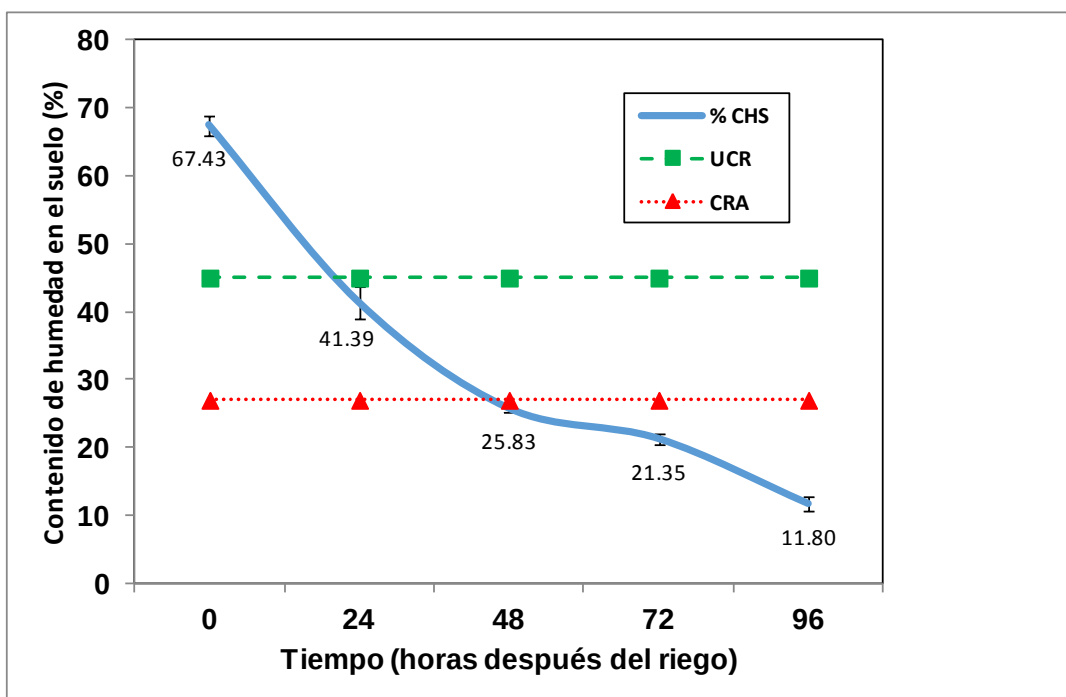


Figura 4. Contenido de humedad en el suelo (CHS) para las dos condiciones de riego. El tramo de la línea continua azul 0-24 h indica el CHS en la parcela con RN y el tramo de la línea continua azul 0-96 h indica el CHS en la parcela con DH. UCR: umbral crítico de riego para la cebolla (Duarte et al., 2012). CRA: capacidad máxima de retención de agua.

Grados-día y radiación acumulada de *A. cepa*

Los grados-día acumulados y la radiación global acumulada para el cultivo de cebolla bajo condiciones de RN en cada fase fenológica se observan en la Figura 5.

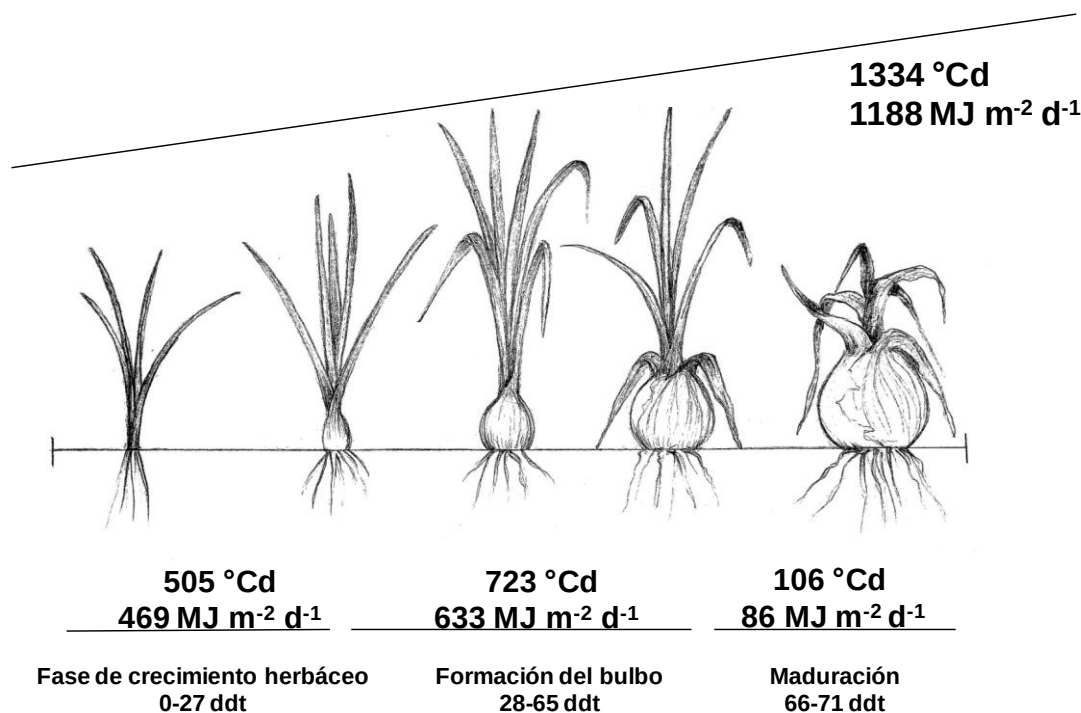


Figura 5. Fenología, grados-día acumulados ($^{\circ}\text{Cd}$), y radiación global acumulada ($\text{MJ m}^{-2}\text{ d}^{-1}$) para el cultivo de *A. cepa* solo para la condición de RN 100% requerimiento hídrico (control de producción 100% NPK no inoculado).

La duración del ciclo en el híbrido de cebolla utilizado (F1 2000) fue 71 ddt. Se determinó que para el término del cultivo el índice térmico GDA fue $1334\text{ }^{\circ}\text{Cd}$. La radiación acumulada para el cultivo fue $1187,6\text{ MJ m}^{-2}\text{ d}^{-1}$, con un promedio diario de $16,5\text{ MJ.m}^{-2}\text{ d}^{-1}$ (Figura 5). Se observó también que los bulbos de las plantas del tratamiento 100% NPK no inoculado en DH hubieran podido ser cosechados a los 59 ddt (12 días antes de la fecha en la que se realizó la cosecha). Mientras que, con el tratamiento 0% NPK + CM se observó un retraso en la fase de maduración en ambas condiciones de riego.

Rendimiento y eficiencia del uso del agua en *A. cepa*

En la Tabla 4 se muestra el rendimiento de la cebolla en condiciones de RN y DH. De acuerdo con la lámina de riego, la condición de DH correspondió a un aproximado del 66,7 % del requerimiento hídrico del cultivo, o en otras palabras, del riego. De acuerdo al cálculo del agua aplicada según las fases fenológicas mostradas en la Figura 4, las láminas de riego (mm) en la fase de crecimiento herbáceo, formación del bulbo, y maduración fueron 90,04; 101,90; 0 con RN, mientras que con DH fueron 81,07; 47,08; 0, respectivamente. Además, la EUA_r por el tratamiento DH fue 47 % más que en RN, en los tratamientos no inoculados. Esto representó un ahorro de agua del 35 % aproximadamente.

En cuanto al número total de riegos fueron 37 en RN y 20 en DH, lo que supone una frecuencia de riego del 54,1 % durante el ciclo para DH, es decir que se regó apenas un poco más de la mitad de veces que para RN.

Tabla 4. Rendimiento del bulbo, eficiencia del uso del agua de riego (EUA_r) y otros parámetros bajo condiciones de riego normal (RN) y déficit hídrico (DH).

Condición de riego	Número total de riegos	Lámina de riego total (mm)	Fertilización	Rendimiento (t ha ⁻¹)	EUA_r (kg m ⁻³)
RN	37	192.03	0 % NPK + CM	23.96 ± 2.46 d	12.5 ± 1.28 d
			50 % NPK + CM	35.0 ± 2.02 abc	18.2 ± 1.05 bc
			100 % NPK + CM	28.37 ± 6.07 cd	14.8 ± 3.16 cd
			100 % NPK No inoculado (control de producción)	36.40 ± 4.46 a	19.0 ± 2.32 bc
DH	20	128.21	0 % NPK + CM	25.35 ± 4.39 d	19.8 ± 3.43b
			50 % NPK + CM	28.70 ± 1.98 bcd	22.4 ± 1.55 b
			100 % NPK + CM	29.30 ± 5.80 abcd	22.9 ± 4.52 b
			100 % NPK No inoculado	35.71 ± 3.97 a	27.9 ± 3.09 a

Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$), ± indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria 100% demanda hídrica. DH= frecuencia de riego cada tres días 66,7% demanda de riego. CM= consorcio microbiano.

El rendimiento obtenido fue de 36 t ha⁻¹ y representó el 90 % del rendimiento potencial según el requerimiento de nutrientes previsto. Asimismo, el rendimiento de la

cebolla sometida a DH fue similar al del tratamiento con RN ($P>0,05$), mostrando entonces que el DH no disminuyó el rendimiento de la cebolla, y logró un importante ahorro de agua del 33,7 %, en condiciones no limitantes de nutrientes. De la misma forma, el déficit hídrico parece no haber afectado ni la absorción ni el transporte de nutrientes en la cebolla, ya que además, entre ambos tratamientos (RN y DH) no se presentaron diferencias ($P>0,05$) al menos en el contenido de N foliar y en bulbos (datos no mostrados; ver Capítulo 6). El rendimiento obtenido con el tratamiento 50 % NPK + CM bajo condiciones no limitantes de agua (RN), fue similar al tratamiento control de producción, lo que indicó que con el uso de los microorganismos en condiciones no limitantes de agua se logra obtener el mismo rendimiento con el ahorro del 50 % de NPK. La aplicación del 100 % NPK + CM con RN redujo significativamente el 22,06 % del rendimiento, mostrando así que la disponibilidad exagerada de nutrientes desfavoreció la producción. Pero, en condiciones de DH la presencia del CM redujo la producción entre 19,5 % y 30,36 % con respecto al control de producción, y también disminuyó la EUA_r. El menor rendimiento se obtuvo con el tratamiento 0% NPK + CM con RN. En general, el híbrido de cebolla F1 2000 resultó resistente al DH inducido por la aplicación de una menor frecuencia de riego.

DISCUSIÓN

www.bdigital.ula.ve

Influencia del contenido de humedad en el suelo sobre el cultivo

Como se mencionó en la introducción, el cultivo de cebolla sufre estrés hídrico por debajo de 45 % del CHS (Duarte et al., 2012). En consecuencia, claramente el tratamiento DH se encontró sometido a un déficit hídrico durante todo el ciclo en cada intervalo de riego.

Otros investigadores han analizado el efecto del estrés hídrico sobre el cultivo de cebolla midiendo de forma análoga a nuestro trabajo el estatus hídrico del suelo. Ghodke et al. (2018) encontraron una reducción del CHS entre 10 % y 17 % con el tratamiento de suspensión de riego durante 40 días continuos a partir de los 45 ddt, en comparación con el riego normal, a lo que indican un moderado estrés por sequía de acuerdo a la reducción del contenido relativo hídrico foliar. Por esta razón, consideramos que el estrés hídrico inducido en nuestro trabajo al que estuvo sometido el cultivo de cebolla fue mucho mayor.

Asimismo, Estrada-Prado et al. (2015) determinaron el CHS con la aplicación de los niveles de humedad 100 %, 75 % y 50 % de capacidad de campo, y encontraron que estaban representados en el suelo por 67,75 %, 50,81 %, y 33,87 % de CHS, respectivamente. Este resultado es similar a nuestro trabajo, con lo que podemos inferir que

el estrés hídrico inducido en nuestra investigación se mantuvo aproximadamente entre el 61 % y 17,4 % de capacidad de campo entre cada episodio de riego, lo que representó un estrés severo.

Integral térmica de *A. cepa*

La duración del ciclo del cultivo fue corta con respecto a otras variedades o híbridos. El índice térmico GDA se puede establecer en una determinada localidad dependiendo de las características propias de temperatura media diaria o mensual de la zona, con fines de planificación agrícola. Además, dependiendo de la variedad o cultivar de cebolla utilizado, la acumulación de grados-día puede ser menor o mayor (Saluzzo et al., 1998). Igualmente, la duración del ciclo en otra localidad dependerá de la radiación promedio diaria de esa zona determinada.

En este sentido, Tascón et al. (2011) reportaron una sumatoria térmica similar a la de nuestra investigación, en donde la cebolla presentó rendimientos óptimos con una sumatoria (grados/día) superior a 1300 °C-día, independientemente si el trasplante se realizó en enero o en abril. En dicho estudio, las variedades de cebolla morada de Tenerife con mayor rendimiento fueron Carrizal Bajo, Carrizal Alto, Guayonje, y cebolla amarilla variedad La Palma. El rendimiento óptimo alcanzado estuvo entre 67.000 a 109.000 kg ha⁻¹ alcanzado entre los 117 y los 169 ddt. Al respecto, estos mismos investigadores proponen que el rendimiento parece estar asociado al factor temperatura media en cuanto a días con temperatura media <17 °C, lo cual produce un ciclo más largo pero incrementa el rendimiento. Asimismo, los GDA obtenidos para el inicio de la bulbificación en la presente investigación (505 °Cd), son similares a los obtenidos por Tesfay et al. (2011), quienes determinaron 597 °Cd para la inducción de la bulbificación en tres variedades de cebolla de día corto con 12 h luz y 35-18 °C pero condiciones controladas; por lo tanto, en condiciones de naturales, la cebolla podría alcanzar esta fase cuatro días antes aproximadamente.

Por otra parte, hasta este momento es difícil encontrar los valores de radiación requerida para el cultivo de cebolla, pero el valor promedio diario obtenido se considera como una radiación óptima para el desarrollo de cultivos según INTAGRI (2020); especialmente el obtenido es similar a la mínima radiación requerida por el cultivo de hortalizas como el pepino para no tener pérdidas en el rendimiento, y mayor que la requerida por el pimentón y el tomate. Sin embargo, para otros cultivos de monocotiledóneas sí se ha reportado la radiación global acumulada por ejemplo para el maíz a razón de 3654.7 MJ m⁻² d⁻¹ (Díaz-López et al., 2013).

Efecto del déficit hídrico sobre el rendimiento y la eficiencia del uso del agua en *A. cepa*

La lámina de riego total aplicada presentó valores acordes con el requerimiento hídrico de la cebolla determinado mediante lisímetro (Castro et al., 2009), lo que indica que la cantidad de agua de riego aplicada estuvo en consonancia con su demanda hídrica. De acuerdo con Temesgen et al. (2018), la demanda neta de riego calculada sería equivalente al requerimiento hídrico del cultivo representado por la evapotranspiración del cultivo (ET_c), por lo tanto, en DH el 66,7 % de la demanda de riego representaría 0,67 ET_c o 67% ET_c, mientras que en RN el 100 % correspondería a 1,0 ET_c o 100% ET_c. Asimismo, el volumen de agua total aportado fue al menos 58 % menor al volumen usado durante el ciclo de cultivo de cebolla a partir de riego por surcos en Quíbor, estado Lara, Venezuela (López y Dennett, 2007), destacando así los beneficios de usar riego por goteo. Igualmente, la lámina total de riego en ambas condiciones fue menor que la del rango reportado por Pérez-Ortolá y Knox (2014) para la cebolla, indicando además, que la demanda hídrica también depende de la variedad o híbrido de *A. cepa*; aunado a que en la presente investigación se utilizó menor volumen de agua, porque se suspendió el riego durante la fase de maduración hasta la cosecha.

El rendimiento obtenido fue similar a los reportados en los principales países productores de cebolla (Japón 44,1 t ha⁻¹, Egipto 36,7 t ha⁻¹, Holanda 36,3 t ha⁻¹, Algeria 29,6 t ha⁻¹). El rendimiento fue considerablemente superior al rendimiento de 21 t ha⁻¹ reportado en Venezuela y otros países (FAO, 2020a). Es decir, que con el requerimiento nutricional planteado y la dosis aplicada de fertilizante en esta investigación es posible incrementar la producción en el cultivo de la cebolla. Ahora bien, contrario al presente trabajo, en otros estudios se ha observado que la cebolla es una planta muy sensible al estrés hídrico (Bosh, 1999; Kumar et al., 2007; Patel y Rajput, 2013; Rao, 2016; Khokhar, 2018), y que la disminución de la humedad en el suelo entre 75-50 % produce una disminución en el peso de los bulbos entre 46 % y 62,7 % (Estrada-Prado et al., 2015). Mugoro et al. (2020) obtuvieron una reducción del 18 % del rendimiento con la disminución del 30 % del requerimiento hídrico del cultivo de cebolla, aunque hubo un ahorro de agua; y con el 50 % del requerimiento hídrico hubo una pérdida de rendimiento considerable del 29 % comparado con el 100% del requerimiento hídrico del cultivo. Estos autores reportaron un rendimiento de 21,3 t ha⁻¹, el cual también es menor al rendimiento conseguido en la presente investigación. Igualmente, la EUA_r fue 18 % mayor con el requerimiento hídrico 70 % que con el requerimiento 100 %, la cual también fue menor a la EUA_r obtenida en el presente trabajo.

Abdelkhalik et al. (2019) consiguieron un bajo rendimiento y menores ganancias para los productores con la aplicación de riego deficitario correspondiente al 75 % del

requerimiento hídrico de la cebolla (10.3 % y 10.9 % menos, respectivamente). No obstante, el ahorro del agua fue importante (26,6 %), mejorando así la EUA_r de riego para la cebolla cultivar Hamaemi (cebolla amarilla adaptada a condiciones mediterráneas). En este sentido, la EUA_r para un 100% de riego fue $17,64 \text{ kg.m}^{-3}$, un valor cercano al de nuestra investigación con RN, pero que solo representó un 3% menos EUA_r que con el tratamiento del riego deficitario en dicha investigación. Similar a nuestro trabajo, Abdelkhalik et al. (2019) observaron una reducción de 12 días en la duración del ciclo con la condición de riego deficitario. En consecuencia, se puede considerar que el estrés hídrico es un factor que adelanta la maduración de la cebolla.

Sin embargo, Temesgen et al. (2018) en Etiopía, usaron cebolla morada bombay red con una estrategia de riego en la que no aplicaron agua durante los 15 primeros ddt (etapa inicial) y luego aplicaron el 75 % del riego durante todo el cultivo, y consiguieron un ahorro del 33,6 % de agua, con una disminución solo del 7,5 % del rendimiento en comparación al tratamiento control ($P>0,05$). Adicionalmente, ellos reportaron un incremento de 40 % en la EUA_r . Pero, a pesar de que sus resultados son similares a los mostrados en el presente trabajo, los beneficios encontrados en la presente investigación muestran una mayor EUA_r con la frecuencia de riego cada tres días a partir de los 20 ddt.

En la necesidad de explicar la similitud del rendimiento entre ambas condiciones de riego obtenido en el presente trabajo, y con base en Chapin et al. (2002) y Azcón-Bieto y Talón (2013), es posible plantearse dos hipótesis: a) la disponibilidad limitada de fertilizantes disueltos o asimilables entre cada episodio de riego en DH indujo una mayor eficiencia del uso de nutrientes en la planta, lo que contribuyó a una rápida absorción y asimilación de estos, y b) la falta de disponibilidad de agua entre cada episodio de riego en DH permitió una mayor concentración de nitratos en el suelo que promovió la actividad nitrato reductasa y con esto la incorporación al menos de N a la planta en condiciones no limitantes de nutrientes, y por ello su rendimiento fue similar al tratamiento RN. Aunado a esto, en condiciones de DH posiblemente existió un incremento en la temperatura del suelo, lo que pudo haber contribuido a una mayor actividad enzimática en este a nivel de la rizósfera y por ende una mayor absorción de nutrientes (Navarro, 2003), que compensó la falta de nutrientes disueltos con relación al tratamiento RN.

La tolerancia a la sequía de una determinada especie vegetal, en este caso la cebolla, podría estar relacionada con una mayor actividad enzimática del suelo junto con los exudados radicales, los cuales pueden estar influenciados por el estrés hídrico, como se presentó para el caso de otra monocotiledónea como el maíz híbrido Baidan 9 (Song et al., 2012). En este aspecto, es importante mencionar que el suelo de la parcela utilizada en este trabajo presentó una alta actividad enzimática nativa (datos no mostrados; Capítulo 5).

Efecto de los microorganismos sobre el rendimiento de *A. cepa*

Investigaciones previas mostraron el efecto PCV de los microorganismos utilizados en esta investigación sobre cebolla y otras especies vegetales en condiciones *in vitro*, y umbráculo. En el presente estudio en condiciones de campo, el efecto biofertilizante obtenido en condiciones no limitantes de agua con el CM ME01 + Leu2A (*Rhizobium tropici* y *Bradyrhizobium japonicum*), pudo deberse a la capacidad que tienen estas cepas para producir ácido indol acético, disolver fosfatos, favorecer la producción de clorofila, aumentar el contenido de N foliar, presentar actividades ureasa y nitrato reductasa positivas, e incrementar la actividad fotosintética (Marquina et al., 2018; Blanco et al., 2018; Blanco et al., 2021). Otros estudios han reportado resultados similares con el uso de CM en cebolla al lograr reducir el 50% NPK con la aplicación de vermicompost y un CM de *Azospirillum* + *Azotobacter* así como una mejor relación costo/beneficio (Jayathilake et al., 2003); mientras que más recientemente, Krestini et al. (2020) reportaron un mayor rendimiento con el uso del 50 % NPK + un consorcio de *Azospirillum* + *Azotobacter* en ajo, siendo esta una especie muy relacionada con la cebolla.

Por otro lado, y a pesar del bajo rendimiento obtenido con los tratamientos inoculados con el 0% de NPK con respecto al rendimiento óptimo alcanzado, este rendimiento fue similar al reportado por la FAO (2020a) para Venezuela y otros países (21 t ha⁻¹). El resultado obtenido en este tratamiento se corresponde con el resultado obtenido por Mahala et al. (2018), quienes demostraron que sin fertilizantes químicos y solo con la inoculación de bacterias disolventes de fosfato + *Azospirillum* se logra un incremento de hasta el 46% en el rendimiento, además de una mayor calidad nutricional del bulbo con respecto a las plantas no inoculadas. Por lo tanto, el consorcio microbiano propuesto en la presente investigación se presenta como una alternativa agroecológica, además del uso de insumos biológicos autóctonos para la producción de cebolla, especialmente para el híbrido F1 2000 usado en este trabajo, y con el que se puede ahorrar el 100 % de fertilizantes inorgánicos y conseguir un rendimiento igual al promedio a nivel nacional. Vale acotar que este efecto sobre el rendimiento de la cebolla sería causado únicamente por el consorcio microbiano ME01+Leu2A ya que sus características como PCV se mostraron desde la producción de plántulas de *Allium cepa* (Blanco et al., 2021), en donde se observó que la aplicación del consorcio microbiano en este mismo suelo en condiciones de umbráculo incrementó una serie de variables como el número de hojas, el diámetro de la base del pseudotallo, la longitud de la parte aérea y de raíz, peso fresco y peso seco tanto de la parte aérea como de la raíz, y la tasa de asimilación de CO₂, con respecto al tratamiento control no inoculado. Contrario a lo que se esperaba, en la presente investigación en condiciones de estrés hídrico los microorganismos inoculados causaron un efecto negativo sobre el rendimiento de cebolla, el cual pudo deberse a una mayor tasa de transpiración mostrada en las plantas inoculadas que incidió directamente en la pérdida de agua del cultivo (datos no

mostrados, ver Capítulo 4). Con base en los resultados obtenidos, se puede producir un biofertilizante de amplio rango de acción para conseguir buenos rendimientos, y el ahorro en costos de producción del cultivo de cebolla en condiciones no limitantes del recurso hídrico utilizando biotecnología amigable con el ambiente.

En este estudio se propone un ahorro sustancial del 35 % de agua, para una obtención del mismo rendimiento que con el uso del riego completo, lo que incide en una aplicación del 65 % del riego requerido por el cultivo de cebolla para el híbrido F1 2000 especialmente. Esto representa un déficit menor que 50 % del requerimiento hídrico en donde con este último ya se han reportado pérdidas significativas del cultivo a pesar del ahorro de agua. Y por otra parte, se propone la sustitución del 50% de fertilizante NPK con el uso del CM ME01+Leu2A en cebolla en condiciones no limitantes de agua, obteniendo el mismo rendimiento que con 100% NPK. Es notorio, que la diferencia en rendimiento y EUA_r también podría depender del híbrido o variedad de cebolla utilizado, a su resistencia a la sequía, así como de las dosis de fertilizantes y la densidad de siembra aplicada. En todo caso, no es recomendable comenzar la aplicación del riego deficitario durante el periodo de bulbificación por ser este el período crítico del cultivo y en donde se absorbe el 47 % de su requerimiento hídrico (Castro et al., 2009), porque podría reducir entre 30 % y 45 % el rendimiento (Temesgen et al., 2018), sino comenzar su aplicación en la etapa fenológica anterior para permitir que el cultivo de cebolla desarrolle mecanismos fisiológicos en respuesta al estrés hídrico. De esta manera, se propone la presente metodología de riego como una estrategia de producción para el cultivo de cebolla en el híbrido F1 2000 en condiciones de limitación de agua disponible para riego, teniendo en cuenta su aplicación luego del período de establecimiento en campo (20 ddt) y de esta forma no afectar el rendimiento. De esta forma, se puede incrementar la producción regional y nacional especialmente, así como incrementar el área de siembra en el país bajo condiciones abióticas similares a las detalladas en el presente trabajo, de esta manera cumpliendo con la seguridad agroalimentaria para este rubro, sobre todo en un escenario de cambio climático y constante crecimiento demográfico.

CONCLUSIONES

La integral térmica determinada para el ciclo de cebolla permitirá establecer la duración del ciclo en condiciones similares de cultivo en otras zonas semi-áridas dentro o fuera del territorio venezolano. La dosis óptima de fertilización aplicada no limitó el rendimiento aun en condiciones de estrés hídrico, y fue superior a la producción nacional reportada por fuentes oficiales. El biofertilizante permitió ahorrar la mitad de la dosis de fertilización inorgánica en condiciones no limitantes de agua, pero en condiciones de estrés hídrico el biofertilizante redujo la EUA_r y el rendimiento. En la presente investigación, el híbrido de cebolla F1 2000 resultó tolerante al déficit hídrico, mostrando un rendimiento similar con respecto al riego normal y una mayor EUA_r . El uso de variedades o híbridos

que se adapten al estrés hídrico en ensayos de este tipo es esencial para así disminuir pérdidas de producción. Se recomienda incluir esta práctica a nivel de productores como una estrategia eficiente y sostenible en Venezuela para el cultivo de cebolla.

REFERENCIAS

- Abdelkhalik, A., Pascual-Seva, N., Nájera, I., Domene, M.A., Baixauli, C., Pascual, B., 2019. Effect of deficit irrigation on the productive response of drip-irrigated onion (*Allium cepa* L.) in Mediterranean conditions. Hort. J. 88 (4), 488–498. <https://doi.org/10.2503/hortj.UTD-081>.
- Allen, R., Pereira, L. Raes, D. Smith, M., 2006. Evapotranspiración del cultivo. Guías para la determinación de los requerimientos de agua de los cultivos. Estudio FAO Riego y Drenaje. Documento FAO 56. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, 323 p.
- Aroca, R., Ruiz-Lozano, J.M., 2009. Induction of plant tolerance to semi-arid environments by beneficial soil microorganisms – a review. En: Lichtfouse E. (Eds.), Climate Change, Intercropping, Pest Control and Beneficial Microorganisms, Sustainable Agriculture Reviews 2. Springer, Dordrecht, pp. 121-135. https://doi.org/10.1007/978-90-481-2716-0_7.
- Ataroff, M., Sarmiento, L., 2004. Las unidades ecológicas de Los Andes de Venezuela. In: La Marca, E., Soriano, P. (Eds), Reptiles de Los Andes de Venezuela. Fundación Polar, Codepre-ULA, Fundacite-Mérida, BIOGEOS, Mérida, Venezuela, pp. 11-26.
- Azcón-Bieto, J., Talón, M., 2013. Fundamentos de Fisiología Vegetal. 2da ed. Mc Graw Hill. Barcelona. 651 p.
- Bekele, S. Tilahun, K., 2007. Regulated deficit irrigation scheduling of onion in a semiarid region of Ethiopia. Agricult. Water Manag. 89, 148-152. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2007.01.002>
- Blanco, C., Lagos, J., 2017. Manual de producción de cebolla. Instituto de Desarrollo Agropecuario. Boletín INIA N° 15. Santiago, Chile, 104 p.
- Blanco, E.L., Marquina, M.E., Castro, Y., 2013. Respuestas a la aplicación de carbamatos en dos aislados rizobianos provenientes de Mucuchíes, estado Mérida, Venezuela. Bioagro 25 (2), 117-128.
- Blanco, E.L., Castro, Y., Olivo, A., Skwierinski, R., Moronta Barrios, F., 2018. Germinación y crecimiento de plántulas de pimentón y lechuga inoculadas con rizobios e identificación molecular de las cepas. Bioagro 30 (3), 207-218.
- Blanco, E.L., Reyes, I., 2018. Aplicación de un biosustrato compuesto por microorganismos y roca fosfórica sobre el cultivo de dos variedades de lechuga (*Lactuca sativa* L.) [Application of a biological substrate mixture composed by microorganisms and rock phosphates to two lettuce cultivars (*Lactuca sativa* L.)]. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 35: 408-434.

- Blanco, E.L., Rada, F., Castro, Y., Paolini, J., 2021. Selección de un consorcio microbiano promotor del crecimiento de plántulas de cebolla en condiciones de umbráculo [Selection of a growth promoter microbial consortium in onion seedlings under shade-house conditions]. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 38(2): 301-321.
- Blanco, E.L., Castro, Y., 2021. Antagonismo de rizobacterias sobre hongos fitopatógenos, y su actividad microbiana con potencial biofertilizante, bioestimulante y biocontrolador. *Rev. Col. Biotecnol.* 23(1): 6-16. DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v23n1.84808.
- Bosh, A., 1999. Bases ecofisiológicas de la producción de la cebolla (*Allium cepa* L.): aportaciones para la mejora de las técnicas de cultivo en el Pla d'Urgell (Lleida). Tesis Doctoral. Universidad de Lleida, España. <http://www.tdx.cat/handle/10803/8228> (consulta del 03/05/2020).
- Castro, Y., Blanco, E.L., 2018. Estimación del contenido de clorofila y nitrógeno en plantas de pimentón inoculadas con bacterias rizosféricas. *Revista Científica UNET* 30 (1), 105-112. https://www.researchgate.net/publication/328732165_.
- Castro, H., Cely, G. Vásquez, S., 2009. Criterios técnicos para un manejo eficiente del riego en cebolla de bulbo. Distrito de riego del Alto Chicamocha-Boyacá. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja, Colombia. 187 p.
- Chapin, F.S. III, Matson, P., Mooney, H.A., 2002. Principles of terrestrial ecosystem ecology. Springer, New York, 435 p.
- Díaz-López, E., Loeza-Corte, J.M., Campos-Pastelín, J.M., Morales-Rosales, E.J., Domínguez-López, Franco-Mora, A. O., 2013. Eficiencia en el uso de la radiación, tasa de asimilación neta e integral termina en función del fósforo en maíz (*Zea mays* L.). *Agrociencia* 47, 135-146.
- Díaz-López, E., Campos-Pastelín, J.M., Morales-Ruiz, A., Salgado-Benítez, G., Castillo-Vilchis, A., Gil-Gil, H., 2012. Uso equivalente de la tierra en la combinación frijol ejotero-girasol en Toluca, México. *Ciencias Agrícolas Informa* 21 (2), 86-96.
- Duarte, C.E., Zamora, E.I., León, M., 2012. Efecto del coeficiente de estrés hídrico sobre los rendimientos del cultivo de cebolla. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias* 21 (4), 42-47.
- Estrada-Prado, W., Lescay-Batista, E., Álvarez-Fonseca, A., Maceo-Ramos, Y.C., 2015. Niveles de humedad en el suelo en la producción de bulbos de cebolla. *Agron. Mesoam.* 26 (1), 111-117. <https://doi.org/10.15517/am.v26i1.16934>.
- FAO, 2020a. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>. (consulta del 30/04/2020).
- FAO, 2020b. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/water/es/> (consulta del 30/04/2020).
- Fernández, M.E., Gyenge, J.E., 2010. Técnicas de medición en ecofisiología vegetal: conceptos y procedimientos. Ediciones INTA. Argentina. 140 p.
- Ferreira, E., Selles, G., 1997. Manejo del riego en condiciones de restricción hídrica. Ministerio de agricultura. Serie la platina N°67, Santiago de Chile, Chile, 36 p.

- Ghodke, P.H., Andhale, P.S., Gijare, U.M., Thangasamy, A., Khade, Y.P., Mahajan, V., Singh, M., 2018. Physiological and biochemical responses in onion crop to drought stress. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7 (1): 2054-2062. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.701.247>.
- Gómez, M.I., Castro, H.E., Gómez, C.J., Gutiérrez, O.F., 2007. Optimización de la producción y calidad en cebolla cabezona (*Allium cepa*) mediante el balance nutricional con magnesio y micronutrientes (B, Zn y Mn), Valle Alto del Río Chicamocha, Boyacá. *Agronomía Colombiana* 25 (2): 339-348.
- Guzmán-Pérez, J.E. 1988. Cultivo del ajo y la cebolla. Espasande S.R.L. Editores. Serie agrícola vegetal N° 9. Caracas, Venezuela, 160 p.
- Hassan, Q., Bourque, Ch., Meng, F.R., Richards, W., 2007. Spatial mapping of growing degree days: an application of MODIS-based surface temperatures and enhanced vegetation index. *Journal of Applied Remote Sensing* 1, 013511. <https://doi.org/10.1117/1.2740040>.
- Homeck, D.A., 2004. Nutrient Management for Onions in the Pacific Northwest. *Better Crops*. 88 (1), 14-16. [http://www.ipni.net/publication/ia-lahp.nsf/0/B007C723_F50AED6B852579A3006D55CC/\\$FILE/Inf-Agr%2061.pdf](http://www.ipni.net/publication/ia-lahp.nsf/0/B007C723_F50AED6B852579A3006D55CC/$FILE/Inf-Agr%2061.pdf) (consulta del 15/01/2017).
- INTAGRI, 2020. Instituto para la Innovación Tecnológica en Agricultura. Importancia de la radiación solar en la producción bajo invernadero. <https://www.intagri.com/articulos/horticultura-prottegida/importancia-de-la-radiacion-solar-en-la-produccion-bajo-invernadero> (consulta del 04/04/2020).
- Jayathilake, P.K.S., Reddy, I.P. Srihari, D., Reddy, K.R., Neeraja, G., 2003. Integrated nutrient management in onion (*Allium cepa* L.). *Tropical Agricultural Research* 15: 1-9.
- Khokhar, K.M., 2018. A short review on “water management in onion”. *Trends Tech. Sci. Res.* 2 (1): 555580. DOI: 10.19080/TTSR.2018.02.555580.
- Klute, A., 1986. Methods of soil analysis. Part I. 2nd ed. ASA. Monogr. No. 9, ASA and SSSA, Madison, WI.
- Krestini, E.H., Susilawati, A., Hermanto, C., 2020. Effect of NPK fertilizer and microbial consortium to growth and production of garlic (*Allium sativum* L.). *BIO Web of Conferences* 20, 03010. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20202003010>.
- Kumar, S., Imtiyaz, M., Kumar, A., Singh, R., 2007. Response of onion (*Allium cepa* L.) to different levels of irrigation water. *Agricult. Water Manag.* 89: 161-166. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2007.01.003>.
- López, J., Dennett, M., 2007. Estimación del uso del agua en el cultivo de cebolla (*Allium cepa* L.) en las condiciones de Quíbor, estado Lara, Venezuela. *Bioagro*, 19 (3), 127-132.
- Mahala, P., Chaudhary, M.R., Garhwal, O.P., 2018. Yield and quality of rabi Onion (*Allium cepa* L.) influenced by integrated nutrient management. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 7 (5): 3313-3321. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.705.387>.
- Maroto, J.V., 2000. Horticultura herbácea especial. 4ta ed. Ediciones Mundi – Prensa. España, pp. 215: 221, 234, 235.

- Márquez, R., Blanco, E.L., Aranguren, Y., 2020. *Bacillus* strain selection with plant growth-promoting mechanisms as potential elicitors of systemic resistance to gray mold in pepper plants. Saudi J. Biol. Sci. 27 (8): 1913-1922. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.06.015>.
- Marquina, M.E., González, N.E., Castro, Y., 2011. Caracterización fenotípica y genotípica de doce rizobios aislados de diversas regiones geográficas de Venezuela. Rev. Biol. Trop. 59(3): 1017-1036.
- Marquina, M.E., Ramírez, Y., Castro, Y., 2018. Efecto de bacterias rizosféricas en la germinación y crecimiento del pimentón *Capsicum annuum* L. var. Cacique gigante. Bioagro 30 (1): 3-16.
- Mitchell, P.D., Jerie, P.H., Chalmers, D.J., 1984. The effects of regulated water deficits on pear tree growth, flowering, fruit growth, and yield. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 109 (5): 604-606.
- Mohammadi, K., Sohrabi, Y., 2012. Bacterial biofertilizers for sustainable crop production: a review. ARPN J. Agric. Biol. Sci. 7 (5): 307-316.
- Mugoro, T., Assefa, S., Getahun, A., 2020. Effect of deficit irrigation on yield and water productivity of onion (*Allium cepa* L.) under conventional furrow irrigation system, in Bennatsemay Woreda, Southern Ethiopia. J. Agric. Biol. Eng. 181: 2-13.
- Navarro, G., 2003. Química agrícola. Ediciones Mundi-Prensa. 2da ed. Madrid, España, 487 p.
- Olivares-Campos, B.O., Hernández, R.A., Arias-Valdespino, A.A., Molina-Trigos, J.C., Pereira-Bravo, Y.V., 2018. Identificación de zonas agroclimáticas potenciales para producción de cebolla (*Allium cepa* L.) en Carabobo, Venezuela. J. Selva Andina Biosph. 6(2): 42-54.
- Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R., 1982. Methods of soil analysis Part 2 – Chemical and Microbiological Properties 2nd ed. Agronomy Series 9 (Part 2). ASA Inc. and Soil Science of America, Inc., Madison, WI.
- Parray, J.A., Jan, S., Kamili, A.N., Qadri, R.A., Egamberdieva, D. Ahmad, P., 2016. Current perspectives on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. J. Plant Growth Regul. 35: 877-902. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9583-4>.
- Patel, N., Rajput, T.B.S., 2013. Effect of deficit irrigation on crop growth, yield and quality of onion in subsurface drip irrigation. International Journal of Plant Production 7 (3): 417-436.
- Pawar, S.T., Bhosale, A.A., Gawade, T.B., Nale, T.R., 2013. Isolation, screening and optimization of exopolysaccharide producing bacterium from saline soil. J. Microbiol. Biotech. Res. 3 (3): 24-31.
- Pérez-Ortolá, M., Knox, J.W., 2014. Water relations and irrigation requirements of onion (*Allium cepa* L.): a review of yield and quality impacts. Exp. Agric. 51 (02): 2010-231. <https://doi.org/10.1017/S0014479714000234>.
- Pla, I., 1983. Metodología para la caracterización física con fines de diagnóstico de problemas de manejo y conservación de suelos en condiciones tropicales. Revista de la Facultad de

- Agronomía, U.C.V. Alcance 32. Maracay, Venezuela. 91p. Facultad de Agronomía, U.C.V. Alcance 32. Maracay, Venezuela. 91p.
- Rao, N.K.S., 2016. Onion. En: Rao et al. (Eds). Abiotic stress physiology of horticultural crops. Springer, India, pp. 133-149. DOI 10.1007/978-81-322-2725-0_8.
- Rawson, H., Gómez, H., 2001. Trigo regado. Sección 6. Explicaciones sobre el desarrollo de la planta. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. 3 p. <http://www.fao.org/3/x8234s/x8234s0b.htm> (consulta del 04/04/2020).
- Rázuri-Ramírez, L., Romero, E., Galindo-Rodríguez, A., Hernández, J.D., Rosales, J.D. Linares, J., 2005. Efecto de la densidad de siembra sobre el rendimiento de la cebolla, variedad americana, con riego por goteo, en el Valle de Quibor. Agricultura Andina 10 (extraordinario): 9-22.
- Saluzzo, J.A., Hernández, G., Rattin, J., Mireve, J.P., Tognetti, J., 1998. Fenología, producción y conservación post-cosecha de diferentes cultivares de cebolla en el sudeste de Buenos Aires. Rev. Facultad de Agronomía 18 (1-2): 73-80.
- Sánchez, B., Torrecillas, A., 1995. Aspectos relacionados con la utilización de estrategias de riego deficitario controlado en cultivos leñosos. En: M. Zapata y M. Segura (Eds), Riego deficitario controlado. Editorial Mundi Prensa, Madrid, 43-63 p.
- Semida, W.M., Abd El-Mageed, T.A., Mohamed, S.E., El-Sawah, N.A., 2017. Combined effect of deficit irrigation and foliar-applied salicylic acid on physiological responses, yield, and water use efficiency of onion plants in saline calcareous soil. Archives of Agronomy and Soil Science 63 (9): 1227-1239. <https://doi.org/10.1080/03650340.2016.1264579>.
- Silva, F. 1988. Fertilidad de suelos. 3ra ed. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. Bogotá, Colombia, 473 p.
- Song, F., Han, X., Zhu, X., Herbert, S.J., 2012. Response to water stress of soil enzymes and root exudates from drought and non-drought tolerant corn hybrids at different growth stages. Can. J. Soil Sci. 92: 501-507. <https://doi.org/10.4141/cjss2010-057>.
- Statistical Graphics Corporation. 2002. Statgraphics *Plus* Versión 5.1.
- Taiwo, L.B., Oyedele, A.O., Ailenokhuoria, B.V., Okareh, O.T., 2019. Plant-Microbes Relationships in soil ecological system and benefits accruable to food health. En: D.K. Maheshwari and S. Dheeman (Eds.), Field Crops: Sustainable Management by PGPR. Sustainable Development and Biodiversity 23. Springer, Cham, pp. 177-190.
- Tascón, C., Méndez, D. F., Díaz, C., Amador, S., Cruz, B., Ríos, D., 2011. Ensayo de cebollas de variedades locales de Canarias II. Información técnica. Ediciones Cabildo Tenerife. Servicio técnico de agricultura y desarrollo rural. Área de agricultura, Ganadería, Pesca y Aguas. Tenerife, España. 16 p.
- Temesgen, T., Ayana, M., Bedadi, B., 2018. Evaluating the effects of deficit irrigation on yield and water productivity of furrow irrigated onion (*Allium cepa* L.) in Ambo, Western Ethiopia. Irrigat. Drainage Sys. Eng. 7: 203. DOI: 10.4172/2168-9768.1000203.

- Tesfay, S.Z., Bertling, I., Odindo, A.O., Greenfield, P.L., Workneh, T.S., 2011. Growth responses of tropical onion cultivars to photoperiod and temperature based on growing degree days. *Afr. J. Biotechnol.* 10 (71): 15875-15882. DOI: 10.5897/AJB11.983.
- USDA United States Department of Agriculture. 2020. https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/survey/class/maps/?cid=nrcs142p2_053594 (consulta del 17/06/2020).
- Vincent, J. M., 1975. *Manual práctico de rizobiología*. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires. 74 p.
- Yzarra, W., López, F., 2011. *Manual de observaciones fenológicas*. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología. Perú, 97 p.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO 4

Efecto de un consorcio microbiano sobre las relaciones hídricas y el intercambio gaseoso de *Allium cepa* L. bajo condiciones de déficit hídrico y nutricional

RESUMEN

La acción sinérgica de consorcios microbianos promotores del crecimiento vegetal es una de las biotecnologías más utilizadas en la última década. No obstante, su efecto ha sido mayormente estudiado por su acción biofertilizante sobre algunas variables de crecimiento y el rendimiento de cultivos. En este estudio se determinó el efecto de un consorcio microbiano (CM) sobre el intercambio gaseoso de *Allium cepa* híbrido F1 2000 bajo déficit hídrico (DH) y nutricional. En una parcela experimental en San Juan de Lagunillas, Mérida, se realizó un ciclo de cultivo de cebolla, con riego normal (RN) (100 % ETc) y DH (67 % ETc) y fertilización (0 %, 50 %, 100 % NPK) e inoculación con el consorcio ME01 (*Rhizobium tropici*) y Leu2A (*Bradyrhizobium japonicum*). Se midió el intercambio gaseoso (Conductancia estomática (Gs), tasa transpiratoria (E) y asimilación de CO₂ (A)) y el potencial hídrico foliar a primeras horas de la mañana y al mediodía a los 45, 80 y 110 dds, y se hicieron curvas presión-volumen a los 48 ddt. Se usó un diseño bifactorial en bloques completamente aleatorizados con tres repeticiones. El tratamiento CM+50 % NPK sin DH permitió mantener valores de A similares al control de producción. La cebolla disminuyó drásticamente la Gs, alrededor de un 50 %, como evasión ante la carencia de agua. La mayor eficiencia en el uso del agua fotosintética (EUA_f) se obtuvo con el tratamiento CM+50 % NPK sin DH y el tratamiento 100 % NPK con DH no inoculado en tempranas horas del día, y en horas del mediodía, respectivamente. La E se incrementó en condiciones de DH + CM. La cebolla incrementó en 65 % el módulo de elasticidad en el tratamiento 100 % NPK No inoculado en respuesta al estrés hídrico. Las bacterias benéficas facilitan la disponibilidad de nutrientes bajo riego normal, lo que permite reducir la aplicación de altas dosis de fertilización y mitigar el déficit nutricional. El híbrido de cebolla F1 2000 resultó tolerante al estrés hídrico, por lo que en condiciones no limitantes de nutrientes se puede reducir el volumen de riego aplicado sin afectar el rendimiento del cultivo en lugares donde el agua es un factor limitante, mientras que en condiciones no limitantes de agua, el CM permitió disminuir el 50 % de fertilizantes NPK sin afectar el rendimiento obtenido de la cebolla como una estrategia agroecológica.

Palabras clave: cebolla, estrés hídrico, estrés nutricional, RPCV, variables ecofisiológicas.

INTRODUCCIÓN

El uso de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV o PGPR en inglés) ha aumentado intensamente en la agricultura como una alternativa para reemplazar o disminuir el uso de fertilizantes químicos y pesticidas (Kumar et al., 2019). Se ha descrito además, que la acción sinérgica (co-inoculación) de cepas de diferentes especies microbianas compatibles es más efectiva sobre la promoción del crecimiento vegetal, que la inoculación de una cepa de forma individual (Santiago et al., 2017; Blanco y Reyes, 2018). Dentro de las RPCV, el orden Rhizobiales representa un importante grupo. Los rizobios, además de la simbiosis con leguminosas, pueden facilitar la producción de sideróforos, ácido cianhídrico, antibióticos, enzimas micolíticas, mejorar la expresión de diferentes genes en contra de patógenos, facilitar la mineralización de fósforo orgánico en el suelo regulando positivamente genes implicados en la producción de enzimas específicas para este fin, y funcionar como agentes biocontroladores (Kumar et al., 2019; Volpiano et al., 2019). Incluso, algunas cepas rizobianas pueden presentar mecanismos de biorremediación del suelo (Zhengwei et al., 2005; Blanco et al., 2013). Yang et al. (2009) propusieron el término Tolerancia Sistémica Inducida (TSI) a la serie de cambios físicos y químicos inducidos en las plantas por las RPCV que resultan en una mayor tolerancia al estrés abiótico. Especialmente, las RPCV pueden modificar la concentración de fitohormonas para mejorar su tolerancia a la sequía (Aroca y Ruiz-Lozano, 2009). La producción de exopolisacáridos EPS (polímeros de alto peso molecular compuestos de residuos de mososacáridos) por los microorganismos, juega un papel esencial en el desarrollo de la planta en condiciones de estrés ambiental como la sequía, ya que los EPS influyen sobre el mantenimiento del potencial hídrico, agregados del suelo, y la facilitación de la interacción planta-microorganismo (Pawar et al., 2013; Taiwo et al., 2019). Los rizobios son bacterias con alta y variada producción de EPS (Lancheros et al., 2002), estos fácilmente detectables por sus colonias muy mucoides y gomosas ricas en polisacáridos, y con propiedades higroscópicas que ayudan a mantener la película de agua requerida para la actividad fotosintética y el crecimiento de las plantas (Marquina et al., 2011; Moreno et al., 2018).

Las respuestas ecofisiológicas en las plantas pueden darse de forma simultánea a través de distintos mecanismos de resistencia (Martínez et al., 2018). Entre los estreses abióticos, la limitación hídrica es un factor crítico en la productividad de los cultivos, y el mantenimiento del turgor de una planta es de particular importancia en estas condiciones. La disponibilidad de agua en el suelo y la transpiración son los factores que determinan el suministro y la pérdida de agua, respectivamente. Asimismo, los estomas ejercen el mayor control sobre las relaciones hídricas en una planta debido al gradiente de potencial hídrico entre la hoja y el aire (Azócar y Rada, 2006; Saxena et al., 2019). El potencial hídrico foliar y el contenido relativo hídrico, son solo algunos de los atributos vegetales usados para medir el estatus hídrico en las plantas bajo estrés. En este sentido, los principales efectos en

las plantas en respuesta al estrés hídrico son el cierre estomático, la disminución del número de hojas y de la expansión foliar, los ajustes osmóticos, una mayor eficiencia de uso del agua (EUA) tanto de riego como fotosintética, la activación de sistemas antioxidantes para regular la producción de especies reactivas al oxígeno (ERO), y la disminución de la actividad Rubisco, lo que conlleva a una disminución de la actividad fotosintética (Mafakheri et al., 2010; Farroq et al., 2012; Saxena et al., 2019; Blanco et al., 2021a). Mientras que el estrés por déficit nutricional puede causar disminución de la tasa de respiración celular, disminución de la tasa de crecimiento, interrupción del metabolismo, modificación de la morfología radical, manifestación de síntomas de deficiencia y susceptibilidad ante fitopatógenos (Lambers y Oliveira, 2019; Taiz y Zeiger, 2010). Sin embargo, tanto el estrés hídrico como el estrés nutricional pueden ser mejorados con la aplicación de RPCV (Yang et al., 2009; Moreno et al., 2018).

La cebolla es un cultivo originario de Asia, y representa una de las especies más importantes del grupo *Alliums* que son usados por su sabor, aroma y gusto (Patil y Subramaniam, 2020). A nivel mundial la cebolla es la segunda hortaliza de mayor valor por su alto consumo e importancia comercial, con un rendimiento mundial promedio de 19 t ha⁻¹ para el año 2018, y China, Estados Unidos, Japón, España, Egipto, India y Argelia como los mayores productores (FAO, 2020). La cebolla, además de sus propiedades culinarias, es una especie de hortaliza que ha mostrado ser una planta fitorremediadora del suelo con concentraciones de arsénico, al metabolizar este compuesto incrementando el contenido de clorofila a y b, la altura de la planta y la biomasa foliar en concentraciones crecientes de este semimetal en la solución de riego y el suelo (Singh et al., 2010). Investigaciones previas han mostrado que el cultivo de cebolla puede incrementar su contenido de proteínas solubles como ajuste osmótico ante el déficit hídrico, y desarrollar una mayor EUA que demuestra cierta tolerancia a este estrés en términos de rendimiento, con la aplicación entre 80 % y 85 % ETc (evapotranspiración del cultivo) (Kumar et al., 2007; Zheng et al., 2013; Mebrahtu et al., 2018). Aun más, que la inoculación con dos especies de micorrizas (*Funneliformis mossesae* y *Claroideoglomus etunicatum*) en condiciones de sequía incrementan el contenido de prolina, proteínas solubles, y carotenoides totales en cebolla (Muhsen et al., 2019); y en otros estudios las micorrizas incrementaron la conductancia estomática, la transpiración, el potencial hídrico, la cantidad de clorofila y la tasa fotosintética, entre otros, en diferentes cultivos (Augé, 2001).

Hasta ahora, la información de las RPCV con respecto a sus mecanismos promotores del crecimiento vegetal ha sido extensa, pero la literatura referente a cómo pueden influir las RPCV sobre aspectos ecofisiológicos en las plantas ha sido escasa. Es por esto, que tomando como modelo vegetal el cultivo de *A. cepa*, el objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de un consorcio microbiano compuesto por dos cepas rizobianas sobre algunas respuestas ecofisiológicas concernientes con el intercambio de

gases y las relaciones hídricas del cultivo de cebolla en condiciones de déficit hídrico y nutricional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del ensayo

El experimento se realizó en la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes (IIAP-ULA), ubicada en San Juan de Lagunillas, municipio Sucre, estado Mérida, con una altitud de 1100 msnm, y las coordenadas UTM 240946E – 941369N, 240737E – 941369N, 240737E – 941754N, 240946 E – 941759 N. El suelo de la estación experimental fue clasificado como un Aridisol (USDA, 2020). De acuerdo al sistema de zonas de vida de Holdridge, la zona de vida corresponde a un bosque seco premontano, con una temperatura entre 18 °C y 24 °C, en la transición entre el bosque espinoso y el bosque muy seco en la región tropical; mientras que Ataroff y Sarmiento (2004) se refieren a esta zona como una unidad ecológica de arbustal espinoso. La precipitación en la zona tiene un comportamiento bimodal con dos picos de lluvia en abril y octubre, la precipitación anual es de 509 mm, y la temperatura promedio es 23,7 °C (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a). La evaporación anual es mayor a los 1500 mm, por lo que supera a la precipitación durante todo el año, lo cual determina que ningún cultivo supla su requerimiento hídrico y sea dependiente del riego, permitiendo realizar en el sitio experimentos con condiciones de déficit hídrico (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a). El experimento se realizó desde finales de febrero hasta mediados de junio de 2017. Las características del suelo de la parcela entre 0-15 cm de profundidad son: textura franco arenosa, materia orgánica 3,61 %, N total 0,12 %, P disponible 30 mg kg⁻¹, pH 6.04, conductividad eléctrica 0,14 mS cm⁻¹, K 568 mg kg⁻¹, Ca 2060 mg kg⁻¹, Mg 1872 mg kg⁻¹, y capacidad de retención de agua 27 % (Capítulos 2 y 3; Blanco et al., 2021a).

Establecimiento del experimento en campo

Inicialmente, se desinfectaron las semillas de cebolla híbrido F1 2000 según protocolo descrito en el capítulo 2 (Blanco et al., 2021b) y se estableció el semillero en bandejas de horticultura de 200 celdas con las condiciones descritas en el capítulo 3 (Blanco et al., 2021a). Luego, en la parcela experimental acondicionada con un pase de arado de disco, un pase de rastra, y la aplicación de herbicida preemergente y selectivo (i.a s-metalocloro) en dosis 2 L ha⁻¹ para el control de las malezas un mes antes del trasplante, se levantaron canteros con parcelas de 2,4 m de largo x 1,4 m de ancho (3,36 m²), separadas entre sí física y espacialmente a través de una zanja, con el fin de evitar contaminación entre los tratamientos aplicados. En cada parcela de 3,36 m², se dispusieron

las plántulas de cebolla provenientes del semillero de 45 días después de la siembra (dds) (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a), en seis filas para un total de 120 plantas por parcela, con un marco de siembra de 10 cm x 20 cm para una densidad de siembra de 360.000 plantas ha⁻¹. El deshierbe durante el ensayo se realizó manualmente y el riego fue localizado.

Inóculo microbiano

El biofertilizante aplicado fue el consorcio microbiano (CM) de las cepas ME01 (*Rhizobium tropici*) + Leu2A (*Bradyrhizobium japonicum*), que fue seleccionado por su efecto promotor del crecimiento vegetal en plántulas de cebolla (Capítulo 2; Blanco et al., 2021b). Los tratamientos biofertilizados se inocularon con 2,5 mL del CM (1×10^8 cel mL⁻¹) por plántula en las bandejas el día del trasplante, y se reinocularon en campo a los 15 ddt con aproximadamente 5 mL del inóculo CM por planta con la ayuda de una bomba de aspersión eléctrica (Capítulo 3, Blanco et al., 2021a). El biofertilizante pertenece al cepario del Laboratorio de Fitobioteología-ULA.

Tratamientos y diseño experimental

En el experimento se usó un diseño bifactorial en bloques completamente aleatorizados con 3 repeticiones. El factor riego consistió en dos frecuencias de riego y correspondiente a una determinada ETC: riego normal RN (riego diario; 100 % ETC) y déficit hídrico (riego cada tres días; 67 % ETC) a partir de los 20 días después del trasplante (ddt) (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a). El factor fertilización consistió de cuatro niveles de acuerdo al 100 % del requerimiento nutricional de NPK de cebolla para un rendimiento de 40 tn ha⁻¹, para el cual se estableció una extracción neta por ha de 247 kg N, 240 kg P₂O₅, 240 kg K₂O para un total para cada parcela de 3,36 m² 577 g de fertilizante inorgánico de fórmula comercial 15-15-15 N-P-K (N amoniacal 10.3%, N nítrico 4.7%; fósforo asimilable 15%; cloruro de potasio 15%) más 5,4 g de urea para cada parcela de 3,36 m², según al área efectiva de siembra (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a). Estos niveles de fertilización se combinaron con la aplicación del biofertilizante CM quedando establecidos los tratamientos de la siguiente manera: 0 % NPK + CM; 50 % NPK + CM; 100 % NPK + CM; 100 % NPK No inoculado (control de producción). La fertilización fue edáfica y se aplicó en banda. La dosis para el 100 % del requerimiento nutricional se dividió en tres partes (60 %, 20 % y 20 %) de la siguiente manera para cada parcela de 3,36 m² de 3,36 m²: 1era fertilización 9 días después del transplante (ddt) 346 g 15-15-15 /parcela; 2da fertilización 20 ddt 115,2 g 15-15-15 /parcela; 3ra fertilización 37 ddt 115,2 g 15-15-15 + 5,4 g urea/parcela. La cantidad total de fertilizante inorgánico se consideró como el 100 % NPK y con base en esta cantidad total se calculó el total de fertilizante para el tratamiento 50 % NPK, el cual se aplicó de la misma forma y en los mismos momentos durante el ciclo del cultivo. Las mediciones de las variables ecofisiológicas se realizaron en una hoja en dos

plantas por cada repetición por tratamiento (n=3 por tratamiento, con dos submuestras por repetición). Las mediciones se llevaron a cabo en dos momentos del día, a primeras horas de la mañana cuando las condiciones ambientales son menos extremas y a horas del mediodía bajo las condiciones son más estresantes.

Mediciones de temperatura y humedad relativa

La temperatura de la hoja (T_h) y del aire (T_a) se obtuvieron usando termopares de cobre constantan conectados a un termómetro digital y la humedad relativa (HR) se midió con un higrómetro digital. Estas temperaturas y HR se usaron para calcular la diferencia de presión de vapor entre la hoja y el aire (DPV) a través de la ecuación $DPV = \rho_{hoja} - (\rho_{aire} * (HR/100))$ donde: ρ_{hoja} y ρ_{aire} son la presión de saturación de vapor de agua a la temperatura foliar y del aire, respectivamente. Las mediciones de estas variables se realizaron en una hoja en una planta por cada repetición por tratamiento (n=3).

Intercambio gaseoso

Se midieron las variables conductancia estomática (Gs), transpiración (E) y de asimilación de CO_2 (A) en tres fases del cultivo: T0 45 dds y antes de la inoculación (semillero-inicio de desarrollo foliar), luego de la inoculación T1 35 ddt (fin de desarrollo foliar-inicio de bulbificación) y T2 69 ddt (fin de bulbificación-maduración). El intercambio gaseoso se determinó utilizando un sistema portátil de intercambio de gases (LC-Pro, ADC Bioscientific Ltd., Hoddesdon, Reino Unido). Los parámetros se determinaron realizando mediciones en todos los tratamientos, en dos momentos del día al cabo de cada fase fenológica de la cebolla. Las tasas de A y E se utilizaron para calcular la eficiencia en el uso del agua fotosintética ($EUA_f = A/E$) (Lambers y Oliveira, 2019). Además, con las variables A, E, y Gs se elaboraron curvas fenológicas para comparar el efecto de los tratamientos durante el desarrollo del cultivo.

Relaciones hídricas

Las determinaciones referentes a las relaciones hídricas como el potencial hídrico y las curvas presión-volumen se determinaron con una bomba de presión (PMS, Instrument Co, USA). El potencial hídrico (Ψ_L) se determinó en campo en tres fases del cultivo T0 45 dds (semillero-inicio de desarrollo foliar), T1 35 ddt (fin de desarrollo foliar-inicio de bulbificación) y T2 69 ddt (fin de bulbificación-maduración), en horas del mediodía. Las curvas presión-volumen se determinaron en el laboratorio a los 48 ddt (formación del bulbo) según metodología de Fernández y Gyenge (2010), en donde el módulo de elasticidad (ϵ) es representado por la pendiente de la curva (Δ potencial de presión/

Δ volumen de agua simplástica) y representa la rigidez o elasticidad de la pared celular en respuesta a un factor de estrés hídrico (Vega y Mejía, 2017). Además con estas curvas se determinó para cada tratamiento el contenido relativo de agua en el punto de pérdida de turgor (CRH^0) y el potencial osmótico en el punto de turgencia máxima (Ψ_{π}^{100}) y a turgencia cero (Ψ_{π}^0) (Lenz et al., 2006).

Además de los parámetros ecofisiológicos se determinó el rendimiento a los 71 ddt, pesando el total de bulbos cosechados en cada parcela por tratamiento.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante un ANOVA de dos vías y la prueba de medias LSD ($p < 0,05$) con el programa Statgraphics (Statistical Graphics Corporation, 2002). Se comprobó el supuesto de homogeneidad de varianza con el test de Bartlett. En los casos en los que los datos no cumplieron con este supuesto, los datos se sometieron a la prueba de Kruskal Wallis ($p < 0,05$) con el programa Infostat a un nivel de confianza del 95% (InfoStat Statistical Software, 2002; Montgomery, 1991). Los datos del módulo de elasticidad solo entre los tratamientos no inoculados en ambas condiciones de riego se analizaron mediante un ANOVA de una vía, para evaluar el efecto del estrés hídrico sobre esta variable en el cultivo de cebolla por la tendencia observada en el análisis de dos vías en esta variable (Blanco et al., 2021a).

RESULTADOS

Análisis ecofisiológico en el T₀ 45 dds en semillero

En las Tablas 1 y 2 se observan los valores iniciales de las variables ecofisiológicas presentados por las plántulas en estado de semillero (45 dds) antes de aplicar los tratamientos y el déficit hídrico. Estos valores iniciales permitieron corroborar que en los dos momentos de medición no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los grupos de plántulas para ninguna variable. A primeras horas de la mañana, los valores se encontraron en los siguientes rangos: densidad de flujo fotónico fotosintético (DFFF) 975 a 1109 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura foliar 34,7 a 40,5 °C, tasa de transpiración 1,4 a 3,2 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, conductancia estomática 46,7 a 52,5 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, tasa de asimilación de CO_2 12,2 a 14,8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y EUA_f 6,67 a 11,95 $\mu\text{mol mmol}^{-1}$ (Tabla 1).

Tabla 1. Valores promedios iniciales de las variables ecofisiológicas con réplicas sin los tratamientos de fertilización y déficit hídrico en semillero T₀ 45 dds a primeras horas de la mañana 8:30 am.

Variable	Unidades	Tratamientos			
		CM + 0 % NPK	CM + 50 % NPK	CM + 100 % NPK	No inoculado + 100% NPK (control)
DFFF	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	975,0 $\pm$ 175,57	1109,0 $\pm$ 131,65	816,17 $\pm$ 263,71	1056,17 $\pm$ 132,71
T foliar	°C	34,67 $\pm$ 0,49	36,98 $\pm$ 0,50	38,87 $\pm$ 1,08	40,5 $\pm$ 0,76
E	$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	1,41 $\pm$ 0,46	1,46 $\pm$ 1,09	1,90 $\pm$ 0,39	3,16 $\pm$ 2,35
Gs	$\text{mmol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$	50,0 $\pm$ 17,32	52,5 $\pm$ 22,17	46,67 $\pm$ 11,55	47,5 $\pm$ 34,03
A	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	13,99 $\pm$ 1,73	13,66 $\pm$ 3,38	14,76 $\pm$ 3,38	12,15 $\pm$ 2,10
EUA	$\mu\text{mol mmol}^{-1}$	10,45 $\pm$ 2,47	11,95 $\pm$ 6,21	7,73 $\pm$ 0,32	6,67 $\pm$ 5,18

DFFF= densidad de flujo fotónico fotosintético, T foliar= temperatura foliar, E= tasa de transpiración, Gs= conductancia estomática, A= tasa de asimilación de CO₂, EUA_f= eficiencia en el uso del agua. $\pm$ indica la desviación estándar. n=3

Igualmente, estas variables se midieron en horas cercanas al mediodía (Tabla 2). En este punto, el rango de valores para cada variable fue mayor quedando de la siguiente manera: densidad de flujo fotónico fotosintético (DFFF) 1513 a 1575 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura foliar 38,3 a 40,73 °C, tasa de transpiración 4,28 a 5,54 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, conductancia estomática 110 a 126 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, tasa de asimilación de CO₂ 19,8 a 21,4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y EUA_f 4,50 a 4,89 $\mu\text{mol mmol}^{-1}$ (Tabla 2). Los valores se utilizaron como punto de partida para la dinámica de las variables medidas a lo largo del ciclo del cultivo.

Tabla 2. Valores iniciales de las variables ecofisiológicas con réplicas sin los tratamientos de fertilización y déficit hídrico en semillero T₀ 45 dds en horas cercanas a mediodía 11:30 am.

Variable	Unidades	Tratamientos			
		CM + 0 % NPK	CM + 50 % NPK	CM + 100 % NPK	No inoculado + 100% NPK (control)
DFFF	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	1513,20 $\pm$ 120,45	1555,0 $\pm$ 36,45	1574,67 $\pm$ 29,30	1529,67 $\pm$ 26,54
T foliar	$^{\circ}\text{C}$	40,73 $\pm$ 0,29	40,20 $\pm$ 0,14	38,80 $\pm$ 0,61	38,30 $\pm$ 0,73
E	$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	4,28 $\pm$ 0,68	5,54 $\pm$ 3,03	5,37 $\pm$ 1,80	5,50 $\pm$ 1,57
Gs	$\text{mmol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$	116,67 $\pm$ 5,77	110,0 $\pm$ 60,83	126,0 $\pm$ 43,93	123,33 $\pm$ 34,45
A	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	19,79 $\pm$ 1,25	21,39 $\pm$ 4,79	20,34 $\pm$ 3,87	21,11 $\pm$ 3,59
EUA _f	$\mu\text{mol mmol}^{-1}$	4,64 $\pm$ 0,98	4,50 $\pm$ 2,51	4,56 $\pm$ 2,01	4,89 $\pm$ 1,94

DFFF= densidad de flujo fotónico fotosintético, T foliar= temperatura foliar,

E= tasa de transpiración, Gs= conductancia estomática, A= tasa de asimilación de CO₂, EUA_f= eficiencia en el uso del agua fotosintética. $\pm$ indica la desviación estándar. n=3

En esta fase del cultivo (45 dds) se intentó medir el potencial hídrico, pero inmediatamente al cortar la lámina foliar de la cebolla se observó el agua sin aplicar presión. Por lo tanto, se parte de la idea de que todas las plantas tenían un Ψ_L cercano a cero MPa.

Variables ecofisiológicas en el T1 35 ddt.

En la Tabla 3 se pueden observar algunas variables ecofisiológicas determinadas a primeras horas de la mañana con una DFFF alrededor de 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y en horas cercanas al mediodía con una DFFF de 1700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a los 35 ddt. Por su parte, para el potencial hídrico a pesar de que se obtuvo un $p < 0,05$ entre los tratamientos se observó que el consorcio microbiano no presentó un claro efecto sobre este parámetro en esta fase del cultivo así como tampoco lo tuvo el factor riego ya que no hubo diferencias entre los tratamientos, especialmente entre los que no tenían déficit nutricional No inoculado + 100% NPK RN y No inoculado + 100% NPK DH; sin embargo, se observó una reducción significativa del potencial en el tratamiento con menor dosis de fertilizante CM+0% NPK DH con respecto al mismo tratamiento en condiciones de RN, y en términos generales, se

vió una tendencia a disminuir el potencial hídrico en todos los tratamientos con DH. Los valores entre todos los tratamientos variaron desde -1,85 MPa hasta -1,05 MPa. En la primera medición del día en ambas condiciones de riego, la temperatura foliar tendió a ser menor en los tratamientos inoculados con respecto a los no inoculados. Esta tendencia varió en horas del mediodía, pues en la condición de DH los tratamientos inoculados tendieron a mostrar una T_f más elevada que el tratamiento no inoculado, siendo los mayores valores en los tratamientos CM+50% NPK DH y CM+100% NPK DH; y en estos mismos tratamientos particularmente se observó el efecto del estrés hídrico porque dicho factor produjo el incremento de la temperatura foliar entre 5,1 % y 8,4 % con respecto al factor RN. Se observó además que el DPV no presentó diferencias significativas entre los tratamientos en los dos momentos de medición del día variando desde 1,09 kPa hasta 1,76 kPa en la primera medición, y desde 1,41 hasta 2,46 kPa en la segunda medición, pero sí se observó una tendencia del DPV a ser mayor en los tratamientos inoculados en la condición DH en la segunda medición realizada en horas del mediodía ($p=0,08$), conforme a lo observado con la T_f .

www.bdigital.ula.ve

Tabla 3. Temperatura foliar, potencial hídrico y diferencia de presión de vapor hoja-aire en el T₁ 35 ddt.

		Tratamientos / Condición de riego							
		CM + 0 % NPK		CM + 50 % NPK		CM + 100 % NPK		No inoculado + 100% NPK (control)	
Variables	Unidades	RN	DH	RN	DH	RN	DH	RN	DH
8:30 am	DFFF	486,50±77,89 ab	367,00±23,02 c	368,56±27,70 c	367,50±16,36 c	350,20±9,07 c	525,29±104,37 a	387,14±44,86 bc	755,86±50,60 a
	T foliar	26,23±0,25 d	27,87±0,40 abcd	26,90±1,74 cd	27,87±0,42 abcd	27,07±2,29 bcd	28,30±0,56 abc	29,63±1,14 a	28,90±0,61 ab
	DPV	1,16±0,22	1,09±0,23	1,35±0,44	1,26±0,09	1,21±0,59	1,22±0,22	1,76±0,32	1,37±0,08
11:00 am	DFFF	1789,50±144,35 bc	2024,29±106,18 a	1672,50±35,97 c	1814,83±156,12 bc	1860,78±134,14 b	1857,29±95,36 b	1918,40±77,19 ab	1865,80±358,66 ab
	Ψ _L	-1,4 ± 0,1 bc	-1,85 ± 0,1 d	-1,37 ± 0,15 abc	-1,6 ± 0,15 cd	-1,05 ± 0,05 a	-1,23 ± 0,08 ab	-1,35 ± 0,15 abc	-1,53 ± 0,48 bcd
	T foliar	32,2±0,87 ab	32,4±0,72 ab	30,7±0,26 c	33,27±0,45 a	30,57±1,10 c	32,27±0,67 ab	31,67±1,05 bc	31,57±0,51 bc
	DPV	2,17±0,23	2,21±0,14	1,41±1,02	2,46±0,06	1,95±0,17	2,20±0,12	2,25±0,33	2,11±0,11

± indica la desviación estándar. DFFF= densidad de flujo fotónico fotosintético, T foliar= temperatura foliar, Ψ_L= potencial hídrico foliar, DPV= diferencia de presión de vapor hoja-aire ddt=días después del trasplante. RN= riego normal, DH= déficit hídrico, CM= consorcio microbiano. ± indica la desviación estándar. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) a un nivel de confianza del 95%.

Las principales variables determinadas en esta investigación se observan en la Figura 1. La tasa de asimilación de CO_2 no se vió afectada por el estrés hídrico en ningún momento de medición. Los valores de A variaron entre $17,43 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $22,98 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ con una DFFF alrededor de $500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, mientras que los valores de A con una DFFF mayor a $1700 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ variaron desde $20,44 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ hasta $31,31 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Cabe destacar que a primeras horas del día, en la condición RN, el valor de A con el tratamiento CM+50% NPK fue similar al control de producción No inoculado + 100% NPK, incluso con un valor superior de asimilación de CO_2 correspondiente a $22,99 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $21,28 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente (Figura 1a), situación que se repitió en horas del mediodía entre estos tratamientos con $27,9 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $27,8 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectivamente (Figura 1b). También se observó que en la condición de estrés hídrico la A tiende a ser mayor con el tratamiento No inoculado + 100% NPK a primeras horas de la mañana, y que la misma tiende a disminuir a medida que tiene efecto el déficit nutricional en el resto de tratamientos aún con la presencia del CM (Figura 1a).

En relación a la variable de transpiración, en la Figura 1c se muestra que a primeras horas de la mañana no hubo un efecto importante de los tratamientos sobre la E , especialmente en condiciones de RN. Sin embargo, se observó un incremento significativo del 55 % en la transpiración en el tratamiento CM + 100 % NPK con DH, con respecto a los tratamientos controles No inoculado + 100 % NPK con RN y No inoculado + 100 % NPK con DH, mostrando así una mayor pérdida de agua en estas plantas con la presencia del CM aunado al 100 % de fertilizantes requeridos y al estrés hídrico. Los valores de E en este momento del día variaron entre $3,0 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $6,21 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Figura 1c), siendo el menor valor en el tratamientos CM + 50 % NPK con RN. También se pudo observar que los mayores valores de transpiración se presentaron en horas del mediodía oscilando entre $5,33 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $9,91 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Figura 1d) en respuesta al mayor DPV mostrado en este mismo momento de medición con una DFFF superior a $1700 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Tabla 3), siendo el menor valor el del tratamiento No inoculado + 100% NPK con DH. En la segunda medición realizada en esta fase del cultivo correspondiente a horas del mediodía, se observó que los tratamientos inoculados en la condición de déficit hídrico mostraron incremento de la transpiración de forma significativa entre 35,8 % y 50,6 % más en relación al tratamiento No inoculado + 100 % NPK DH (Figura 1d), causando así una mayor pérdida de agua en estos tratamientos.

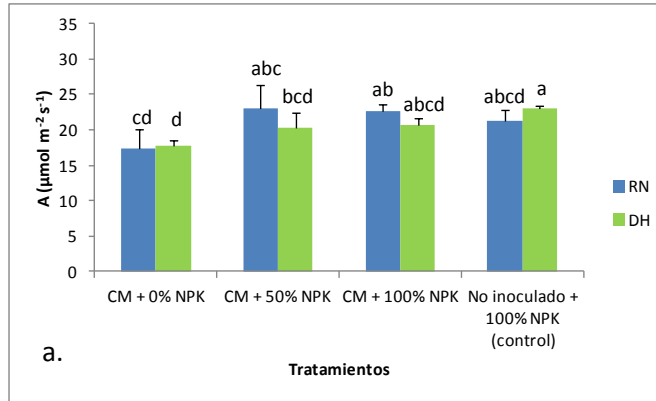
La cebolla a primeras horas de la mañana presentó una tendencia a mostrar mayor conductancia estomática en los tratamientos bajo déficit hídrico (Figura 1e). En esta primera medición del día los valores se encontraron entre $247 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $367 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$; no obstante, los tratamientos no presentaron diferencias significativas entre ellos ($p>0,05$). Ahora bien, en horas de mediodía, en la segunda medición del día los valores oscilaron entre $160 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $336 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, y se observó que independientemente

del tratamiento de fertilización, la cebolla mostró claramente un cierre estomático en condiciones de déficit hídrico como mecanismo evasor ante este estrés, mostrando diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) con respecto a la condición de riego normal, disminuyendo drásticamente la conductancia estomática alrededor de un 50 % como respuesta ante la carencia de agua (Figura 1f).

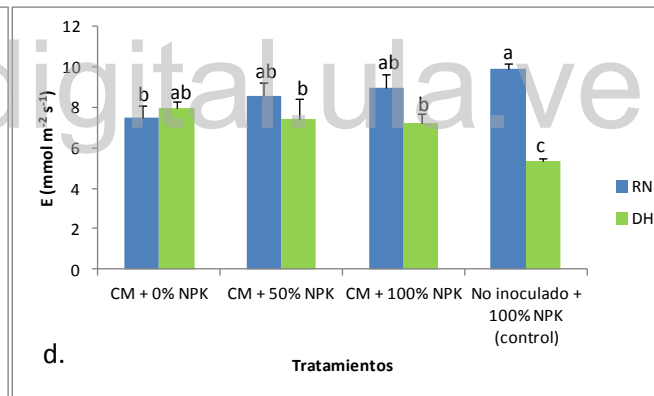
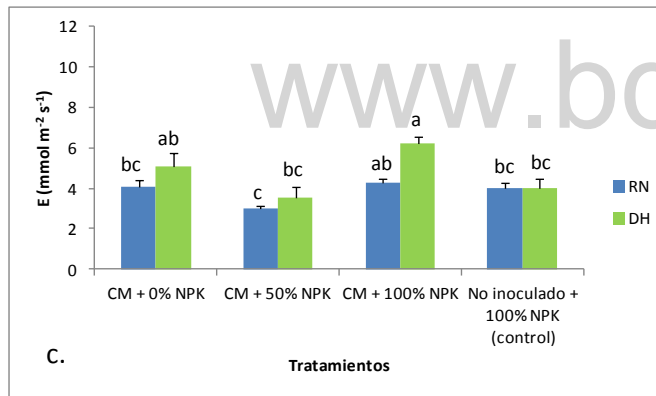
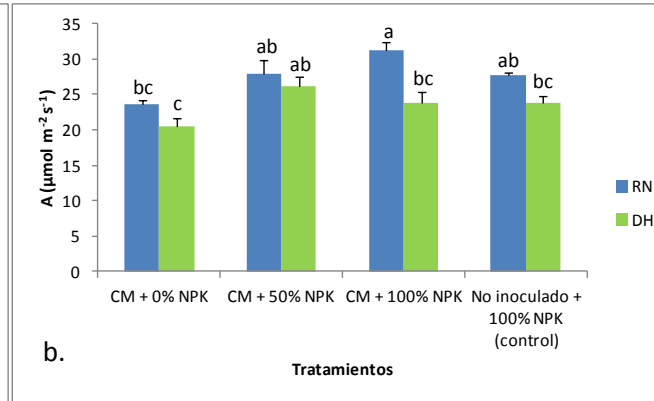
En las primeras horas del día la mayor EUA se obtuvo con el tratamiento CM+50 % NPK con RN y con el tratamiento CM + 100 % NPK con DH (Figura 1g), de acuerdo a las mayores tasas de asimilación de CO_2 y bajas tasas de transpiración mostradas por este mismo tratamiento (Figura 1a y Figura 1c). En horas del mediodía, la mayor EUA se obtuvo con el tratamiento No inoculado + 100 % NPK con DH (Figura 1h), en concordancia con la menor tasa de transpiración registrada en este tratamiento (Figura 1d). Los valores de EUA variaron entre $3,39 \mu\text{mol mmol}^{-1}$ y $7,90 \mu\text{mol mmol}^{-1}$ a primeras horas de la mañana, mientras que en la segunda medición del día oscilaron entre $2,81 \mu\text{mol mmol}^{-1}$ y $4,49 \mu\text{mol mmol}^{-1}$.

www.bdigital.ula.ve

DFFF ≈ 500



DFFF > 1700



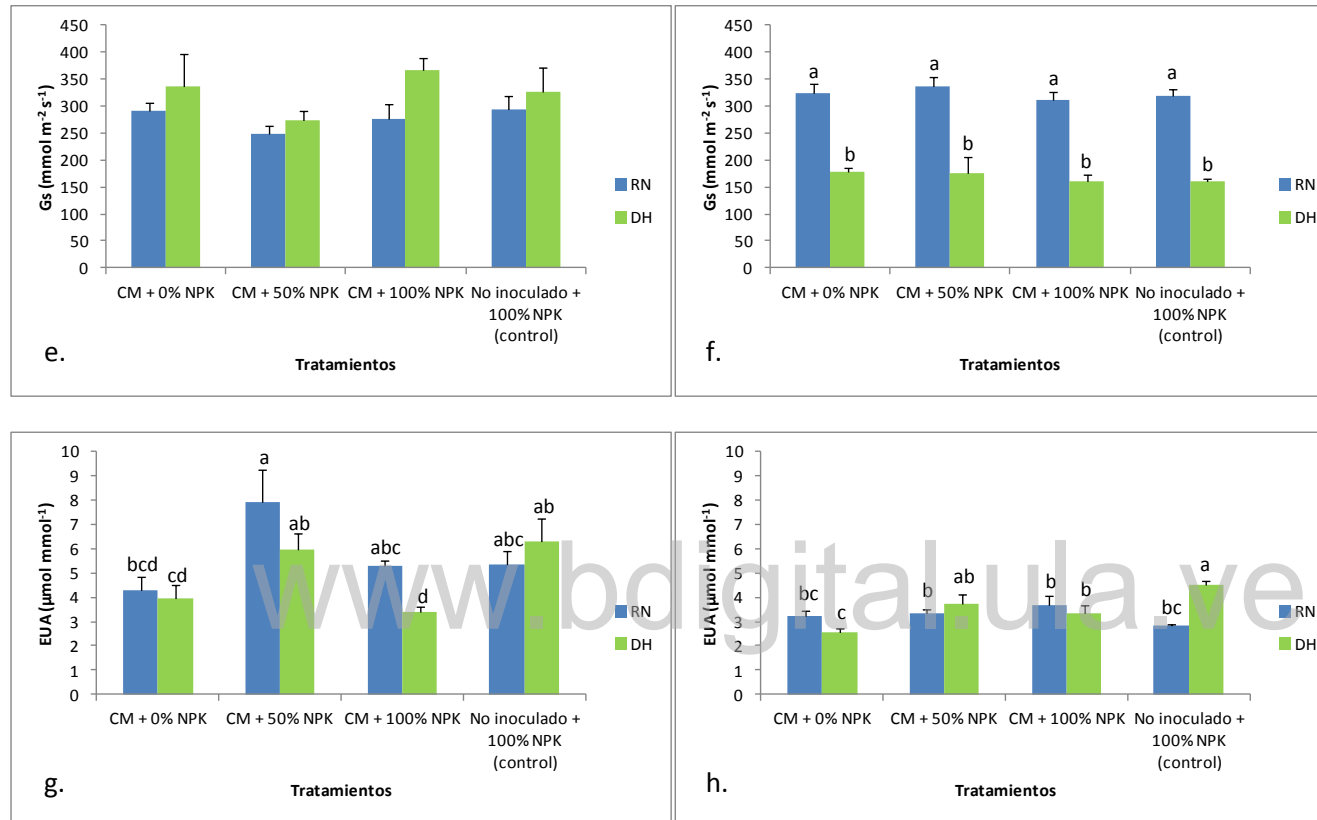


Figura 1. Variables ecofisiológicas determinadas a los 35 ddt. A= tasa fotosintética, E=tasa de transpiración, Gs=conductancia estomática, EUA= eficiencia del uso del agua (A/E). Hora de medición DFFF $\approx$ 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 8:30 am; DFFF > 1700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 11:30 am. RN= riego normal, DH= déficit hídrico, CM= consorcio microbiano Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) a un nivel de confianza del 95%.

Variables ecofisiológicas en el T₂ 69 ddt

En una tercera fase del cultivo se pudo determinar el efecto de los tratamientos sobre las mismas variables ecofisiológicas a los 69 ddt (Tabla 4). Para esta fase de crecimiento solo fue posible realizar una medición durante el día, la cual correspondió a las horas de mediodía con una DFFF superior a $1400 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. En la variable potencial hídrico, no se observó algún efecto importante de los tratamientos sobre esta variable, a excepción del tratamiento CM+0 % NPK DH el cual mostró una disminución significativa ($p < 0,05$) con respecto al resto de tratamientos (Tabla 4). Particularmente en este tratamiento se observó el efecto del estrés hídrico y nutricional a pesar de la presencia del inóculo CM; además, esta disminución del Ψ_L coincidió con las mayores tasas de transpiración mostradas por este mismo tratamiento en horas del mediodía en la condición DH (Figura 2d y Figura 3d). En esta Tabla 4 se observa un patrón de incremento en la temperatura foliar entre 2,5 % y 8,7 % en los tratamientos con el factor DH con respecto a los tratamientos del factor RN, acorde con el cierre estomático observado en la Figura 2c para esta condición. Con respecto al DPV, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos y varió desde 1,59 kPa hasta 2,20 kPa. No obstante, se observó la misma tendencia que a los 35 ddt en donde los mayores valores se encontraron con los tratamientos inoculados en la condición de DH ($p = 0,0562$) en horas del mediodía.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 4. Temperatura foliar, potencial hídrico y diferencia de presión de vapor hoja-aire en el T₂ 69 ddt.

		Tratamientos / Condición de riego							
		CM + 0 % NPK		CM + 50 % NPK		CM + 100 % NPK		No inoculado + 100% NPK (control)	
Variables	Unidades	RN	DH	RN	DH	RN	DH	RN	DH
DFFF	$\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	1403,57±61,05 d	1747,86±221,30 ab	1518,88±101,30 cd	1627,00±132,07 bc	1637,36±44,71 c	1775,07±141,68 ab	1798,36±80,17 a	1816,40±144,21 ab
Ψ_L	MPa	-1,08 ± 0,18 a	-1,73 ± 0,63 b	-0,58 ± 0,13 a	-0,78 ± 0,08 a	-0,58 ± 0,48 a	-0,68 ± 0,33 a	-0,55 ± 0,2 a	-0,57 ± 0,15 a
T foliar	°C	28,4± 0,53 c	30,7±1,2 ab	29,10±0,87 bc	31,63±0,47 a	29,13±0,51 bc	31,17±1,59 a	29,33±1,24 bc	30,07±0,06 ab
DPV	kPa	1,59 ± 0,30	1,89 ± 0,37	1,69 ± 0,24	2,20 ± 0,27	1,76 ± 0,21	2,19 ± 0,08	1,81 ± 0,21	1,82 ± 0,06

± indica la desviación estándar. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) a un nivel de confianza del 95%. DFFF= densidad de flujo fotónico fotosintético, T foliar= temperatura foliar, Ψ_L = potencial hídrico foliar, DPV= diferencia de presión de vapor hoja-aire. Estos datos corresponden a horas del mediodía.

En la Figura 2 se observan las principales variables ecofisiológicas medidas nuevamente a los 69 ddt con una DFFF superior a $1400 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. En la variable A los mayores valores de fijación de CO_2 se encontraron en los tratamientos sin DH (Figura 2a), repitiéndose el patrón de la medición anterior en donde el tratamiento CM + 50% NPK mostró un valor superior al del tratamiento control No inoculado + 100% NPK con RN (Figura 2a y Figura 1a), observándose una tasa 33% mayor que en el control, aunque no hubo diferencias significativas entre ambos tratamientos, ni en el resto de tratamientos inoculados. Vale destacar que las plantas de la condición DH ya estaban listas para cosechar, por lo que se supone un estado fisiológico más maduro que el de las plantas en la condición RN, y que esto haya influido sobre las diferencias obtenidas en los tratamientos, y no precisamente se deba al efecto de los tratamientos sobre el cultivo. En la Figura 2b se observó que los valores de transpiración oscilaron entre $2,75 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $4,71 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0,05$). Los valores de conductancia estomática se encontraron entre $102 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y $184 \text{ mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, y de acuerdo a esta variable el cultivo de cebolla mostró en estas horas del mediodía un cierre estomático en los tratamientos con el factor DH con diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) con respecto a los tratamientos de la condición RN en respuesta al estrés hídrico (Figura 2c), como ya se había observado en la medición durante la fase anterior (Figura 1f). La EUA fue mayor en el tratamiento No inoculado + 100% NPK con DH (Figura 2d), acorde a lo ya observado en la medición anterior para este tratamiento con estas mismas condiciones de luz (Figura 1h). Los valores de EUA variaron entre $2,12 \mu\text{mol mmol}^{-1}$ y $6,98 \mu\text{mol mmol}^{-1}$, para los tratamientos CM + 100% NPK con DH y No inoculado + 100% NPK con DH, respectivamente, evidenciando de esta manera el efecto negativo que tuvo la aplicación del inóculo CM bajo condiciones de estrés hídrico en cuanto a la eficiencia del uso del agua por el cultivo, y sin ninguna limitación nutricional (Figura 2d).

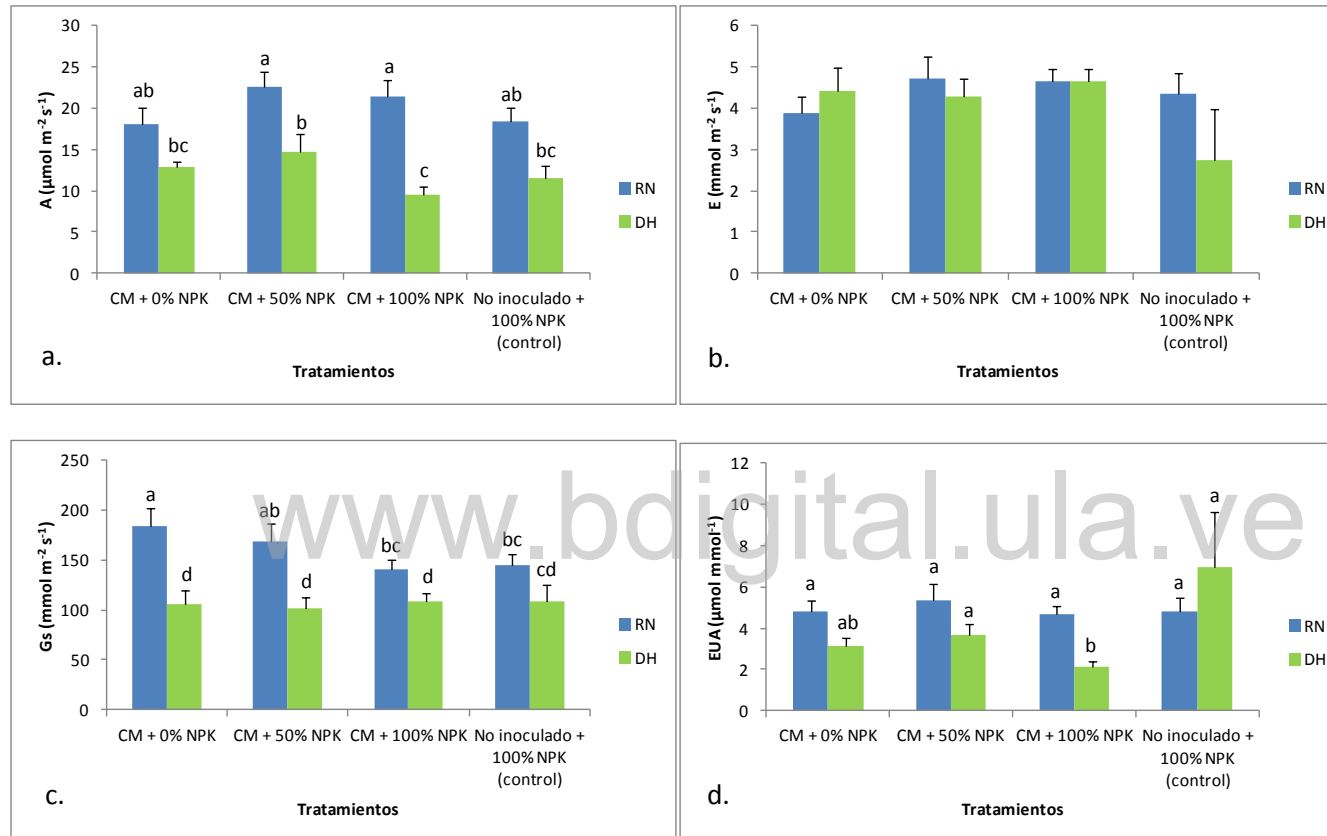


Figura 2. Variables ecofisiológicas determinadas a los 69 ddt. A= tasa fotosintética, E=tasa de transpiración, Gs=conductancia estomática, EUA= eficiencia del uso del agua (A/E). Hora de medición 12 m. DFFF > 1400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) a un nivel de confianza del 95%.

A continuación en la Tabla 5 se pueden observar las variables determinadas con las curvas presión-volumen realizadas en la etapa clímax del cultivo, cuando el mismo se encontraba aproximadamente al 75% de la etapa de bulbificación (48 ddt). Con respecto a estas variables, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos para el potencial osmótico en el punto de saturación, el potencial osmótico en el punto de pérdida de turgor, en el contenido relativo hídrico en el punto de pérdida de turgor, ni en el módulo de elasticidad evidenciando así que la cebolla no realizó ajustes osmóticos ni elásticos como mecanismo de respuesta ante la presencia del CM ni al estrés nutricional. No obstante, en vista de la tendencia a incrementar el módulo de elasticidad en el tratamiento no inoculado en condiciones de DH, se realizó un ANOVA de una vía para comparar únicamente el efecto del déficit hídrico entre los tratamientos no inoculados o controles de producción, con lo cual se pudo obtener un resultado interesante en donde se demostró que la cebolla *per se* bajo condiciones de estrés hídrico incrementó significativamente el módulo de elasticidad ($p < 0,05$). De esta forma, el cultivo respondió al estrés hídrico incrementando la rigidez de la pared celular en un 65 % en el tratamiento No inoculado + 100 % NPK con DH, respecto al control de producción No inoculado + 100 % NPK con RN (Tabla 6).

www.bdigital.ula.ve

Tabla 5. Variables determinadas a través de las curvas presión-volumen realizadas a los 48 ddt o durante la etapa clímax del cultivo de la cebolla.

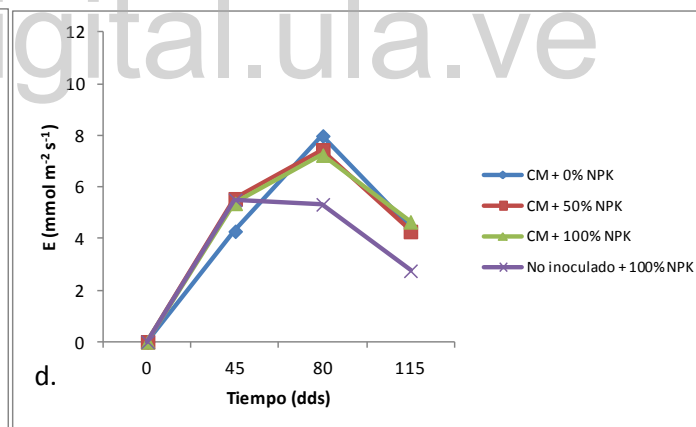
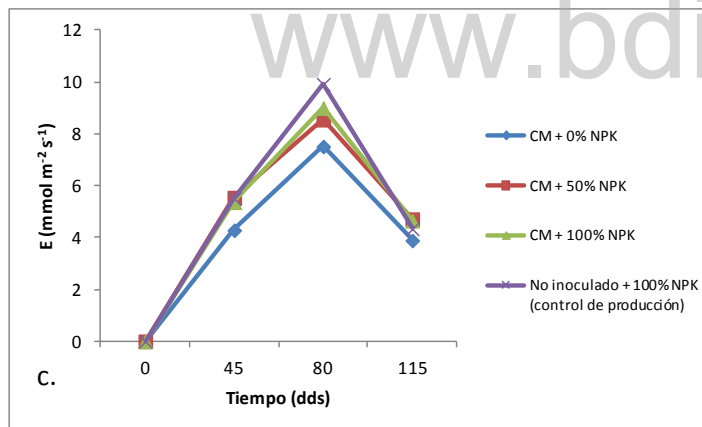
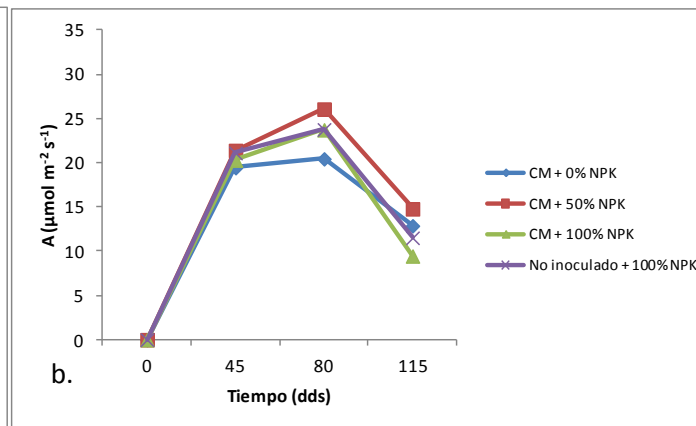
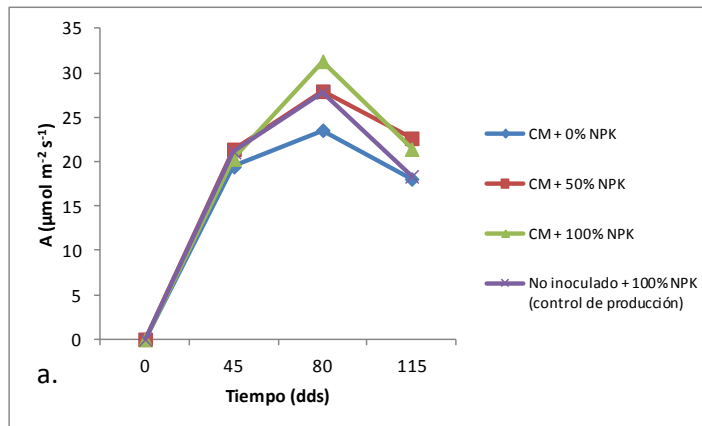
	Tratamientos / Condición de riego							
	CM + 0 % NPK		CM + 50 % NPK		CM + 100 % NPK		No inoculado + 100% NPK (control de producción)	
	RN	DH	RN	DH	RN	DH	RN	DH
$\Psi\pi^{100}$ (MPa)	-0,70 ± 0,20	-0,63 ± 0,12	-0,78 ± 0,04	-0,56 ± 0,14	-0,78 ± 0,04	-0,65 ± 0,13	-0,76 ± 0,19	-0,62 ± 0,18
$\Psi\pi^0$ (MPa)	-1,12 ± 0,10	-0,93 ± 0,15	-1,12 ± 0,10	-0,92 ± 0,13	-0,97 ± 0,06	-1,19 ± 0,20	-1,03 ± 0,24	-1,22 ± 0,21
CRH ⁰ (%)	82,38 ± 9,75	85,95 ± 7,19	85,80 ± 3,07	88,95 ± 4,50	85,73 ± 3,72	78,54 ± 17,16	84,70 ± 6,40	85,51 ± 3,51
ε (MPa)	7,13 ± 3,48	9,85 ± 5,57	10,55 ± 4,16	9,36 ± 2,55	7,09 ± 1,79	6,56 ± 3,08	7,88 ± 1,15*	12,97 ± 2,83*

*Indica diferencias significativas $p < 0,05$ a un nivel de confianza del 95% entre estos tratamientos con ANOVA de una vía. ± indica la desviación estándar. $\Psi\pi^{100}$ = potencial osmótico en el punto de saturación, $\Psi\pi^0$ = potencial osmótico en el punto de pérdida de turgor, CRH⁰ = contenido relativo hídrico, ε = módulo de elasticidad de la pared celular.

La dinámica de las principales variables ecofisiológicas durante el cultivo se puede observar en la Figura 3. Las más altas tasas de asimilación de CO_2 se produjeron a los 80 dds (correspondiente a los 35 ddt) y fueron superiores en la condición RN. Las menores tasas se presentaron en ambas condiciones en el tratamiento CM + 0 % NPK, mostrando así el efecto del déficit nutricional sobre la actividad fotosintética (Figura 3a y Figura 3b). En este mismo punto, se observó que a lo largo del cultivo, el tratamiento CM + 50 % NPK en ambas condiciones de riego mostró tasas similares o discretamente superiores a las del tratamiento control No inoculado + 100 % NPK, es decir, que el inóculo CM favoreció la actividad fotosintética a pesar del 50 % de déficit nutricional en que se encontraban las plantas de este tratamientos. Con relación a este incremento de la actividad fotosintética es importante destacar que este tratamiento CM + 50 % NPK con RN a los 80 dds (momento de la mayor actividad fotosintética) mostró un contenido de N foliar similar ($p < 0,05$) al tratamiento control de producción No inoculado + 100 % NPK con RN, incluso el valor de N fue 2 % superior al del tratamiento control (datos no mostrados; ver Capítulo 6). En condiciones no limitantes de agua (RN), los tratamientos no influyeron durante el cultivo sobre la E (Figura 3c); pero, no ocurrió lo mismo en condiciones de estrés hídrico (DH) como ya se mencionó anteriormente, ya que para esta condición de riego se observó un efecto negativo del inóculo CM durante el desarrollo del cultivo, debido a que los tratamientos inoculados produjeron un incremento importante entre el 42 % y 62 % en la tasa de transpiración con relación al tratamiento no inoculado entre los 80 dds y 115 dds (correspondiente a los 69 ddt), respectivamente (Figura 3d), y a pesar de que la Gs fue igual entre tratamientos inoculados y no inoculados (Figura 3f). Sin embargo, es oportuno recordar que en los tratamientos inoculados en la condición DH se observó una tendencia (aunque no significativa) del DPV a ser más alto en comparación con el tratamiento no inoculado (Tabla 3 y Tabla 4). La conductancia estomática fue mayor en las plantas bajo la condición RN y a los 80 dds (Figura 3e), y se observó que el factor hídrico afectó drásticamente este parámetro y las plantas de la condición DH respondieron con un cierre estomático a los 80 dds y 115 dds mostrando valores de Gs considerablemente inferiores (Figura 3f). En cuanto a la actividad fotosintética, la menor captura de CO_2 en las plantas con DH en horas del mediodía por el cierre estomático, se contrarrestó con las mayores tasas de asimilación de CO_2 en estos mismos tratamientos en tempranas horas del día, en comparación con las plantas de RN. En términos generales, independientemente del tratamiento, el cierre estomático observado en condiciones de DH permitió conservar el potencial hídrico similar a las plantas con condiciones de RN.

RN

DH



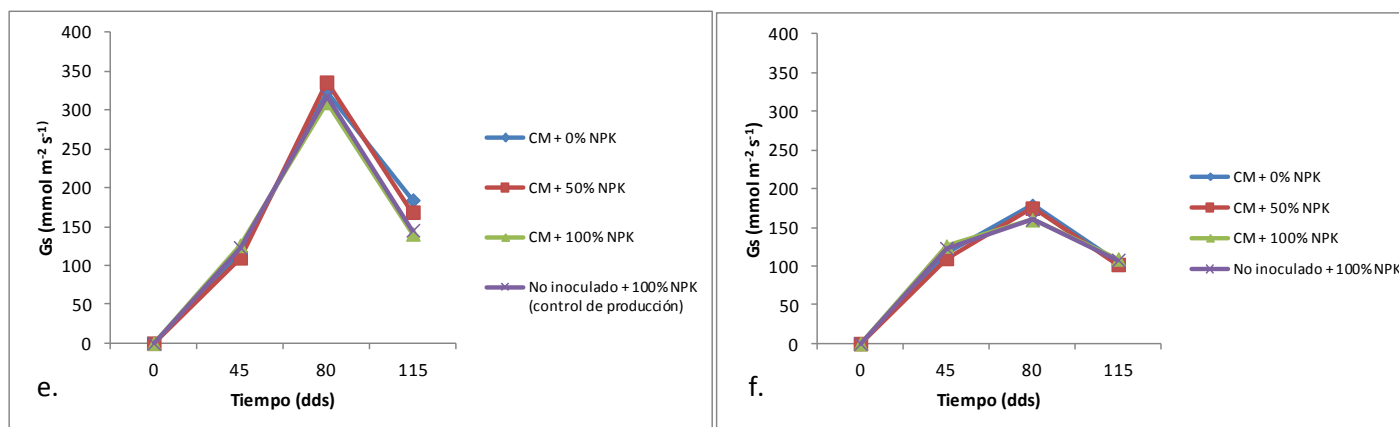


Figura 3. Dinámica de la tasa fotosintética (A), tasa de transpiración (E) y conductancia estomática (G_s) en los tres momentos de medición durante el ciclo de cultivo. Valores determinados en horas del mediodía con DFFF entre 1400 y 1800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. RN = riego normal, DH= déficit hídrico, CM= consorcio microbiano, dds= días después de la siembra.

Es importante destacar que además del análisis entre los tratamientos y el efecto del consorcio sobre el cultivo en condiciones de déficit hídrico y nutricional, se logró determinar los valores referenciales de las variables ecofisiológicas A, E, Gs, EUA de la cebolla en tres fases del cultivo (semillero 45 dds, desarrollo foliar-bulbificación 80 dds, final de la bulbificación-maduración 115 dds), y las variables Ψ_L , $\Psi\pi^{100}$, $\Psi\pi^0$, CRH^0 , ε en el momento clímax del cultivo, utilizando el tratamiento control No inoculado + 100% NPK sin déficit hídrico. Ahora bien, el efecto agregado de todas estas variables se pudo observar en el rendimiento obtenido en cada tratamiento (Figura 4). El cultivo evaluado se cosechó a los 117 dds (correspondiente a los 71 ddt) debido al incremento de la precipitación durante la última semana; sin embargo los bulbos en la condición DH pudieron haberse cosechado 12 días antes como se mencionó en el Capítulo 3.

El mayor rendimiento se obtuvo con el tratamiento control de producción No inoculado + 100% NPK con RN y el tratamiento No inoculado + 100% NPK con DH con $36,40 \text{ t ha}^{-1}$ y $35,71 \text{ t ha}^{-1}$ respectivamente (Figura 4), siendo estos tratamientos similares ($p>0,05$) mostrando así que el estrés hídrico no afectó el rendimiento del cultivo en condiciones no limitantes de nutrientes como se demostró en el Capítulo 3 (Blanco et al., 2021a). El rendimiento obtenido por el tratamiento No inoculado + 100% NPK con DH se asoció con una mayor eficiencia de la asimilación de CO_2 observada de acuerdo con la mayor A mostrada a primeras horas de la mañana (Figura 1a) y a la mayor EUA en horas del mediodía (Figura 1h y Figura 2d) las cuales permitieron conseguir el mismo rendimiento que con el control de producción a pesar del estrés hídrico severo de solo el 67 % del requerimiento hídrico del cultivo aplicado en el ensayo.

Asimismo, el efecto positivo del consorcio microbiano sobre el rendimiento del cultivo se observó al obtener un rendimiento similar ($p>0,05$) entre los tratamientos CM + 50 % NPK con RN ($35,0 \text{ t ha}^{-1}$) y No inoculado + 100 % NPK con RN (control de producción), es decir, que con la presencia del biofertilizante ME01+Leu2A en condiciones no limitantes de agua RN se logró obtener el mismo rendimiento comercial con el ahorro del 50 % de fertilizantes químicos sustituyendo este déficit nutricional con la presencia del CM, y solamente tener la reducción insignificante del 3,8 % en el rendimiento (Figura 4). Este efecto positivo del inóculo CM sobre el rendimiento del cultivo en condiciones de riego normal, especialmente en el tratamiento indicado con el 50 % de déficit nutricional, se relacionó con los mayores valores obtenidos en la tasa de asimilación de CO_2 en los tratamientos inoculados (Figuras 1a, 1b, 2a y 3a), el contenido de N foliar a los 80 dds similar al tratamiento control de producción, y a que esto influyó en la incorporación de biomasa a la planta y se reflejó en el peso seco del bulbo y el peso seco total de la planta a los 115 dds con respecto al tratamiento control de producción no inoculado (datos no mostrados, ver capítulo 6). Además, en términos generales se observó que los tratamientos inoculados en condiciones de estrés hídrico mostraron mayor transpiración (Figuras 1c, 1d

y Figura 2b), probablemente asociada a los cambios del DPV observados en las Tablas 3 y 4, y por consiguiente hubo mayor pérdida de agua que afectó el rendimiento del cultivo en estas condiciones (Figura 4).

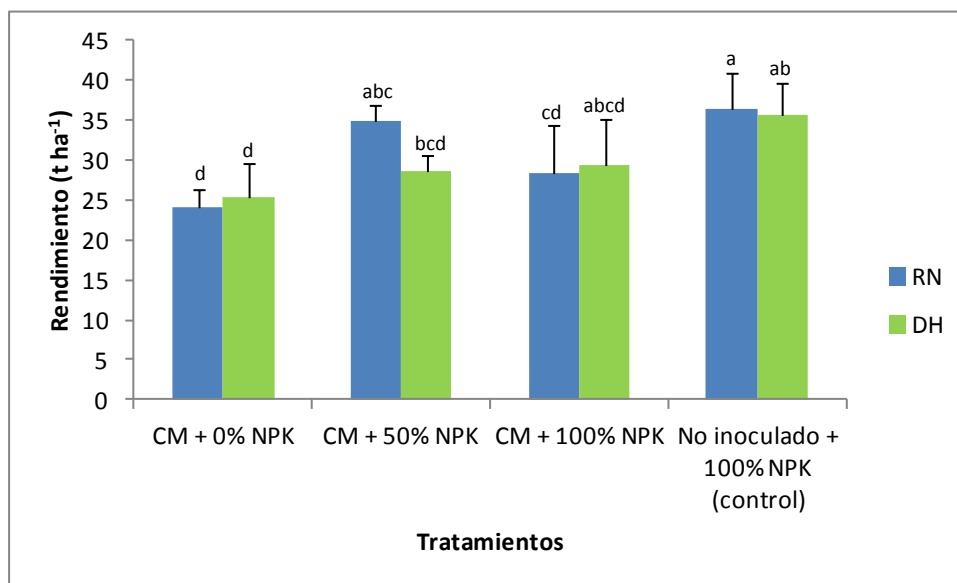


Figura 4. Rendimiento del cultivo de cebolla según los tratamientos aplicados a los 71 ddt o 117 dds. RN= riego normal, DH= déficit hídrico; CM= consorcio microbiano. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) a un nivel de confianza del 95%. Ver Capítulo 3.

DISCUSIÓN

Efecto de los tratamientos sobre el intercambio gaseoso de *A. cepa*

En general, el rango de valores de la *A* para el momento del trasplante son ligeramente superiores a los mostrados por Blanco et al. (2021b) (Capítulo 2) quienes reportaron alrededor de $11 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en plántulas de cebolla de 60 días aunque en condiciones de umbráculo, y los valores obtenidos a los 35 ddt son similares a los reportados por Nava-Sánchez et al. (2004) y Wheeler et al. (2004) quienes mostraron entre 11 y $29 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ aproximadamente para la fase de bulbificación, sin el efecto de inoculantes en cebolla, sin DH, y en condiciones normales de CO_2 , respectivamente. Mientras que, para cualquier momento de medición son superiores a los reportados por Bachie et al. (2019), tanto los de la *A* como los de la *Gs* para seis variedades de cebolla en condiciones de día corto. Por otro lado, las respuestas obtenidas en la presente investigación en condiciones de DH no inoculadas son similares a las obtenidas por Kutty et al. (2014) para el genotipo AK-649 de *A. cepa* (tolerante al estrés hídrico) en cuanto a la

reducción leve de la A, disminución significativa de la E y la Gs, y el incremento de la EUA, en un ensayo realizado sin biofertilizantes. A diferencia de los resultados presentados en esta investigación, en otros estudios encontraron que la aplicación del déficit hídrico durante una, dos, tres y cuatro semanas en los cultivares Arka Kalyan y Agrifound Dark Red de cebolla, redujo de 84% a 92% la tasa fotosintética, lo cual afectó negativamente la biomasa de los bulbos entre 44,4% y 54% (Rao, 2016), además que los valores de A de ambos cultivares son inferiores a los obtenidos en la presente investigación con el híbrido F1 2000, tanto para las condiciones de RN como para las de DH. Con respecto a la Gs, los resultados del presente trabajo sí son consistentes con los de Rao (2016), quien mostró una reducción drástica de la Gs con el déficit hídrico entre una y tres semanas de estrés, con valores similares a los presentes a los 80 y 115 dds. No es usual encontrar que el déficit hídrico no afecte considerablemente la tasa fotosintética como ocurrió en el presente estudio. Generalmente, el estrés hídrico ocasiona una disminución de la A y la Gs, como ocurrió en otra especie monocotiledónea importante tal como el maíz (Song et al., 2020).

En condiciones de déficit nutricional, la presencia de microorganismos puede incrementar la disponibilidad de nutrientes a través de mecanismos como la producción de ácidos orgánicos que modifican el pH rizosférico y pueden producir un efecto positivo sobre la disponibilidad de minerales para las plantas especialmente el fósforo, la producción de sideróforos que forman complejos hierro-sideróforos y con otros metales como Al, Cd, Cu aumentando así la disponibilidad de este elemento y otros para la planta, y la fijación biológica de nitrógeno que facilita la disponibilidad de N a las plantas para su nutrición (Dimkpa et al., 2009; Kumar et al., 2019). En vista de estos mecanismos, el CM pudo haber incidido sobre un mayor aporte de nutrientes, puesto que estos mecanismos ya han sido evaluados en los rizobios inoculantes usados (Marquina et al., 2018; Blanco y Castro, 2021), y por consiguiente promover una mejor actividad fotosintética observada en los tratamientos inoculados con y sin limitación hídrica con el aporte del 50% de NPK. Igualmente, el CM produjo la mayor área foliar en condiciones no limitantes de agua con esta dosis de fertilizante, que pudo favorecer su actividad fotosintética (datos no mostrados; ver Capítulo 6). El efecto positivo del CM sobre la actividad fotosintética ya había sido observado a nivel de plántulas de cebolla, en comparación con plantas no inoculadas (Blanco et al., 2021b). Ahora bien, el rendimiento similar al del control de producción con el ahorro del 50% de fertilizantes NPK y el uso del CM en condiciones no limitantes de agua, pudo deberse a una mayor asimilación de CO₂ observada y mayor EUA a tempranas horas del día. Con respecto a esto, en otro estudio se evaluó un consorcio formado por la cepa ME01 y YE1 (*Bradyrhizobium* sp.) sobre el crecimiento del pimentón, y en dicho estudio se demostró el efecto de los microorganismos sobre el incremento del contenido de clorofila (Castro y Blanco, 2018). En términos generales, los valores mayores obtenidos en la A a los 35 ddt, responden a una mayor demanda de asimilados para el desarrollo de nuevos órganos que ocasiona un aumento en la fotosíntesis, que por su fenología se conoce

para la cebolla en la etapa de bulbificación ocurrida en este tiempo (Blanco et al., 2021a; ver capítulo 3), aumenta la actividad fotosintética debido a la necesidad de la planta en fabricar asimilados para el engrosamiento del bulbo (Casierra y Vargas, 2015).

Los resultados de la presente investigación se relacionan con los de otros investigadores, quienes encontraron que la inoculación con biopelículas de dos bacterias con efecto biofertilizante tendió a aumentar la tasa fotosintética en plantas de té en el tratamiento con el 50% de la dosis de fertilizantes recomendada, esto con respecto a la inoculación con la biopelícula de una sola bacteria, y que además esta inoculación ayudó a incrementar el crecimiento foliar, todo esto comparable con el tratamiento no inoculado con el 100% de la fertilización recomendada (Seneviratne et al., 2009). Estos autores proponen que la inoculación con la biopelícula compuesta por rizobios (*Bradyrhizobium* sp.) y hongos no micorrízicos (*Penicillium* sp.) conducen a la formación de una zona radicular llamada pseudonódulo en plantas de té, arroz y anturios, gracias a la biopelícula microbiana acoplada por los EPS producidos, y protege la actividad metabólica microbiana favoreciendo así el aporte de nitrógeno a la planta derivado de la actividad nitrogenasa por acción rizobiana en especies no leguminosas, y el aporte de otros nutrientes. Con base en estos resultados, es posible que en la presente investigación, una vez que el CM está presente en el suelo forme biopelículas con especies de hongos no micorrízicos y permita la fijación biológica del nitrógeno, incrementando de esta manera el aporte de nitrógeno y fósforo al cultivo de cebolla, y de esta manera induzca una mejor actividad fotosintética. No obstante, la posible formación de esta biopelícula no influyó significativamente sobre el estatus hídrico de la planta.

Efecto de los tratamientos sobre las relaciones hídricas de *A. cepa*

Para la medición del T0 (45 dds), los valores obtenidos de Ψ_L y E en horas del mediodía son similares a los mostrados en plántulas de cebolla variedad Prince de 45 dds sin déficit hídrico (Caldwell et al., 2003). En este mismo estudio se reportaron incrementos de hasta el 100% en la EUA entre potenciales del suelo entre 0 y -1,23 MPa que sugieren una rápida respuesta fisiológica de las plántulas de cebolla ante el déficit hídrico, que difiere de realizar ajustes osmóticos (no acumulación de glicina betaína en las plántulas) (Caldwell et al., 2003). Aunque existen pocos datos de referencia en la literatura sobre variables ecofisiológicas en *A. cepa*, los datos obtenidos del potencial hídrico foliar a los 69 ddt en condiciones no limitantes de nutrientes, e independientemente de la condición de riego, concuerdan con los valores obtenidos por Millar et al. (1971) en horas de mediodía en hojas de cebolla al término del cultivo en campo. Con respecto al potencial osmótico, Millar et al. (1971) determinaron la relación entre el potencial osmótico y el potencial hídrico, y encontraron que a potencial hídrico foliar muy cercano a cero, el potencial osmótico foliar está alrededor de -0,4 MPa, el cual es muy alto en comparación a muchas

especies vegetales que con potencial hídrico cercano a cero alcanzan alrededor de -1,0 MPa. Igualmente, encontraron que la presión de turgor de la cebolla es muy baja en comparación con otras especies. Es por esto que el resultado de las curvas presión-volumen es coherente en cuanto a la no modificación de estos potenciales. Otras investigaciones sobre relaciones hídricas en cebolla han mostrado que en condiciones de estrés hídrico durante cuatro semanas a partir de los 30 ddt y 50 ddt, el CRH del tejido foliar varía significativamente entre plantas estresadas y no estresadas dependiendo del genotipo utilizado, permitiendo de esta manera seleccionar como variedades tolerantes al estrés hídrico las que mantengan un alto CRH en condiciones de estrés, así como gran área foliar y alta cosecha de bulbos, como los genotipos AK-649 y AFLR (Kutty et al., 2014).

Según Millar et al. (1971), las hojas de cebolla operan a muy baja presión de turgencia, por lo que esto influye sobre la apertura estomática y la absorción de CO₂. Un pequeño cambio en la presión de turgor ocasiona grandes cambios en la conductancia estomática en cebolla, por lo que estos autores consideraron que los estomas de esta hortaliza son muy sensibles al déficit hídrico, hecho que se corroboró con los resultados del presente trabajo luego del drástico cierre estomático en horas del mediodía en condiciones de DH. Además, Pérez-Ortolá y Knox (2014) confirmaron que la conductancia estomática correlaciona linealmente con el potencial hídrico foliar en cebolla.

En este sentido, ya ha sido reportado que las plantas pueden disminuir la pérdida de agua a través del cierre estomático para hacer un uso más eficiente del agua (Chelli-Chaaboum, 2014; Azócar y Rada, 2006), y este mecanismo a su vez podría afectar los procesos de absorción de agua, nutrientes, y la fotosíntesis. Sin embargo, en el presente estudio, la absorción de CO₂ no se vio afectada con el cierre estomático, sino que solo se relacionó con la transpiración. El cierre estomático ocasionó además el incremento de la temperatura foliar, lo que podría haber resultado en la desnaturalización de proteínas, especialmente enzimas, así como cambios en la flexibilidad de la membrana, lo cual puede incidir sobre aspectos metabólicos y producir disturbios en procesos como la fotosíntesis, la respiración, la captura de iones, la nutrición mineral, y la síntesis de aminoácidos (Salehi-Lisar y Bakhshayeshan-Agdam, 2016). No obstante, en el presente trabajo esto no afectó el rendimiento obtenido en la condición de DH, sin la presencia del CM.

En contraste con los resultados presentados, el estudio realizado por Creus et al. (2004) demostró que plantas de trigo inoculadas con *Azospirillum brasilense* Sp245 en condiciones de estrés hídrico durante 25 días, mostraron un mayor potencial hídrico, y redujeron su módulo de elasticidad (mayor elasticidad) de la pared celular en respuesta al factor de estrés, mejorando la tolerancia ante este estrés inducido debido a que el inoculante contrarrestó el 16,4 % de los efectos negativos de la sequía sobre el rendimiento del grano y promovió un mayor rendimiento de este y un aumento de la calidad de semillas; asimismo,

identificaron un ajuste osmótico (disminución del $\Psi\pi^{100}$) en presencia o no del inóculo en condiciones de sequía. Por otro lado, otras variedades de cebolla también han mostrado ajustes osmóticos y alteración de su ruta bioquímica (acumulan prolina, sólidos solubles totales y mayor actividad enzimática antioxidante) bajo condiciones de estrés hídrico como mecanismos de tolerancia, pero con una reducción significativa del rendimiento (Ghodke et al., 2018). Sin embargo, en la presente investigación el módulo de elasticidad para la cebolla bajo el tratamiento DH no inoculado presentó paredes celulares más rígidas resultando esto como una mayor capacidad para resistir los potenciales hídricos más negativos en el suelo y así sobrevivir a mayores pérdidas de agua. Esto puede interpretarse como un mecanismo para extraer más agua del suelo bajo potenciales hídricos foliares más bajos (Lambers y Oliveira, 2019; Azcón-Bieto y Talón, 2013). Estos autores también mencionan que un módulo de elasticidad más alto conduce a menores ajustes osmóticos en la planta. Bajo este mismo enfoque, Vega y Mejía (2017) también reportaron un aumento en la rigidez de la pared celular ($>\epsilon$) en respuesta a las limitaciones de agua en tratamientos con riego controlado en frijol común.

Estas observaciones indican que la respuesta fisiológica de las plantas ante el déficit hídrico no es única, y que esta depende de la especie utilizada e inclusive de la variedad de la misma especie, y que según los parámetros evaluados a posteriori como el rendimiento, se pueda indicar si la planta fue tolerante ante el estrés evaluado; y dependiendo de ello, la presencia de un inóculo bacteriano puede ser una ventaja o una desventaja en cultivos estresados.

En el presente estudio el incremento de la transpiración en los tratamientos inoculados en la condición de DH podría tener al menos una posible explicación, y esta es que de acuerdo a que no hubo diferencias en la Gs entre los tratamientos inoculados y no inoculados en esta condición de estrés, la diferencia en la transpiración pudiera estar asociada a cambios en el DPV, que aunque no fueron significativos se observó una tendencia clara soportada por las diferencias de Tf entre tratamientos inoculados y el tratamiento no inoculado. Es preciso mencionar que en el presente estudio también se observó menor área foliar en estos tratamientos inoculados en la condición DH (ver Capítulo 6), que podría haber ocasionado una menor difusión de calor en la hojas de estos tratamientos y por ello la Tf más elevada.

Para Yang et al. (2009), en condiciones de sequía, las RPCV pueden producir citoquininas, lo cual contrarresta el aumento de ácido abscísico (ABA) que se incrementa en las plantas en respuesta al factor de estrés hídrico y que es necesario para que las plantas toleren la sequía (Davies et al., 2005). En lo concerniente a la presente investigación, la producción de citoquininas y el resto de fitohormonas en rizobios ya ha sido reportado (Kumar et al., 2019). Boiero et al. (2007) determinaron la producción de zeatina (una citokinina) por tres cepas de *Bradyrhizobium japonicum* (similar al género de la cepa

Leu2A) asociada a la promoción del crecimiento en soja; asimismo, la producción de antioxidantes por parte de las rizobacterias podría regular el aumento de especies reactivas al oxígeno (ERO) que también aumentan en respuesta al estrés hídrico conforme incrementa el ABA y que posteriormente causan un cierre estomático (Schulze et al., 2019; Yang et al., 2009; Taiz y Zeiger, 2010), siendo entonces este un efecto reductor del estrés oxidativo en la planta.

Es también importante mencionar que los flavonoides actúan como agentes antioxidantes y que estos disminuyen la acumulación de ERO, por lo tanto, también contrarrestan la acción del ABA en las plantas inoculadas (Watkins et al., 2014; Watkins et al., 2017). Adicionalmente, se sabe que el control de ERO vía producción de flavonoides también es regulado hormonalmente, ya que la auxina y el etileno incrementan la síntesis de flavonoides a través de cambios en la expresión de los genes que codifican las vías enzimáticas (Lewis et al., 2011). La presencia del CM podría ocasionar un incremento en la producción de flavonoides indirectamente a través de la producción de ácido indolacético por las cepas del CM que a su vez induce la producción de etileno mejorando la actividad de la ACC (1-aminociclopropano-1-carboxílico) sintasa (Marquina et al., 2018; Taiz y Zeiger, 2010); y directamente debido a la quimiotaxis por efecto de la interacción planta-microorganismo (Lemanceau et al., 2017), aunado a la producción de forma natural de flavonoides estimulada en las plantas en condiciones de estrés ambiental, que permite autorregular el estrés inducido por la síntesis de ERO (Watkins et al., 2014), y a su vez la síntesis de flavonoides. Incluso, la producción de antioxidantes sugerida para el CM en condiciones de DH, podría haber disminuido el posible daño al aparato fotosintético como consecuencia de las ERO, observándose esto en las mayores tasas de asimilación de CO₂ en el tratamiento inoculado + 50 % NPK para estas condiciones de estrés hídrico. Estos resultados son apoyados por Gururani et al. (2012), quienes demostraron que las RPCV (*Bacillus pumilus* y *Bacillus firmus*) en *Solanum tuberosum* bajo condiciones de estrés hídrico, estrés salino, y presencia de metales pesados, funcionaron como elicitores de una mayor tolerancia de las plantas ante estos estreses abióticos en comparación con plantas no inoculadas, a través del incremento de la eficiencia fotosintética, de la actividad enzimática específica inhibidora de ROS, actividad ACC deaminasa, y del contenido de prolina, este último considerado como un ajuste osmótico. En el presente estudio, la presencia del CM no estimuló un ajuste osmótico, pero si incidió sobre una mayor eficiencia fotosintética y posiblemente sobre el control del estrés oxidativo. Con respecto al efecto del déficit hídrico y los tratamientos sobre el rendimiento de la cebolla, este punto ya fue discutido detalladamente en el Capítulo 3 (Blanco et al., 2021a).

CONCLUSIONES

En lo concerniente al presente capítulo, se destacó el efecto del CM sobre una mayor actividad fotosintética en condiciones no limitantes de agua que permitió alcanzar el mismo rendimiento que el control de producción, además con el ahorro del 50% de NPK. Por otro lado, se demostró que el híbrido de cebolla utilizado en ausencia del CM incrementó su módulo de elasticidad en condiciones de déficit hídrico, además no realizó ajustes osmóticos, y el cierre estomático fue el mecanismo de evasión más importante en respuesta ante la falta de agua, lo que conllevó a una mayor EUA_f . En general, en términos ecofisiológicos por la EUA_f observada, se recomienda el uso del CM + 50% NPK en condiciones de riego normal, y en términos de producción evitar someter el cultivo a estrés nutricional en condiciones de déficit hídrico, para de esta forma lograr el mismo rendimiento que el control de producción con el ahorro de casi el 35% de agua en el cultivo. El híbrido F1 2000 de cebolla se consideró como tolerante al estrés hídrico, y este permitiría reducir el volumen de riego aplicado para incorporar esta estrategia agroecológica en lugares donde el agua es un factor limitante con un sentido práctico, productivo, y agroecológico.

REFERENCIAS

- Aroca, R., Ruiz-Lozano, J.M., 2009. Induction of plant tolerance to semi-arid environments by beneficial soil microorganisms – a review. En: E. Lichtfouse (ed.), *Climate Change, Intercropping, Pest Control and Beneficial Microorganisms, Sustainable Agriculture Reviews 2*. Springer Science+Business Media B.V. Pag. 121-135. DOI 10.1007/978-90-481-2716-0_7.
- Ataroff, M., Sarmiento, L., 2004. Las unidades ecológicas de Los Andes de Venezuela. En: La Marca, E., Soriano, P. (Eds), *Reptiles de Los Andes de Venezuela*. Fundación Polar, Codepre-ULA, Fundacite-Mérida, BIOGEOS, Mérida, Venezuela, pp. 11-26.
- Augé, R.M., 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11: 3-42.
- Azcón-Bieto, J., Talón, M., 2013. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. 2da ed. Mc Graw Hill. Barcelona. 651 p.
- Azócar, A., Rada, F., 2006. *Ecofisiología de plantas de páramo*. Centro editorial Litorama, C.A. Mérida, Venezuela. 182 p.
- Bachie, O.G., Santiago, L.S., McGiffen, M.E., 2019. Physiological responses of onion varieties to varying photoperiod and temperature regimes. *Agriculture* 9: 214. doi:10.3390/agriculture9100214.
- Blanco, E.L., Marquina, M.E., Castro, Y., 2013. Respuestas a la aplicación de carbamatos en dos aislados rizobianos provenientes de Mucuchíes, estado Mérida, Venezuela. *Bioagro* 25(2): 117-128.

- Blanco, E.L., Reyes, I., 2018. Aplicación de un biosustrato compuesto por microorganismos y roca fosfórica sobre el cultivo de dos variedades de lechuga (*Lactuca sativa* L.) [Application of a biological substrate mixture composed by microorganisms and rock phosphates to two lettuce cultivars (*Lactuca sativa* L.)]. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 35: 408-434.
- Blanco, E.L., Rada, F., Paolini, J., Guerrero, J.A., 2021a. Effects of induced water deficit and biofertilization on growth dynamics and bulb yield of onion (*Allium cepa* L.) in a neotropical semi-arid environment. Can. J. Soil. Sci. 101(3): 494-506. DOI: dx.doi.org/10.1139/cjss-2021-0011.
- Blanco, E.L., Rada, F., Castro, Y., Paolini, J., 2021b. Selección de un consorcio microbiano promotor del crecimiento de plántulas de cebolla en condiciones de umbráculo [Selection of a growth promoter microbial consortium in onion seedlings under shade-house conditions]. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 38(2): 301-321.
- Blanco, E.L., Castro, Y., 2021. Antagonismo de rizobacterias sobre hongos fitopatógenos, y su actividad microbiana con potencial biofertilizante, bioestimulante y biocontrolador. Rev. Col. Biotechnol. 23(1): 6-16. DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v23n1.84808.
- Boiero L., Perrig, D., Masciarelli, O., Penna, C., Cassán, F., Luna, V., 2007. Phytohormone production by three strains of *Bradyrhizobium japonicum* and possible physiological and technological implications. Appl. Microbiol. Biotechnol. 74: 874–880.
- Caldwell, T.J., Lada, R., Hooper, D., 2003. Physiological responses of onion (*Allium cepa* L.) seedlings exposed to drought. Acta Hort. 618: 321-327. DOI: 10.17660/ActaHortic.2003.618.37.
- Casierra, F., Vargas, N., 2015. Fisiología del crecimiento y la nutrición en cebolla de bulbo (*Allium cepa* L. hib. “Yellow Granex”) en condiciones tropicales. Editorial UPTC, Tunja, 156 p.
- Castro, Y., Blanco, E.L., 2018. Estimación del contenido de clorofila y nitrógeno en plantas de pimentón inoculadas con bacterias rizosféricas. Revista Científica UNET 30 (1): 105-112.
- Chelli-Chaaboum, A., 2014. Mechanisms and Adaptation of Plants to Environmental Stress: A case of Woody species. En: Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment. Parvaiz Ahmad y Mohd Rafiq Wani. Springer. p.p 1-18.
- Creus, C.M., Sueldo, R.J., Barassi, C.A., 2004. Water relations and yield in *Azospirillum*-inoculated wheat exposed to drought in the field. Can. J. Bot. 82: 273-281. doi: 10.1139/B03-119.
- Davies, W.J., Kudoyarova, G., Hartung, W., 2005. Long-distance ABA Signaling and Its Relation to Other Signaling Pathways in the Detection of Soil Drying and the Mediation of the Plants Response to Drought. J. Plant Growth Regul. 24: 285-295.

- Dimkpa, C., Weinand, T., Asch, F., 2009. Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plan, Cell and Environment* 32: 1682-1694.
- FAO. 2020. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>. (consulta del 25/08/2020).
- Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A., Siddique, K.H.M., 2012. Drought Stress in Plants: An Overview. En: *Plant Responses to Drought Stress*. Aroca, R. Springer. Germany. 460 pp.
- Ghodke, P.H., Andhale, P.S., Gijare, U.M., Thangasamy, A., Khade, Y.P., Mahajan, V., Singh. M., 2018. Physiological and Biochemical Responses in Onion Crop to Drought Stress. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 7(1): 2054-2062.
- Gururani, M.A., Upadhyaya, C.P., Baskar, V., Venkatesh, J., Nookaraju, A., Park, S.W., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance abiotic stress tolerance in *Solanum tuberosum* through inducing changes in the expression of ROS-scavenging enzymes and improved photosynthetic performance. *J. Plant Growth Regul.* DOI 10.1007/s00344-012-9292-6.
- InfoStat Statistical Software. 2002. InfoStat/Profesional Versión 2.0. Estadística y Diseño-F.C.A., Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Kumar, A., Meena, V.S., Roy, P., Vandana, Kumarli, R., 2019. Role of Rhizobia for sustainable agriculture: Lab to Land. In: A. Kumar, V. S. Meena (Eds.), *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Agricultural Sustainability*, Springer Nature, Singapore. p. 129-149. https://doi.org/10.1007/978-981-13-7553-8_7.
- Kumar, S., Imtiyaz, M., Kumar, A., Singh, R., 2007. Response of onion (*Allium cepa* L.) to different levels of irrigation water. *Agricult. Water Manag.* 89: 161-166. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2007.01.003>.
- Kutty, M.S., Gowda, R.V., Rao, N.K.S., 2014. Genotypic variability for physiological, biochemical and morphological responses to drought stress in onion (*Allium cepa* L.). *Trop. Agric. (Trinidad)* 91(4): 202-219.
- Lambers, H., Oliveira, R.S., 2019. *Plant Physiological Ecology*. Third Edition. Springer. New York, USA. 736 p.
- Lancheros, R., Caicedo, L., Navarro, Y., 2002. Polisacáridos rhizobianos, una nueva alternativa. *Ingeniería e Investigación* 49: 4-8.
- Lemanceau, P., Barret, M., Mazurier, S., Mondy, S., Pivato, B., Fort, T., Vacher, C., 2017. Plant communication with associated microbiota in the spermosphere, rizhosphere and phyllosphere. En: G. Becard (Ed.), *How plants communicate with their biotic environment*, *Advances in Botanical Research*, 82. pp. 101-133. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.abr.2016.10.007>.
- Lewis, D.R., Ramírez, M.V., Miller, N.D., Vallabhaneni, P., Ray, W.K., Helm, R.F., Winkel, B.S.J., Muday, G.K., 2011. Auxin and ethylene induce flavonol accumulation through distinct transcriptional networks. *Plant Physiol.* 156(1): 144-164. doi: 10.1104/pp.111.172502.

- Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P.C., Sohrabi, E., 2010. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Aust. J. Crop Sci.* 4(8): 580-585.
- Marquina, M., González, N., Castro, Y., 2011. Caracterización fenotípica y genotípica de doce rizobios aislados de diversas regiones geográficas de Venezuela. *Biología Tropical* 59(3): 1017-1036.
- Marquina, M.E., Ramírez, Y., Castro, Y., 2018. Efecto de bacterias rizosféricas en la germinación y crecimiento del pimentón *Capsicum annuum* L. var. Cacique gigante. *Bioagro* 30 (1): 3-16.
- Martínez, M., Vera, P., Ruiz, M., Villalobos, M.A., Arroyo, A., Suárez, L., Rosas, F., 2018. Resistencia y tolerancia a estrés abiótico: Mecanismos sofisticados de adaptación de las plantas ante distintas condiciones de estrés. *Frontera Biotecnológica* 5: 21-25.
- Mebrahtu, Y., Woldemichael, A., Habtu, S., 2018. Response of onion (*Allium cepa* L.) to deficit irrigation under different furrow irrigation water management techniques in Raya Valley, Northern Ethiopia. *Afr. J. Plant Sci.* 12(5): 105-113. DOI: 10.5897/AJPS2018.1655.
- Millar, A.A., Gardner, W.R., Goltz, S.M., 1971. Internal water status and water transport in seed onion plants. *Agronomy Journal* 63: 779-784.
- Montgomery, D. 1991. Diseño y análisis de experimentos. Editorial Iberoamericana. 541 p.
- Moreno, A., García, V., Reyes, J.L., Vázquez, J., Cano, P., 2018. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 20(1): 68-83. DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707.
- Muhsen, T.A.A., Hameld, A.S., Al-Attabl, M.S.Y., 2019. The enhancement of drought tolerance for plant onion (*Allium cepa* L.) inoculated by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Archives* 19(2): 847-853.
- Nava-Sánchez, R., Almaguer-Vargas, G., Pérez-Grajales, M., Maldonado-Torres, R., Cárdenas-Soriano E., 2004. Fertilización foliar en cebolla. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 10(2): 159-163.
- Patil, D.G., Subramaniam, V.R., 2020. Combining ability analysis for yield and processing qualities in white onion (*Allium cepa* L.). *Curr. Agri. Res.* 8(1): 18-24.
- Pawar, S., Bhosale, A.A., Gawade, T.B., Nale, T.R., 2013. Isolation, screening and optimization of exopolysaccharide producing bacterium from saline soil. *J. Microbiol. Biotech. Res.* 3(3): 24-31.
- Pérez-Ortolá, M., Knox, J.W., 2014. Water relations and irrigation requirements of onion (*Allium cepa* L.): a review of yield and quality impacts. *Exp. Agric.* 51 (02): 2010-231. <https://doi.org/10.1017/S0014479714000234>.
- Rao, N.K.S., 2016. Onion. En: Rao et al. (Eds). *Abiotic stress physiology of horticultural crops*. Springer India. DOI 10.1007/978-81-322-2725-0_8.

- Salehi-Lisar, S.Y., Bakhshayeshan-Agdam, H., 2016. Drought stress in plants: causes, consequences, and tolerance. En: M.A. Hossain et al. (eds.), Drought stress tolerance in plants, vol 1. Springer International Publishing Switzerland. 16 p. DOI 10.1007/978-3-319-28899-4_1.
- Santiago, C.D., Yagi, S., Ijima, M., Nashimoto, T., Sawada, M., Ikeda, S., Asano, K., Orikasa, Y., Ohwada, T., 2017. Bacterial compatibility in combined inoculations enhances the growth of potato seedlings. *Microbes Environ.* 32: 14–23.
- Saxena, R., Kumar, M., Singh Tomar, R., 2019. Plant responses and resilience towards drought and salinity stress. *Plant Archives* 19(2): 50-58.
- Seneviratne, G., Thilakaratne, RMMS., Jayasekara, APDA., Seneviratne, KACN., Padmathilake, KRE., De Silva, MSDL., 2009. Developing Beneficial Microbial Biofilms on Roots of Non legumes: A Novel Biofertilizing Technique. En: M.S. Khan et al. (eds.), *Microbial strategies for crop improvement*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Pag. 51-62. DOI: 10.1007/978-3-642-01979-1_3.
- Schulze, E.D., Beck, E., Buchmann, N., Clemens, S., Müller-Hohenstein, K., Scherer-Lorenzen, M., 2019. *Plant Ecology*. Springer. Alemania. 926 p.
- Singh, K., Ghosh, A.K., 2010. Effect of arsenic on photosynthesis, growth and its accumulation in the tissues of *Allium cepa* (onion). *International Journal of Environmental Engineering and Management* 1(1): 39-50.
- Song, X., Zhou, G., He, Q., Zhou, H., 2020. Stomatal limitations to photosynthesis and their critical water conditions in different growth stages of maize under water stress. *Agricult. Water Manag.* 241: 106330. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106330>.
- Statistical Graphics Corporation. 2002. *Statgraphics Plus Versión 5.1*.
- Taiwo, L.B., Oyedele, A. O., Ailenokhuoria, B.V., Okareh, O.T., 2019. Plant-Microbes Relationships in soil ecological system and benefits accruable to food health. En: D.K. Maheshwari y S. Dheeman (eds.). *Field Crops: Sustainable Management by PGPR. Sustainable Development and Biodiversity* 23. Springer, Cham. Pag. 177-190.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2010. *Plant Physiology*. 5th ed. Sinauer Associates Inc. USA. 755 p.
- USDA United States Department of Agriculture. 2020. https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/survey/class/maps/?cid=nrcs142p2_053594 (consulta del 17/06/2020).
- Vega, C., Mejía, J.A., 2017. Módulo de elasticidad como criterio de regulación hídrica del frejol común (*Phaseolus vulgaris* L.) bajo reducciones controladas de riego. *Investigación & Desarrollo* 17 (1): 15–25. DOI: 10.23881/idupbo.017.1-2i.
- Volpiano, C.G., Lisboa, B., Granada, C., Sao José, J., De Oliveira, A., Beneduzi, A., Perevalova, Y., Passaglia, L., Vargas, L., 2019. Rhizobia for biological control of plant diseases. En: V. Kumar et al. (eds.), *Microbiome in Plant Health and Disease*. Springer Nature Singapore. Pp. 315-336. doi.org/10.1007/978-981-13-8495-0_14.
- Watkins, J.M., Hechler, P.J., Muday, G.K., 2014. Ethylene-induced flavonol accumulation

- in guard cells suppresses reactive oxygen species and moderates stomatal aperture. *Plant Physiol.* 164: 1707-1717.
- Watkins, J.M., Chapman, J.M., Muday, G.K., 2017. Absciscic acid-induced reactive oxygen species are modulated by flavonols to control stomata aperture. *Plant Physiol.* 175: 1807-1825.
- Wheeler, T.R., Daymon, A.J., Morison, J.I.L., Ellis, R.H., Hadley, P., 2004. Acclimation of photosynthesis to elevated CO₂ in onion (*Allium cepa*) grown at a range of temperatures. *Ann. appl. Biol.* 144:103-111.
- Yang, J., Kloepper, J.W., Ryu, Ch.M., 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science.* 14(1): 1- 4.
- Zheng, J., Huang, G., Wang, J., Huang, Q., Pereira, L.S., Xu, X., Liu, H., 2013. Effects of water deficits on growth, yield and water productivity of drip-irrigated onion (*Allium cepa* L.) in an arid region of Northwest China. *Irrig. Sci.* 31: 995-1008.
- Zhengwei, Z., Fang, W., Lee, H.Y., Yang, Z., 2005. Responses of *Azorhizobium caulinodans* to cadmium stress. *FEMS Microbiol. Ecol.* 54: 455–461.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO 5

Efecto de un consorcio microbiano promotor del crecimiento vegetal sobre la actividad microbiológica y enzimática de un suelo cultivado con cebolla bajo condiciones de déficit hídrico y nutricional

RESUMEN

Las actividades de los microorganismos para producir y liberar metabolitos que estimulan el crecimiento de las plantas y favorecen la salud vegetal son consideradas como uno de los factores más importantes en la fertilización biológica de los suelos, siendo las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) una de las biotecnologías más utilizadas. En este estudio se determinó el efecto de un consorcio microbiano sobre la actividad biológica (respiración basal), la biomasa microbiana y los diferentes índices ecofisiológicos (q_{Mic} , q_{CO_2} , y $q_{CO_2} C-org^{-1}$) y sobre la actividad enzimática de un suelo cultivado bajo déficit hídrico y fertilización inorgánica. En una parcela experimental en San Juan de Lagunillas, Mérida, se realizó un ciclo de cultivo de *Allium cepa*, bajo déficit hídrico y fertilización (0 %, 50 %, 100 % NPK) e inoculación con el consorcio ME01 (*Rhizobium tropici*) y Leu2A (*Bradyrhizobium japonicum*) en un diseño bifactorial en bloques completamente aleatorizados con tres repeticiones. El consorcio rizobiano logró incrementar la biomasa microbiana con 0% NPK en condiciones no limitantes y limitantes de agua, favoreciendo de esta manera a las comunidades microbianas autóctonas, mejorando además el cociente microbiano y tendiendo a mejorar el cociente de eficiencia metabólica. Por su parte, la dosis 100 % NPK causó un estrés metabólico en las bacterias inoculadas, ya que tendió a disminuir la eficiencia ecofisiológica de la microbiota. Las variables bioquímicas del suelo deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, ureasa, y amonificación de arginina resultaron sensibles a la aplicación del inoculante y el estrés hídrico. Se sugiere que los consorcios microbianos podrían resistir mejor los periodos de limitación de nutrientes debido a la diversidad metabólica disponible por la variedad de especies, y que el consorcio microbiano planteado podría ser una alternativa para mejorar la calidad y salud del suelo en condiciones de baja concentración de fertilizantes, en especies tolerantes a la sequía y en zonas semiáridas.

Palabras clave: actividad enzimática del suelo, biofertilizantes, fertilización inorgánica, índices ecofisiológicos, propiedades microbiológicas del suelo.

INTRODUCCIÓN

En el suelo, como en el ámbito de la rizósfera de los sistemas agrícolas, las interacciones biológicas tienen mayor significado porque se les relaciona con la producción vegetal (Altamirano, 2003; Marinari et al., 2014). Para estudios de la comunidad bacteriana del suelo es muy utilizado el enfoque o criterio funcional, el cual es una alternativa para estimar la

diversidad que se basa en las características metabólicas de los microorganismos y constituye así una herramienta útil, pues es consecuencia de la diversidad genética, de los efectos ambientales sobre la expresión genética y de las interacciones ecológicas con otros taxa y toma en cuenta un atributo de la comunidad microbiana como lo es la función (Zak et al., 1994; Zamora et al., 2012). Además, el enfoque funcional evita subestimar la comunidad total microbiana como ocurre al utilizar el enfoque estructural (conteo directo en medios de cultivo), ya que solo hasta el 10% del total de microorganismos puede ser cultivable (Barriuso et al., 2008). Los microorganismos son indicadores sensibles por responder a prácticas de manejo de suelos en cortos periodos (meses, años) y resultan de fácil evaluación (Frioni et al., 2003). Aunque con frecuencia se hace referencia a la calidad y salud del suelo como sinónimos, en la calidad se considera a las características físicas y químicas por encima de las biológicas, mientras que, la salud del suelo es principalmente una característica ecológica (Van Bruggen y Semenov, 2000), y por lo tanto, debe ser reflejada a través de un conjunto de parámetros estandarizados que muestren el estado de equilibrio dinámico y los cambios inducidos en el mismo por sistemas de producción, prácticas de manejo, clima y actividad del hombre, en los que los indicadores biológicos pueden ser por ejemplo los recuentos, la biomasa microbiana, la actividad enzimática, la respiración, la medida de la biodiversidad, y el N-mineralizable (Frioni et al., 1999; Dash et al., 2019).

Las propiedades microbiológicas del suelo responden a la actividad de los organismos vivos y a sustancias producidas por ellos. Así, la detección de una mayor actividad enzimática puede ser interpretada como una mayor diversidad funcional de la comunidad microbiana de la rizósfera, y la función de los exudados radicales tienen un efecto directo sobre la expresión o la represión de la actividad enzimática extracelular de la rizósfera (Gianfreda, 2015). Aunado a la actividad enzimática, que puede ser intracelular o extracelular, otras propiedades se determinan para conocer la biomasa microbiana y están muy relacionadas con el ciclo del carbono en el suelo, pues se sabe que la materia seca microbiana está compuesta por 50 % de carbono (Coyn, 2000); y entre estas propiedades se determina el C orgánico total.

La biomasa microbiana (C_{mic}) es definida por Jenkinson y Ladd (1981) como el componente biótico fúngico y bacteriano presente en la materia orgánica del suelo (MOS) excluyendo a la microfauna y las raíces de las plantas. La biomasa microbiana también precisa el componente funcional de la microbiota del suelo, responsable principalmente de la descomposición y reconversión de la materia orgánica y la transformación de nutrientes (Dalal y Meyer, 1987; Smith y Paul, 1990; Witter, 1996). Las medidas de biomasa microbiana por varios métodos indican que entre el 1 % y el 5 % de C orgánico total del suelo se almacena en los tejidos vivos (Alef y Nannipieri, 1995). Con esta variable se cuantifica indirectamente la cantidad de microorganismos presentes en el suelo y es una fracción muy sensible que permite inferir cambios en la MOS ocasionados por las prácticas de manejo agrícola (Paolini, 2018). Por otra parte, la actividad microbiana o respiración basal (RB) permite medir el desprendimiento de CO_2 , producto de la mineralización de la MOS en condiciones controladas de laboratorio, siendo esta una actividad fundamental del ciclo del C en la que los

microorganismos devuelven este elemento a la atmósfera en forma de CO_2 (Paolini, 2018). Ahora bien, existe una forma de encontrar la relación entre la RB, la biomasa microbiana y el C orgánico (C-orgánico) y esta es a través de los cocientes metabólicos como el cociente microbiano (q_{Mic}), el cociente metabólico o ecofisiológico (q_{CO_2}), y el cociente respiratorio o cociente de eficiencia metabólica ($q_{\text{CO}_2}/\text{C-orgánico}$) (Sparling, 1992; Dilly et al., 2001; Insam y Haselwandter, 1989; Dilly, 2005).

La actividad biológica global del suelo se considera como toda la actividad realizada por los organismos vivos, y a sustancias producidas por ellos. Esta actividad también puede reflejarse a través de la medición de la actividad enzimática, y con esta, medir el impacto agrícola (Frioni, 1999; Piotrowska-Dlugosz, 2014). En el suelo existen variadas enzimas intracelulares o endoenzimas liberadas de células desintegradas, extracelulares o exoenzimas liberadas de células vivas, y enzimas unidas a constituyentes celulares (Tabatabai, 1995; Jupinder et al., 2020). Dicho pool enzimático contiene las enzimas producidas por los microorganismos (bacterias y hongos), y las derivadas de la MOS (raíces, residuos vegetales lisados, tracto digestivo de animales pequeños, etc.) (Rao et al., 2014). Algunas de las actividades enzimáticas más detectadas son: actividad deshidrogenasa, actividad nitrato reductasa, ureasa, celulasa, glucosidasa, y fosfatasa (Piotrowska-Dlugosz, 2014). Las prácticas agronómicas pueden influir en la comunidad microbiana del suelo y con ello inhibir la actividad enzimática de los microorganismos por la presencia del producto (como los fertilizantes químicos). El uso de las enzimas del suelo ha sido reportado como bioindicador de la calidad del suelo porque provee información sobre los ciclos de nutrientes como C, P, N y S, y sobre la capacidad del suelo para realizar reacciones biogeoquímicas (Jupinder et al., 2020; Ebrahimi et al., 2021). Dada esta importancia, en recientes estudios se han utilizado programas de inteligencia artificial como las redes neuronales artificiales (ANN) y la programación de expresión génica (GEP) como técnicas alternativas de los estudios estadísticos clásicos, para estudiar tanto las propiedades biológicas del suelo como su actividad enzimática, y en donde destaca la determinación de la actividad ureásica con estos modelos (Ebrahimi et al., 2021).

Por lo general, se considera que la fertilización inorgánica incrementa el contenido de los elementos minerales en el suelo, pero esta práctica también disminuye varias actividades enzimáticas en la rizósfera; mientras que, la fertilización orgánica incrementa o mejora la mayoría de las actividades enzimáticas tanto en la rizósfera como en el suelo (Gianfreda, 2015). Por ejemplo, Armado et al. (2009) determinaron una menor actividad ureásica y actividad de amonificación de arginina en suelos cultivados en donde normalmente se aplica urea como fertilizante, y con esto se libera amonio (producto) al suelo. De la misma forma, el pH del suelo favorece ciertas actividades enzimáticas como la fosfomonoesterasa, siendo más activa la fosfatasa alcalina en suelo neutro-alcalinos ($\text{pH} \geq 6,5$), y más activa la fosfatasa ácida en suelos con pH más ácidos ($\text{pH} \approx 4$) (Ruiz, 2001; Armado et al., 2009). Igualmente se ha observado que el fósforo orgánico y el nitrógeno total están fuertemente correlacionados con la actividad fosfatasa, y que el efecto del nitrógeno total influencia más esta actividad,

especialmente en la fosfatasa ácida, durante la evolución del ecosistema a largo plazo, así como la baja disponibilidad de agua en zonas áridas y semiáridas también se asocian a una actividad fosfatasa muy baja (Margalef et al., 2017). Otros estudios sugieren que los microorganismos modifican su actividad enzimática por efecto de los estreses ambientales. Entre estos, Sanaullah et al. (2011) proponen que factores abióticos como la sequía, y factores bióticos como la composición de especies vegetales son los factores que influyen la respuesta de las enzimas de la rizósfera. Con respecto al déficit hídrico se ha propuesto que las enzimas del suelo más los exudados radicales participan en la tolerancia a la sequía en algunas variedades de maíz (Song et al., 2012). La actividad biológica del suelo también puede afectarse por la adición de sustratos de C orgánico al suelo, o por el incremento del CO₂ atmosférico, que pueden causar un efecto *priming* en la rizósfera, y acelerar el metabolismo microbiano (Haichar et al., 2014; Gianfreda, 2015).

La fertilidad del suelo es afectada por la comunidad microbiana, y en este sentido, con la adición de biofertilizantes se incorporan nutrientes a través de procesos naturales que incrementan la salud del suelo como la fijación de N, la disolución de P y K, reducen el ataque de fitopatógenos, y estimulan el crecimiento de las plantas gracias a la síntesis de fitohormonas, disminuyendo de esta manera el uso de fertilizantes químicos y pesticidas (Dash et al., 2019). Pocos han sido los estudios concernientes al efecto de la aplicación de biofertilizantes sobre las propiedades biológicas y la actividad enzimática del suelo (Piotrowska-Dlugosz, 2014). Sin embargo, Vázquez et al. (2000) sugieren que la inoculación con microorganismos promotores del crecimiento vegetal (MPCV) como *Azospirillum*, *Pseudomonas*, y *Trichoderma*, más micorrizas arbusculares, incrementan la actividad enzimática (esterasa, fosfatasa, trealosa y quitinasa) en la rizósfera de maíz, y que a partir de este manejo se produce una modificación en la ecología y estructura de la comunidad microbiana. Un estudio reciente sugiere un efecto sinérgico entre extractos de células lisadas de *Corynebacterium glutamicum* y *Saccharomyces cerevisiae*, y ácido salicílico aplicado foliarmente y la inoculación con una RPCV (*Pseudomonas chlororaphis*), sobre una mayor colonización microbiana en la rizósfera, incremento de carbono de la biomasa microbiana, del carbono orgánico total del suelo, la actividad enzimática (deshidrogenasa y fosfatasa), y que esta sinergia favorece la altura de la planta y la longitud de la raíz en plántulas de arroz (Bowya y Balachandar, 2020).

Con relación a estos planteamientos, en esta investigación se pretende evaluar el efecto de la adición de biofertilizantes (un consorcio microbiano) sobre la actividad biológica y enzimática del suelo, y su influencia sobre la microbiota nativa en un suelo cultivado con cebolla en condiciones de déficit hídrico y nutricional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del ensayo

El experimento se realizó en la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes (IIAP-ULA), ubicada en San Juan de Lagunillas, municipio Sucre, estado Mérida, con una altitud entre 1050 y 1100 msnm, y las coordenadas UTM 240946E – 941369N, 240737E – 941369N, 240737E – 941754N, 240946 E – 941759 N. El suelo de la estación experimental está clasificado como un Aridisol de acuerdo a la taxonomía de suelos (USDA, 2020). De acuerdo al sistema de zonas de vida de Holdridge, el área de estudio corresponde a un bosque seco premontano, con una temperatura entre 18 °C y 24 °C, en la transición entre el bosque espinoso y el bosque muy seco en la región tropical. Mientras que Ataroff y Sarmiento (2004) se refieren a esta zona como una unidad ecológica de arbustal espinoso. La precipitación en la zona tiene un comportamiento bimodal con dos picos de lluvia en abril y octubre, la precipitación anual es de 509 mm, y la temperatura promedio es 23,7 °C (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a). La evaporación anual es mayor a los 1500 mm, por lo que supera a la precipitación durante todo el año, lo cual produce que ningún cultivo supla su requerimiento hídrico y sea dependiente del riego, permitiendo realizar en el sitio experimentos con condiciones de déficit hídrico (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a). El experimento se realizó desde finales de febrero hasta mediados de junio de 2017. Las características del suelo de la parcela entre 0-15 cm de profundidad son: textura franco arenosa, materia orgánica 3,61 %, N total 0,12 %, P disponible 30 mg kg⁻¹, pH 6,04, conductividad eléctrica 0,14 mS cm⁻¹, K 568 mg kg⁻¹, Ca 2060 mg kg⁻¹, Mg 1872 mg kg⁻¹, y capacidad de retención de agua 27 % (Capítulos 2 y 3; Blanco et al., 2021a), y se determinaron previo al ensayo. Igualmente, antes de la mecanización del terreno, se tomó una muestra compuesta de seis puntos en zigzag de la parcela experimental para determinar los valores de referencia de la actividad microbiológica y enzimática de este suelo previo al disturbio, utilizando los protocolos que se describen más adelante. Según información del personal responsable de la estación experimental, al menos durante los últimos tres años previos al ensayo no se cultivó ningún rubro en esta parcela específicamente.

Establecimiento del experimento en campo

Inicialmente, se desinfectaron las semillas de cebolla híbrido F1 2000 según protocolo descrito en el capítulo 2 (Blanco et al., 2021b) y se estableció el semillero en bandejas de horticultura de 200 celdas con las condiciones descritas en el capítulo 3 (Blanco et al., 2021a). Luego, en la parcela experimental acondicionada con un pase de arado de disco, un pase de rastra, y la aplicación de herbicida preemergente y selectivo (i.a s-metalocloro) en dosis 2 L ha⁻¹ para el control de las malezas un mes antes del trasplante, se levantaron canteros con parcelas de 2,4 m de largo x 1,4 m de ancho (3,36 m²), separadas entre sí física y espacialmente a través de una zanja, con el fin de evitar contaminación entre los tratamientos

aplicados. En cada parcela de 3,36 m², se dispusieron las plántulas de cebolla provenientes del semillero de 45 días después de la siembra (dds) (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a), en seis filas para un total de 120 plantas por parcela, con un marco de siembra de 10 cm x 20 cm para una densidad de siembra de 360.000 plantas ha⁻¹. El deshierbe durante el ensayo se realizó manualmente y el riego fue localizado.

Inóculo microbiano

El biofertilizante aplicado fue el consorcio microbiano (CM) de las cepas ME01 (*Rhizobium tropici*) + Leu2A (*Bradyrhizobium japonicum*), que fue seleccionado por su efecto promotor del crecimiento vegetal en plántulas de cebolla (Capítulo 2; Blanco et al., 2021b). Los tratamientos biofertilizados se inocularon con 2,5 mL del CM (1×10^8 cel mL⁻¹) por plántula en las bandejas el día del trasplante, y se reinocularon en campo a los 15 ddt con aproximadamente 5 mL del inóculo CM por planta de forma localizada con la ayuda de una bomba de aspersión eléctrica en la base de cada planta (Figura 1a) (Capítulo 3, Blanco et al., 2021a). El biofertilizante pertenece al cepario del Laboratorio de Fitobioteología-ULA.

Tratamientos y diseño experimental

En el experimento se usó un diseño bifactorial en bloques completamente aleatorizados con 3 repeticiones. El factor riego consistió en dos frecuencias de riego y correspondiente a una determinada ETc: riego normal RN (riego diario; 100 % ETc) y déficit hídrico (riego cada tres días; 67 % ETc) a partir de los 20 días después del trasplante (ddt) (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a). El factor fertilización consistió de cuatro tratamientos de acuerdo al 100 % del requerimiento nutricional de NPK de cebolla para un rendimiento de 40 t ha⁻¹, para el cual se estableció una extracción neta de 247 kg N, 240 kg P₂O₅, 240 kg K₂O con un total de 577 g de fertilizante inorgánico de fórmula comercial 15-15-15 N-P-K (N amoniacal 10.3%, N nítrico 4.7%; fósforo asimilable 15%; cloruro de potasio 15%) más 5,4 g de urea para cada parcela de 3,36 m² (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a). Los niveles de fertilización se combinaron con la aplicación del biofertilizante CM quedando establecidos los tratamientos de la siguiente manera: 0 % NPK + CM; 50 % NPK + CM; 100 % NPK + CM; 100 % NPK No inoculado (control de producción). Además, se tomó el suelo no rizosférico de las parcelas del tratamiento 0 % NPK + CM, estableciendo de esta manera una especie de control absoluto que supone un tratamiento 0 % NPK No inoculado para cada condición de riego, y que permitió observar el efecto de la rizósfera. La fertilización fue edáfica y se aplicó en banda. La dosis para el 100 % del requerimiento nutricional se dividió en tres partes (60 %, 20 % y 20 %) de la siguiente manera para cada parcela de 3,36 m²: 1era fertilización 9 días después del trasplante (ddt) 346 g 15-15-15 /parcela; 2da fertilización 20 ddt 115,2 g 15-15-15 /parcela; 3ra fertilización 37 ddt 115,2 g 15-15-15 + 5,4 g urea /parcela. La cantidad total de fertilizante inorgánico se consideró como el 100 % NPK y con base en esta cantidad total se calculó el

total de fertilizante para la dosis 50 % NPK, el cual se aplicó de la misma forma y en los mismos momentos durante el ciclo del cultivo.

Toma de muestras del suelo

Las muestras de suelo para los análisis se tomaron en un solo momento del ensayo (64 ddt o 110 dds), correspondiente a la etapa final de la fase de bulbificación (Capítulo 3), por considerarla la etapa clímax del cultivo. Para los análisis se tomó el suelo rizosférico hasta aproximadamente 3 cm alrededor del centro del sistema radicular (Figura 1b y Figura 1c), recuperando este cuidadosamente de cada planta con la ayuda de una pala de jardinería y en bolsas de plástico (se usó el suelo rizosférico proveniente de 4 plantas por cada repetición por tratamiento). Para el control absoluto se tomaron las muestras del suelo no rizosférico a una profundidad entre 0-15 cm, de acuerdo a la longitud de la raíces observada. Las muestras se trasladaron al laboratorio, y se cernieron en un tamiz de 2 mm, preservando lo mejor posible la humedad natural del suelo que contenía al momento de la recolección de las muestras. Luego se determinó la humedad presente en cada muestra a través de la diferencia entre peso húmedo y seco a 105 °C por 24 h, para realizar la corrección correspondiente en el pesaje de cada muestra para cada prueba. Las muestras se mantuvieron en refrigeración a 4 °C durante 4 semanas, tiempo en el que se realizó la evaluación de las propiedades biológicas. Posterior a este tiempo, las muestras se mantuvieron en el congelador para preservar su actividad enzimática mientras se realizaban las pruebas correspondientes.



Figura 1. Toma de muestras del suelo rizosférico por tratamiento a los 64 ddt. a. Reinoculación localizada con el CM. b. Recuperación del suelo rizosférico por planta. c. Área de suelo rizosférico 3 cm aproximadamente desde el centro del sistema radicular.

Parámetros físico-químicos

Carbono orgánico total

El carbono orgánico total (C_{org}) se determinó mediante la oxidación húmeda de 0,2 g de suelo seco con 4 mL de ácido sulfúrico concentrado y 2 mL dicromato de potasio 2N, y la cantidad de carbono orgánico oxidado por el Cr(VI) se midió espectrofotométricamente a 600 nm (Walkley y Black, 1934) utilizando un espectrofotómetro 320 R *constant* de PROLABO. Se comparó el color con las lecturas de una curva de calibración preparada con glucosa, sometidas al mismo tratamiento que las muestras (Sims y Haby, 1971). Se determinó la concentración de C para cada muestra corrigiendo el valor del carbono según el cálculo: $\%C = (mg\ C / mg\ suelo) \times 100$. Los resultados se expresaron en $g\ C\ kg^{-1}$.

Nitrógeno en el suelo

El contenido de N total en el suelo se determinó a través del método de Kjeldahl de acuerdo con el protocolo descrito en el manual del laboratorio de Ecología Vegetal del ICAE. Los miligramos de nitrógeno se calcularon de la siguiente forma:

$$mg\ de\ N = (T - B) \times N \times PA$$

Donde:

T = mL de ácido sulfúrico gastados en la valoración de la muestra

B = mL de ácido sulfúrico gastados en la valoración del blanco

N = normalidad del ácido sulfúrico valorador (0,01 N)

PA = peso atómico del nitrógeno (14,01)

Y el porcentaje de nitrógeno se calculó así:

$$\% de\ N = (mg\ de\ N / peso\ de\ la\ muestra\ en\ mg) \times 100$$

Posteriormente con el valor obtenido de C_{org} (%) se determinó la relación carbono/nitrógeno (C/N) del suelo.

pH y conductividad eléctrica

Se determinó el pH y la conductividad eléctrica (CE) del suelo en una relación 1: 2,5, y 1:5 en H_2O destilada, respectivamente. Se colocó en una agitadora horizontal durante 30 min. Posteriormente se centrifugó a 2000 rpm por 10 min. Finalmente se leyó el pH y la CE en un pHmetro y conductímetro digital marca HANNA modelo HJ9811.

Determinación de la actividad microbiológica del suelo

Respiración basal

La respiración basal (RB) se midió por el método de trampa de álcali, en donde 20 g de suelo se colocaron en un frasco de vidrio hermético de 500 mL de capacidad, y se ajustó con agua destilada al 50-60 % de su capacidad de retención de humedad (determinada por diferencia de peso en una muestra de suelo secada en la estufa durante 24 h a 105°C), y se incubó por siete días a temperatura de 22 ± 2 °C en oscuridad (Alef, 1995; Pell et al., 2006). El CO₂ liberado se atrapó en un vial con 15 mL de 0,2 M NaOH; al final del período de incubación el vial se trasvasó cuantitativamente a un matraz Erlenmeyer, y se añadieron 2 mL 0,5 M BaCl₂ para precipitar el CO₂ y el exceso de hidróxido se tituló con 0,2 N HCl patrón usando fenolftaleína como indicador. La cantidad de CO₂ liberado se calculó mediante la fórmula:

$$\text{mg C-CO}_2 = (\text{VB-VM}) \times 6 \times \text{NHCl}$$

donde:

VB = cantidad de ácido clorhídrico gastado para valorar el blanco (frasco sin suelo),

VM = cantidad de ácido clorhídrico gastado para valorar la muestra del suelo,

6 = peso equivalente del carbono,

NHCl = normalidad del ácido clorhídrico.

Los resultados se expresaron en mg C-CO₂ kg⁻¹suelo seco día⁻¹.

Biomasa microbiana

La biomasa microbiana se determinó por el método de respiración inducida por sustrato (RIS) (Anderson y Domsch, 1978) y se usó el mismo suelo proveniente de la respiración basal al cual se le añadió 1 mL de glucosa 8% y el CO₂ liberado en 6 h se estimó por el mismo método (trampa de álcali) pero la concentración de NaOH fue 0.05 N (15 mL) y el HCl 0.05 N. Se usó el factor de conversión propuesto por Beck et al. (1995) para el cálculo de la biomasa microbiana: 1 mg C-CO₂ 100 g⁻¹ss h⁻¹ = 20,6 mg C_{mic} 100 g⁻¹suelo seco.

Índices ecofisiológicos

Los índices ecofisiológicos se calcularon de la siguiente manera:

Cociente microbiano $q_{\text{Mic}} = C_{\text{mic}} C_{\text{org}}^{-1} = [(\text{mg } C_{\text{mic}} \text{ kg}^{-1}) (\text{mg } C_{\text{org}} \text{ kg}^{-1})^{-1}] \times 100$ (Anderson y Domsch, 1989),

Cociente ecofisiológico $q_{\text{CO}_2} = \text{RB } C_{\text{mic}}^{-1} = \text{mg C-CO}_2\text{basal} \times \text{g}^{-1}C_{\text{mic}} \times \text{h}^{-1}$ (Anderson y Domsch, 1990; Dilly y Munch, 1998),

Cociente de eficiencia metabólica $q_{\text{CO}_2} C_{\text{org}}^{-1} = (\text{mg C-CO}_2\text{basal} \times \text{g}^{-1}C_{\text{mic}} \times \text{h}^{-1}) (\text{g } C_{\text{org}} \text{ g}^{-1})^{-1}$ (Dilly, 2005).

Mineralización de N

El fundamento se basó en incubar por siete días una muestra de suelo en condiciones anaeróbicas a 30 °C, y luego se extrajo el amonio con KCl (Waring y Bremner, 1964; Bremner, 1965). Por cada muestra se pesaron en dos tubos de centrífuga de 50 mL 8 g de suelo y se agregó a uno de ellos 10 mL de H₂O_d (condiciones de anoxia para evitar la formación de nitrato) y se incubó a 30 °C por 7 días. Al otro tubo se agregó 40 mL de KCl 2 M (tiempo cero) y se agitó horizontalmente por 1 h. Luego se centrifugó a 2000 rpm por 10 min, y con el sobrenadante se procedió a determinar el amonio liberado de la misma forma que con las muestras de ureasa y amonificación de arginina. La curva de calibración que se usó para el tiempo cero fue la misma de la amonificación de arginina. A los siete días, se agregaron 30 mL de KCl 2,7 M a los tubos incubados y se agitaron durante 1 h de forma horizontal. Luego se centrifugaron las muestras por 10 min a 2000 rpm y se tomó el sobrenadante para realizar el mismo procedimiento de la metodología para la amonificación de arginina. Los resultados se expresaron como $\mu\text{g N mineralizado g}^{-1}$ suelo seco, tomando la diferencia entre el tiempo cero y el tiempo de 7 días.

Relación Rizósfera/Suelo (R/S)

Se determinó el efecto de la rizósfera sobre la población microbiana utilizando los valores de biomasa microbiana de acuerdo con Frioni et al. (1999), sustituyendo en la fórmula el N° de microorganismos por el valor de C_{mic} determinado por el método de RIS, quedando el cálculo de la siguiente forma:

$R/S = C_{\text{mic}} \text{ de suelo rizosférico (para cada tratamiento)} / C_{\text{mic}} \text{ de suelo no rizosférico (control absoluto)}$.

Determinación de la actividad enzimática del suelo

Actividad deshidrogenasa

El método se basó en la extracción con metanol y la determinación colorimétrica del trifenilformazan que se originó después de incubar el suelo con cloruro de tetrazolium (TTC) a 37 °C por 24 h (Casida et al., 1964). La determinación de la actividad de la enzima deshidrogenasa se realizó pesando 2 g de suelo y colocándolos en un tubo de ensayo con tapón de goma. Al suelo se le agregó aproximadamente 10-15 mg de CaCO₃, y se agitó con un vórtex. Seguidamente se agregó 0,5 mL de TTC a las muestras y 0,5 mL de H₂O_d a los blancos. Luego se adicionó 2 mL de H₂O a todos los tubos, se taparon, agitaron, e incubaron a 37 °C por 24 h. Finalizada la incubación, se agregó 2,5 mL de metanol a cada tubo, se agitó e inmediatamente se filtró con papel whatman N° 42 y se completó a 25 mL. Los filtrados se recogieron en tubos de centrífuga de vidrio de 25 mL. Finalmente se midió la absorbancia de las muestras a 485 nm. La curva patrón se realizó a partir de una solución de trabajo 100 μg

TFF mL⁻¹ (trifenil formamida). Se tomó el volumen necesario para obtener patrones de 4, 8, 12, 16, 20 µg TFF mL⁻¹ de metanol. Los resultados se expresaron como µg TFF g⁻¹ h⁻¹.

µg TFF g⁻¹ h⁻¹ = (C_M-C_{Bl}) conc en µg TFF mL⁻¹ * 25 mL/(2 g suelo fresco * Factor sólido * 24 horas)

donde C_M = concentración de la muestra en µg TFF mL⁻¹,

C_{Bl} = concentración del blanco en µg TFF mL⁻¹,

25 = volumen del filtrado,

2 = peso fresco del suelo,

FS = factor de solido para transformar el peso del suelo a peso seco,

24 = tiempo de incubación en horas

Hidrólisis del diacetato de fluoresceína

El método usado fue el propuesto por Adan y Duncan (2001). Para determinar la cantidad de fluoresceína producida en el suelo por la microbiota, se pesaron 2 g de suelo fresco tamizado 2 mm, y se colocaron en un tubo de centrífuga de 50 mL de capacidad. Se añadió 15 mL de solución buffer fosfato 60 mM pH 7,6, y 0,2 mL de una solución stock 1000 µg.mL⁻¹ DAF (diacetato de fluoresceína). Para cada muestra de suelo se preparó un duplicado y un blanco, en este último sustituyendo el sustrato por el mismo volumen de buffer fosfato 60 mM pH 7,6. Los frascos se incubaron en baño de María a 30 °C y 75 rpm por 1 h. Luego de este tiempo, se agregó 15 mL de acetona para detener la reacción, se centrifugaron a 2000 rpm durante 10 min. Se midió la absorbancia (490 nm) del sobrenadante en cada muestra, y se restó el valor del blanco respectivo. La curva de calibración de fluoresceína se preparó a partir de una solución 20 µg mL⁻¹ de fluoresceína, soluciones patrón desde 0 a 5,6 µg mL⁻¹, en balones de 25 mL y se aforó con buffer fosfato 60 mM pH 7,6. La detección se basó en que las células no vivas son incapaces de tomar el derivado de la fluoresceína y por lo tanto no muestran coloración fluorescente. Se utilizó la siguiente fórmula para el cálculo final:

µg de fluoresceína g⁻¹ h⁻¹ = ((M -Bl) en µg mL⁻¹ de fluoresceína) x 30,2 mL)/ (PS g suelo seco x t)

donde M = concentración de fluorisceína en las muestras expresada en en µg Fluor. mL⁻¹,

Bl = concentración de fluorisceína en el blanco expresado en µg Fluor. mL⁻¹,

PS = Peso Seco del suelo = Peso fresco * factor sólido,

t = 1 h tiempo de incubación

30,2 mL = volumen de final

g suelo seco = gramos de suelo fresco * factor sólido

Amonificación de arginina

La amonificación de la arginina se realizó de acuerdo al protocolo de Alef y Kleiner (1987) y bajo la misma premisa de la determinación del amonio liberado por la desaminación de la arginina de acuerdo a la reacción de Berthelot. Se pesaron 2 g de suelo fresco en tubos de centrífuga de 15 mL, se añadió 0,5 mL de la solución sustrato (L-arginina 11,5 mM) a las muestras y 0,5 mL de H₂O a los blancos. Se incubó durante 3 h a 37°C. Luego de la incubación, se agregó 10 mL de la solución KCl 2 M a todos los tubos. Se agitó horizontalmente durante 30 min. Finalmente se centrifugó a 2000 rpm por 10 min. Se tomaron 2 mL del sobrenadante + 8 mL de agua. Posteriormente se agregaron 5 mL de la solución salicilato-nitroprusiato-hidróxido, y 2 mL del medio de oxidación (Paolini, 2011), y se dejaron reaccionar por 30 min en oscuridad. La curva de calibración se realizó de forma similar a la actividad ureásica.

Los cálculos se hicieron con la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g PS}^{-1} \text{ h}^{-1} = ((M - \text{Bl}) \text{ en } (\mu\text{g N-NH}_4 \text{ mL}^{-1}) \times 10,5 \text{ mL} \times 10 \text{ mL}) / (\text{PS g suelo} \times V \text{ mL (alícuota)} \times t \text{ h})$$

donde M = concentración de amonio en las muestras expresada en $\mu\text{g N-NH}_4 \text{ mL}^{-1}$,

Bl = concentración de amonio en el blanco expresado en $\mu\text{g N-NH}_4 \text{ mL}^{-1}$,

PS = peso seco del suelo = Peso fresco * factor sólido,

10,5 mL y 10 mL = volumen de extracto

V mL (alícuota) volumen alícuota del extracto = 2 mL,

t = tiempo de incubación; 3 horas

Actividad fosfomonoesterasa ácida y alcalina

Se realizó el protocolo de la actividad fosfomonoesterasa ácida y alcalina, independientemente del pH del suelo. La medición de la actividad fosfomonoesterasa (fosfatasa) se determinó colorimétricamente midiendo el p-nitrofenol liberado cuando el suelo fue incubado con una solución tamponada (pH 6,5 y 11) de p-nitrofenilfosfato a 37 °C por 1 h (Tabatabai y Bremner, 1969). El procedimiento consistió en pesar 1 g de suelo y se agregó a tubos de centrífuga de 15 mL. Seguidamente se añadió 4 mL de buffer BUM pH 6,5, y 1 mL del sustrato p-nitrofenilfosfato 17,7 mM (p-NFF), excepto a los blancos. A continuación se incubó en baño de María a 37 °C por 45 min a 60 rpm. Al finalizar la incubación se agregó 4 mL de NaOH 0,5 M y 1 mL de CaCl₂ 0,5 M para detener la reacción. Se agregó la cantidad de sustrato para los blancos. Se taparon los frascos y agitaron manualmente. Las muestras se centrifugaron a 2000 rpm por 10 min, y se midió la absorbancia del sobrenadante a 420 nm. Para la curva de calibración de p-nitrofenol (p-NF) se prepararon soluciones patrón de 0, 20, 40, 60, 80 y 100 $\mu\text{g p-NF}$, a partir de una solución de 200 mg 100 mL⁻¹, se agregó la cantidad de mL de la solución de p-NF y agua correspondiente a cada una, y se adicionó 1 mL de CaCl₂

0,5 M y 4 mL de NaOH 0,5 M, se agitó con la mano y se centrifugó a 2000 rpm por 10 min. Finalmente se leyó la absorbancia a 420 nm. La fórmula para los cálculos fue la siguiente:

$$\mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{ suelo seco h}^{-1} = (\text{Muestra-Control}) \times \text{FD}/(\text{PS} \times t)$$

donde Muestra = cantidad de p-NF liberado por la muestra,

Control = cantidad de p-NF en el control.

FD = factor de dilución,

PS = peso seco de la muestra = Peso fresco * factor sólido,

t = tiempo de incubación, 45 minutos = 0,75 horas

Actividad β -glucosidasa

La determinación de la actividad β -glucosidasa se detectó por la liberación del p-nitrofenol después de incubar la muestra con una solución de p-nitrofenil-b-glucopiranosido por un tiempo de una hora y temperatura de 37 °C (Eivazi y Tabatabai, 1988). El procedimiento se realizó de manera análoga a la actividad fosfatasa, y se utilizó el buffer BUM pH 6,5. La diferencia fue que en sustitución de la solución NaOH 0,5 M, se utilizó el buffer pH 12 THAM 0,1 M, para evitar la formación del precipitado. El sustrato que se usó fue el p-nitrofenil- β -D-glucopiranosido (25 mM PNG). La fórmula para los cálculos fue la siguiente:

$$\mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{ suelo seco h}^{-1} = (\text{Muestra-Control}) / (\text{PS} \times t)$$

donde Muestra = cantidad de p-NF liberado por la muestra,

Control = cantidad de p-NF en el control,

PS = peso seco de la muestra = Peso fresco * factor sólido,

t = tiempo de incubación, 1 hora

Actividad ureásica

De acuerdo con Kandeler y Gerber (1988), y bajo la premisa de la determinación del amonio liberado a partir de la hidrólisis de la urea de acuerdo a la reacción de Berthelot. Se pesó 1 g de suelo fresco más un blanco para cada muestra en un tubo de centrífuga de 15 mL, se agregó 0,5 mL de la solución sustrato de urea (79,9 mM), y a los blancos 0,5 mL de H₂Od. Las muestras se dejaron incubando por 2 h a 37 °C. Luego de la incubación, se agregó a todas las muestras 10 mL de KCl (1 M), a las muestras 0,5 mL de H₂Od, y a los blancos 0,5 mL de la solución sustrato de urea para un volumen final de 11 mL. Los tubos se agitaron horizontalmente durante 30 min, y se centrifugaron durante 10 min a 2000 rpm. Posteriormente se agregaron 2 mL de cada sobrenadante y se añadió 8 mL de agua. Luego se agregó 5 mL de la solución salicilato-nitroprusiato-hidróxido, y 2 mL del medio de oxidación (Paolini, 2011), y se dejaron reaccionar por 30 min en oscuridad. Para la curva de calibración se preparó una solución de cloruro de amonio (250 $\mu\text{g N mL}^{-1}$), y se tomaron los volúmenes necesarios para obtener las concentraciones 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5, en balones de 500 mL

aforados con la solución de KCl. Seguidamente se tomó 1 mL de cada solución patrón más 9 mL de H₂O, y se agregó la misma cantidad de la solución salicilato-nitroprusiato-hidróxido, y del medio de oxidación que se agregó a las muestras y de la misma forma se dejaron reaccionar por 30 min en oscuridad. Finalmente se leyeron las muestras y la curva a 600 nm.

Los cálculos se realizaron con la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g PS}^{-1} \text{ h}^{-1} = ((M - Bl) \text{ en } \mu\text{g N-NH}_4 \text{ mL}^{-1}) * 11 \text{ mL} * 10 \text{ mL}) / (\text{PS g suelo seco} * \text{mL (alícuota)} * t \text{ h})$$

donde M = concentración de amonio en las muestras expresada en $\mu\text{g N-NH}_4/\text{mL}$,

Bl = concentración de amonio en el blanco expresado en $\mu\text{g N-NH}_4/\text{mL}$,

PS = Peso seco del suelo = Peso fresco * factor sólido,

11 mL y 10 mL = volumen de extracto

V mL (alícuota) volumen alícuota del extracto = 1 mL

t = tiempo de incubación; 2 horas

Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante un ANOVA de dos vías y la prueba de medias LSD ($p < 0,05$) con el programa Statgraphics (Statistical Graphics Corporation, 2002). Se comprobó el supuesto de homogeneidad de varianza con el test de Bartlett. En los casos en los que los datos no cumplieron con el supuesto de homogeneidad de las varianzas, se sometieron a la prueba de Kruskal Wallis ($p < 0,05$) con el programa Infostat a un nivel de confianza del 95% (InfoStat Statistical Software, 2002; Montgomery, 1991). Adicionalmente se realizó un ANOVA de una vía para mostrar el efecto solo del estrés hídrico sobre el control absoluto (suelo no rizosférico 0 % NPK no inoculado).

RESULTADOS

Propiedades físico-químicas

En la Tabla 1 se muestran las variables físico-químicas del suelo determinadas a los 64 ddt para cada tratamiento. El contenido de carbono total no mostró diferencias significativas entre los tratamientos inoculados y/o fertilizados. Los valores variaron entre 10,92 y 13,64 g C kg⁻¹ suelo. Se observó también que los valores más altos se muestran en la condición RN.

El contenido de N total no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, pero sí se observó que los valores más altos están en los tratamientos 50 % NPK + CM en condición RN, 100 % NPK + CM en condición DH, y 100 % NPK No inoculado (control de producción). La relación C/N tampoco mostró diferencias significativas entre los tratamientos y varió entre 6,48 hasta 8,88, mostrando los valores más altos en los tratamientos con la

condición RN con respecto al control absoluto, y mostrando el valor más alto en el tratamiento 0% NPK + CM en condición RN. Con respecto al pH se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos; los valores variaron entre 4,6 y 6,4, y estos descendieron gradualmente a medida que la dosis de fertilizante se incrementó, incluso, la presencia del consorcio incrementó aún más la acidez del suelo en el tratamiento 100 % NPK + CM en ambas condiciones de riego. Los valores más alcalinos de pH se observaron en los tratamientos 0% NPK + CM y control absoluto en ambas condiciones de riego. Además se observó que en condiciones de déficit hídrico disminuyó el pH en el tratamiento 50% NPK + CM en comparación con el mismo tratamiento sin la limitación hídrica (Tabla 1). La variable conductividad eléctrica incrementó significativamente con la dosis de fertilizante químico, y tendió a ser mayor en la condición DH con la dosis 100 % NPK inoculada y no inoculada como era de esperarse por la mayor concentración de sales en la condición de estrés hídrico, mientras que esta variable tendió a ser menor en el tratamiento 0% NPK + CM en ambas condiciones de riego.

Por otro lado, en la Tabla 2 se observa el efecto del estrés hídrico sobre los parámetros físico-químicos del suelo control (no rizosférico). El efecto de la disponibilidad de agua afectó los parámetros C orgánico, relación C/N, y la conductividad eléctrica, mostrando valores superiores en estas variables ($p < 0,05$) en la condición DH con respecto a la condición RN en 29 %, 43 %, y 145 %, respectivamente. En esta misma Tabla 2 se puede observar en términos generales que la mecanización no afectó los parámetros físico-químicos del suelo, pues los valores de referencia (antes de la mecanización) y luego del experimento (equivalente a la condición DH) son bastante similares.

Tabla 1. Parámetros físico-químicos del suelo para cada tratamiento evaluado

Parámetros	Unidades	Tratamientos / Condición de riego							
		0% NPK + CM		50% NPK + CM		100% NPK + CM		100 % NPK No inoculado (control de producción)	
		RN	DH	RN	DH	RN	DH	RN	DH
C _{org}	g C kg ⁻¹	12,85±0,51	11,52±0,25	13,25±0,80	10,95±0,72	12,54±1,26	10,92±1,09	13,64±3,00	11,14±2,53
N total	%	0,14±0,00	0,14±0,03	0,16±0,01	0,15±0,01	0,14±0,02	0,17±0,01	0,16±0,00	0,16±0,00
C/N	-	8,88±0,13	8,61±2,25	8,12±0,93	7,33±0,44	8,85±1,47	6,48±0,36	8,50±1,81	7,06±1,56
pH 1:2,5	-	6,4±0,17 a	6,4±0,17 a	5,4±0,1 b	4,83±0,15 cd	4,6±0,17 d	4,6±0,3 d	5,0±0,17 c	4,97±0,21 c
CE 1:5	μS cm ⁻¹	30,00±0,00 c	33,33±5,77 c	53,33±5,77 bc	63,33±23,09 abc	80,00±10,00 ab	146,67±40,41 a	60,00±0,00 abc	166,67±83,27 a

Valores promedios (n=3) y desviación estándar (±). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95%. Condición de riego: RN= riego normal, DH= déficit hídrico. El porcentaje representa el requerimiento del nutriente. CE = conductividad eléctrica. CM= consorcio microbiano. El porcentaje representa la dosis aplicada del fertilizante NPK.

Tabla 2. Parámetros físico-químicos del suelo no rizosférico antes del ensayo y luego del ensayo bajo el efecto del déficit hídrico.

Parámetros	Unidades	Suelo no rizosférico (valores de referencia)	Suelo no rizosférico (0% NPK No inoculado)	
		Antes de la mecanización	RN	DH
C _{org}	g C kg ⁻¹	8,16±0,02	6,29±0,74 b	8,12±0,33 a
N total	%	0,12±0,00	0,14±0,01	0,12±0,00
C/N	-	6,94±0,06	4,66±0,56 b	6,70±0,22 a
pH 1:2,5	-	6,56±0,04	6,23±0,06	6,23±0,06
CE 1:5	μS cm ⁻¹	135,67±2,52	73,33±5,77 b	180,00±10,00 a

Valores promedios (n=3) y desviación estándar (±). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95%.
RN = riego normal, DH = déficit hídrico.

Biomasa microbiana y propiedades microbiológicas

El consorcio microbiano logró incrementar la biomasa microbiana (C_{mic}) con 0% NPK de forma altamente significativa ($p < 0,01$) en ambas condiciones de riego, siendo aún mayor el efecto en la condición de DH con respecto al resto de los tratamientos con incrementos entre 47 % (0 % NPK + CM RN) y 91 % (0 % NPK + CM DH) por encima de control de producción (Tabla 3); inclusive, los valores mostrados en este tratamiento fueron más altos que los valores de referencia para este suelo antes del disturbio (Tabla 4). También se observó que la biomasa microbiana tendió a ser menor en el tratamiento 100 % NPK + CM RN con respecto al resto de tratamientos. Por otro lado, los valores de q_{mic} variaron entre 0,53 % a 2,19 %, mostrando el mayor valor en el tratamiento 0% NPK + CM en la condición DH, siendo este superior ($p < 0,05$) al del resto de tratamientos, seguido por el valor del tratamiento 0% NPK + CM en la condición RN. De esta manera el CM favoreció a las comunidades microbianas autóctonas, mejorando los parámetros biomasa microbiana y el cociente microbiano especialmente en la condición DH sin la presencia de fertilizantes NPK. Por su parte, la dosis 100% NPK causó un estrés metabólico en las bacterias inoculadas, ya que disminuyó la eficiencia ecofisiológica de la microbiota, siendo esto evidente por los valores más bajos de C_{mic} , q_{mic} , y los valores más altos del cociente de eficiencia metabólica mostrados particularmente para la condición RN en el tratamiento 100% NPK + CM, ya que, a pesar de que en esta última variable no se haya encontrado diferencias significativas entre los tratamientos esto es notable (Tabla 3). En general, el CM mostró capacidad para mejorar las propiedades microbiológicas de la microbiota del suelo, siendo menor este efecto en la medida en que el fertilizante químico estaba más concentrado (Tabla 3).

En la Tabla 3 se observó que las variables RB y cociente metabólico y cociente de eficiencia metabólica no se afectaron por los tratamientos aplicados, pero se pudo observar que apenas se logró alcanzar la mitad del valor de la respiración basal de referencia para este suelo (Tabla 4) con los tratamientos 0% NPK + CM en condición de DH, y 100% NPK No inoculado (control de producción) en condición RN, es decir, que esta variable (RB) se afectó notablemente por la mecanización del suelo.

En la mineralización del N no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, pero se observó una tendencia a ser superior gradualmente acorde a la aplicación de fertilizante químico (Tabla 3). Sin embargo, en los tratamientos 100 % NPK + CM y 100 % NPK No inoculado en condición DH, se observó una tendencia a disminuir esta actividad, mostrando así el efecto inhibitorio de la fertilización inorgánica (presencia de amonio) sobre la mineralización en condiciones limitantes de agua cuando está aún más concentrado el fertilizante en el suelo. Los valores de la mineralización del N oscilaron entre 4,42 y 11,08 mg de N mineralizado por kg de suelo. Mientras que, en la Tabla 4 esta variable de mineralización de N fue la única que se afectó significativamente por la condición hídrica mostrando un valor superior en la condición DH.

En términos generales, en la Tabla 4 se observa que la mecanización sobre los parámetros microbiológicos afectó particularmente la biomasa microbiana y la respiración basal por los valores menores mostrados luego del disturbio (39 % menos y 66 % menos, respectivamente), a pesar de no haber podido establecer esta disminución estadísticamente.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 3. Biomasa microbiana, actividad microbiológica, e índices ecofisiológicos del suelo en los tratamientos evaluados.

Parámetros	Unidades	Tratamientos / Condición de riego							
		0 % NPK + CM		50 % NPK + CM		100 % NPK + CM		100 % NPK No inoculado (control de producción)	
		RN	DH	RN	DH	RN	DH	RN	DH
C _{mic}	mg C _{mic} kg ⁻¹	194,14±44,66 b	252,10±17,57 a	140,68±42,49 c	108,61±17,57 cde	64,71±29,65 e	83,28±38,06 de	132,24±21,25 cd	78,83±20,34 e
RB	mg C-CO ₂ kg ⁻¹ d ⁻¹	8,95±2,55	10,62±3,48	9,42±2,09	11,56±1,86	7,75±2,21	8,89±2,73	11,56±3,61	5,88±0,51
qMic	%	1,51±0,31 b	2,19±0,19 a	1,07±0,32 c	0,99±0,11 c	0,53±0,26 d	0,79±0,40 cd	0,98±0,10 c	0,71±0,14 cd
qCO ₂	mg C-CO ₂ mg ⁻¹ C _{mic} h ⁻¹	1,97±0,67	1,74±0,44	2,85±0,39	4,45±0,50	6,42±5,16	5,46±3,33	3,66±1,04	3,33±1,28
qCO ₂ / C _{org}	mg CO ₂ -C g ⁻¹ C _{mic} h ⁻¹ (g C _{org} g ⁻¹ suelo) ⁻¹	154,51±59,14	151,14±40,48	214,85±21,78	408,96±69,60	491,62±349,59	488,56±264,80	274,37±93,51	319,88±170,67
Mineralización del N	mg N kg ⁻¹	6,78±0,43	7,76±5,41	8,31±3,80	9,07±5,80	9,20±8,22	4,42±5,49	11,08±2,01	nd

Valores promedios (n=3) y desviación estándar (±). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95%.

Condición de riego: RN= riego normal, DH= déficit hídrico. Tratamientos 0 %, 50 %, 100 % NPK = suelo rizosférico. El porcentaje representa el requerimiento del nutriente. C_{org}= carbono orgánico total, C_{mic}= carbono microbiano, RB= respiración basal, qMic= cociente microbiano, qCO₂= cociente metabólico, qCO₂ / C_{org} = cociente de eficiencia metabólica. nd= no determinado. CM= consorcio microbiano. El porcentaje representa la dosis aplicada del fertilizante NPK.

Tabla 4. Biomasa microbiana, actividad microbiológica, e índices ecofisiológicos del suelo no rizosférico antes del ensayo y luego del ensayo bajo el efecto del déficit hídrico.

Parámetros	Unidades	Suelo no rizosférico (valores referenciales)	Suelo no rizosférico (0% NPK No inoculado)	
		Antes de la mecanización	RN	DH
C_{mic}	$mg\ C_{mic}\ kg^{-1}$	$146,5 \pm 23,05$	$95,66 \pm 35,14$	$88,91 \pm 9,75$
RB	$mg\ C-CO_2\ kg^{-1}\ d^{-1}$	$20,63 \pm 4,73$	$9,36 \pm 2,84$	$6,95 \pm 2,02$
qMic	%	$1,80 \pm 0,28$	$1,52 \pm 0,56$	$1,09 \pm 0,12$
qCO ₂	$mg\ C-CO_2\ mg^{-1}\ C_{mic}\ h^{-1}$	$5,96 \pm 0,98$	$4,13 \pm 0,27$	$3,34 \pm 1,31$
qCO ₂ / C _{org}	$mg\ CO_2-C\ g^{-1}\ C_{mic}\ h^{-1}\ (g\ C_{org}\ g^{-1}\ suelo)^{-1}$	$730,13 \pm 120,58$	$656,82 \pm 42,55$	$411,90 \pm 161,80$
Mineralización del N	$mg\ N\ kg^{-1}$	$2,858 \pm 1,38$	$2,86 \pm 1,38$ b	$5,64 \pm 0,90$ a

Valores promedios (n=3) y desviación estándar (±). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95%.
RN = riego normal, DH = déficit hídrico.

Relación Rizósfera/Suelo (R/S)

En la Figura 2 se muestra que el CM incrementó la relación R/S de acuerdo a las diferencias significativas observadas entre el tratamiento 0 % NPK + CM en ambas condiciones de riego (especialmente en la condición DH) y el resto de tratamientos inoculados y no inoculados con fertilizantes. Se observó un incremento de la densidad microbiana nativa por efecto de la rizósfera apenas entre 2 y 2,8 veces más con este tratamiento 0 % NPK + CM. Gracias a esta relación también se observó que el efecto conjunto del consorcio con el fertilizante inorgánico en el tratamiento 100 % NPK + CM en la condición RN redujo la densidad microbiana con respecto al control de producción 100 % NPK + CM en condición RN, evidenciando así un efecto tóxico sobre la viabilidad de la microbiota del suelo al aplicar un exceso de fertilizantes + biofertilizantes sin limitación hídrica. Este efecto fue concordante con lo observado en el cociente de eficiencia metabólica y la biomasa microbiana en la Tabla 3. Los valores de la relación R/S variaron entre 0,7 y 2,8 entre todos los tratamientos, y con esta variable se logró además determinar el efecto de la rizósfera sobre la densidad microbiana nativa, considerando que el suelo de la parcela tiene una alta fertilidad natural de acuerdo a los valores bajos determinados en esta relación R/S, por lo que se consideró que en este suelo la microbiota nativa no es dependiente de la rizósfera pero este punto se discutirá más adelante.

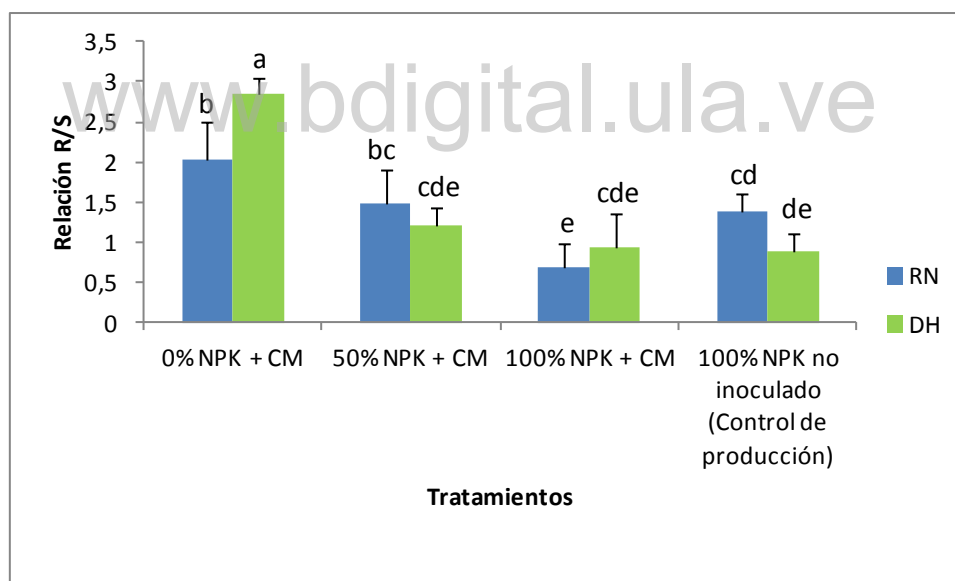


Figura 2. Relación rizósfera/suelo de acuerdo a los tratamientos aplicados. $R/S = C_{mic}$ de suelo rizosférico (para cada tratamiento) / C_{mic} de suelo no rizosférico (control absoluto). Valores promedios ($n=3$) y desviación estándar (barras). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95%. Condición de riego: RN= riego normal, DH= déficit hídrico, CM= consorcio microbiano. El porcentaje representa la dosis aplicada del fertilizante NPK.

Actividad enzimática del suelo

En la actividad enzimática intracelular se encontró que para la actividad deshidrogenasa, los tratamientos 0 % NPK + CM y 50 % NPK + CM en ambas condiciones de riego favorecieron esta actividad respiratoria, es decir, que en ausencia de fertilizantes inorgánicos principalmente o en dosis 50 % NPK se favorece la actividad deshidrogenasa. Mientras que, en la dosis completa del fertilizante inorgánico inoculado o no inoculado esta actividad inhibe significativamente, y se reduce aún más con el efecto del déficit hídrico como se observa en los tratamientos 100 % NPK + CM y 100 % NPK No inoculado en ambas condiciones de riego; efecto que no se observó en presencia del CM en los demás tratamientos sin fertilizantes inorgánicos o en dosis moderada (Tabla 5). En la determinación correspondiente a la hidrólisis del diacetato de fluoresceína (DAF) no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos; sin embargo, se observó que los valores más altos se encontraron en la condición DH y con menor presencia de fertilizantes NPK (0% y 50%). Por su parte, la actividad de la amonificación de la arginina fue sensible a los tratamientos, y fue superior ($p<0,05$) en los tratamientos 0 % NPK + CM en ambas condiciones de riego y en el tratamiento 50 % NPK + CM en la condición RN, seguida de del mismo tratamiento en la condición DH. Con la dosis 100% NPK se observó una inhibición significativa de la actividad amonificación de la arginina en presencia o ausencia del inoculante en ambas condiciones de riego (Tabla 5).

Asimismo se logró observar el efecto del déficit hídrico en esta actividad enzimática intracelular sobre el suelo no rizosférico, mostrando que la actividad deshidrogenasa y la hidrólisis del diacetato de fluoresceína responden al estrés hídrico, siendo inhibida la deshidrogenasa en condiciones de DH y favorecida la hidrólisis del DAF en esta condición de DH ($p<0,05$) (Tabla 6). Vale destacar que este efecto inhibitorio o favorecedor del estrés hídrico en ambas enzimas, también se sugirió anteriormente en algunos de los tratamientos de la Tabla 5. En este sentido, se observó que la actividad de la deshidrogenasa de la microbiota nativa se activó en un 266 % con la aplicación del riego en este suelo con condiciones semiáridas (Tabla 6).

Ahora bien, en la actividad de las hidrolasas extracelulares se observó que la fosfatasa ácida no fue sensible a los tratamientos, aunque los valores más altos se encontraron en el tratamiento 100% NPK + CM, conforme con el pH del suelo más ácido ($\text{pH}=4.6$) encontrado en este tratamiento (Tabla 1). En contraste, la fosfatasa alcalina sí fue favorecida significativamente ($p<0,05$) por el tratamiento 0% NPK + CM (Tabla 5), notándose que el pH del suelo en estos tratamientos fue el más alcalino (Tabla 1). También fue evidente una disminución significativa de la actividad de la fosfatasa alcalina conforme al incremento de la dosis de fertilizante NPK (Tabla 5). En general, se observó que en este suelo funciona mejor la fosfatasa alcalina de acuerdo a los valores elevados mostrados (Tabla 5) y de acuerdo al pH natural del suelo de la parcela ($\text{pH } 6.04$), y al valor referencial de esta variable (Tabla 6). En el

caso de la actividad β -glucosidasa no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, ni se observó un patrón de valores más altos o menores; por tanto, se consideró que esta actividad no fue sensible al experimento (Tabla 5).

Con respecto a la actividad ureasa, se observó que esta al igual que la amonificación de la arginina fue sensible a los tratamientos ($p < 0,05$). De particular importancia resultaron los tratamientos inoculados con 0% y 50% NPK por ser superiores al resto de tratamientos. En la actividad ureasa se observó que los valores más altos se encontraron en los tratamientos 0% NPK + CM, y se observó también que esta actividad disminuyó de forma gradual conforme a la dosis de aplicación de fertilizantes NPK; también se mostró que el factor hídrico inhibió esta actividad en el tratamiento 100 % NPK No inoculado en condición DH, por lo que se consideró que el inoculante CM incrementó esta actividad enzimática de acuerdo a lo observado para esta misma condición hídrica en el mismo tratamiento (100 % NPK + CM en condición DH) (Tabla 5).

El efecto del déficit hídrico también se pudo determinar para la actividad enzimática extracelular en el suelo no rizosférico, mostrando que la única enzima de las evaluadas que respondió ($p < 0,05$) al efecto hídrico fue la fosfatasa alcalina, incrementando su actividad en 19 % en condiciones de RN (Tabla 6). Desde el punto de vista ecológico se sugiere que el disturbio ocasionado (mecanización de la parcela) afectó de forma negativa la actividad deshidrogenasa (83 % menos actividad), amonificación de arginina (17 % menos), fosfatasa alcalina (25 % menos), y que favoreció la hidrólisis DAF (92 % más actividad) de acuerdo a la observación entre los valores de referencia y el suelo no rizosférico en condición DH el cual es parecido a las condiciones antes del ensayo (Tabla 6).

Tabla 5. Actividad enzimática del suelo en los tratamientos evaluados.

			Tratamientos / Condición de riego							
			0% NPK + CM		50% NPK + CM		100% NPK + CM		100 % NPK No inoculado (control de producción)	
	Parámetros	Unidades	RN	DH	RN	DH	RN	DH	RN	DH
Intracelular	Deshidrogenasa	$\mu\text{g TFF g}^{-1} \text{h}^{-1}$	3,57±0,67 a	3,14±0,28 a	2,27±0,17 b	2,50±0,30 b	1,38±0,33 c	0,12±0,11 d	1,60±0,06 c	0,20±0,17 d
	DAF	$\mu\text{g de fluoresceína g}^{-1} \text{h}^{-1}$	39,15±17,12	42,77±8,30	32,11±10,82	49,74±7,53	32,45±8,02	39,13±5,27	35,80±4,22	33,82±8,14
	Amonificación de arginina	$\mu\text{g N-NH}_4 \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$	3,27±0,27 a	3,22±0,55 a	2,84±0,28 a	1,62±0,81 b	0,36±0,62 c	0,02±0,03 c	0,56±0,29 c	0,00±0,00 c
Extracelular	Fosfatasa ácida	$\mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{h}^{-1}$	33,91±33,34	41,45±11,48	45,02±10,91	41,85±8,36	65,26±8,58	68,83±31,14	47,40±18,48	46,21±13,73
	Fosfatasa alcalina	$\mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{h}^{-1}$	167,51±33,99 a	183,54±14,43 a	99,99±20,28 b	72,64±24,56 bc	41,44±3,92 cd	26,63±24,12 d	30,33±13,87 d	51,27±29,41 cd
	β -glucosidasa	$\mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{h}^{-1}$	48,08±4,64	56,12±12,04	51,87±14,32	59,15±5,23	44,28±3,11	50,83±15,10	50,46±2,08	50,08±9,04
	Ureasa	$\mu\text{g N-NH}_4 \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$	19,31±3,55 a	20,73±1,85 a	12,15±2,64 b	10,23±1,26 b	5,59±0,92 c	4,38±0,92 c	6,35±0,96 c	0,37±0,33 d

Valores promedios (n=3) y desviación estándar ($\pm$). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95%.

Condición de riego: RN= riego normal, DH= déficit hídrico. El porcentaje representa el requerimiento del nutriente. DAF = hidrólisis de fluoresceína. CM= consorcio microbiano. El porcentaje representa la dosis aplicada del fertilizante NPK.

Tabla 6. Actividad enzimática del suelo no rizosférico antes del ensayo y luego del ensayo bajo el efecto del déficit hídrico.

			Suelo no rizosférico (valores referenciales)	Suelo no rizosférico (0% NPK No inoculado)	
			Antes de la mecanización	RN	DH
Intracelular	Parámetros	Unidades			
	Deshidrogenasa	$\mu\text{g TFF g}^{-1} \text{h}^{-1}$	8,24 $\pm$ 0,94	5,20 $\pm$ 0,59 a	1,42 $\pm$ 0,87 b
	DAF	$\mu\text{g de fluoresceína g}^{-1} \text{h}^{-1}$	26,86 $\pm$ 0,94	33,29 $\pm$ 2,09 b	51,56 $\pm$ 5,48 a
Extracelular	Amonificación de arginina	$\mu\text{g N-NH}_4 \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$	2,33 $\pm$ 0,16	1,52 $\pm$ 0,20	1,94 $\pm$ 0,17
	Fosfatasa ácida	$\mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{h}^{-1}$	32,63 $\pm$ 2,65	7,79 $\pm$ 7,16	33,12 $\pm$ 16,67
	Fosfatasa alcalina	$\mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{h}^{-1}$	185,79 $\pm$ 1,79	164,09 $\pm$ 7,83 a	137,60 $\pm$ 3,92 b
	β -glucosidasa	$\mu\text{g p-NF g}^{-1} \text{h}^{-1}$	38,56 $\pm$ 1,97	38,53 $\pm$ 1,46	36,93 $\pm$ 0,91
	Ureasa	$\mu\text{g N-NH}_4 \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$	16,78 $\pm$ 0,51	19,32 $\pm$ 0,92	18,00 $\pm$ 0,97

Valores promedios (n=3) y desviación estándar ($\pm$). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza del 95%.

RN = riego normal, DH = déficit hídrico.

DISCUSIÓN

Efecto sobre las propiedades físico-químicas del suelo

La relación C/N en el suelo juega un papel fundamental en la conversión de la materia orgánica por los microorganismos del suelo a formas inorgánicas disponibles (mineralización), y en la captura de las formas inorgánicas de N disponibles dentro de los microorganismos cuando el N en el suelo es insuficiente (inmovilización). En condiciones de baja presencia de N en el suelo los microorganismos lo usan para su metabolismo, mientras que si las condiciones del C son escasas, los microorganismos obtienen este del nitrógeno orgánico disuelto, rompiéndolo y usando el C del esqueleto carbonado para el suministro de energía requerida en su crecimiento y metabolismo y de esta manera secretar NH_4 al suelo (Chapin et al., 2002). Se ha considerado que una alta relación C/N (>25) produce inmovilización, mientras que una baja relación C/N (<25) en el suelo, produce mineralización (Chapin et al., 2002). En consecuencia, los valores de la relación C/N en general determinados en esta investigación se relacionó con un mayor proceso de mineralización, y se estimó que la disponibilidad de agua en los tratamientos RN fertilizados e inoculados permitió tener una mayor cantidad de carbono soluble aunado a las fuentes carbonadas presentes en la rizósfera, por lo que en estos tratamientos la relación C/N tendió a ser mayor que en la condición DH. Otros estudios han mostrado que el N es un elemento imprescindible en el suelo, tanto para el cultivo como para la actividad de la microflora nativa y la de los inoculantes para expresar los mecanismos PCV o de promoción de crecimiento vegetal (Blanco y Reyes, 2018); razón por la cual, en el tratamiento 0 % NPK + CM en condición RN, la relación C/N tendió a ser mayor posiblemente porque la microbiota, especialmente la inoculada, incorporó en su biomasa las formas disponibles de N, y por ello hubo un mayor proceso de inmovilización con respecto a los otros tratamientos en donde había mayor disponibilidad de fertilizantes, beneficiándose principalmente la vida microbiana más que el cultivo, como en los otros tratamientos en donde las plantas sí contaban con formas inorgánicas disponibles para incrementar su biomasa y su rendimiento (Capítulo 6). De acuerdo con Gamarra et al. (2017), los valores obtenidos de C/N en esta investigación (cerca de 10) reflejan una disponibilidad suficiente de nutrientes para los microorganismos y los vegetales, y una eficiencia microbiana en cuanto a la descomposición de la MOS, y son muy cercanos a los valores reportados por Vásquez et al. (2013) para suelos de cultivo fértiles con alta tasa de mineralización (C/N entre 10 y 11) y en condiciones climáticas similares a las del presente trabajo. Además, se ha indicado que una mayor disponibilidad de C lábil genera una mayor producción de enzimas y a su vez una mayor descomposición cometabólica de MOS, conocido como efecto *priming* de la rizósfera (Haichar, 2014), para incrementar la disponibilidad de nitrógeno orgánico disuelto, el cual es la forma que prefieren absorber los microorganismos a partir de la solución del suelo (Wilkinson et al., 2014), y, que en el caso de la presente investigación se produjo por la adición del biofertilizante como una forma de sustrato de C orgánico al suelo. Desde el punto

de vista de Pathak y Kumar (2016), los biofertilizantes deben integrarse con abonos orgánicos y fertilizantes químicos para mejorar el carbono orgánico del suelo y mantener la sostenibilidad de cultivos hortícolas. En todo caso, Gomez y Paolini (2006) mencionan que en lugares con sequía, el rehumedecimiento del suelo induce a un incremento en la mineralización, lo que pudo haber ocurrido en la parcela experimental utilizada en la presente investigación. El ligero incremento en el carbono orgánico de los tratamientos inoculados y/o fertilizados sobre el suelo no rizosférico se debe a que las muestras de los tratamientos corresponden a suelo rizosférico que está en contacto estrecho con el bulbo y las raíces de la cebolla y con el consiguiente aporte de carbono también hay otro aporte por exudados radiculares; por lo que en este ensayo fue importante destacar la influencia de la rizósfera en algunas de las variables analizadas.

A pesar que en el presente estudio no hubo diferencias significativas entre el contenido de N total del suelo, en otros estudios se ha observado que la inoculación con microorganismos disolventes de P y K como *Pseudomonas* y *Bacillus*, tienen un efecto como mejoradores del contenido de N total del suelo y MOS, debido a que su presencia afecta la densidad y función de microorganismos nativos secretando metabolitos que inciden en la población microbiana, y también se evidenció que el funcionamiento de las RPCV es mejor en suelos con mayor fertilidad que en suelos con menor calidad nutricional (Akbar et al., 2019). En este sentido, se considera que el suelo de la parcela experimental utilizada de acuerdo a los resultados mostrados se consideró como fértil y de alta actividad biológica nativa, por lo que el inóculo CM funcionó sobre las propiedades enzimáticas especialmente las relacionadas con el N (amonificación de arginina y ureasa). Akbar et al. (2019) sugieren que para el caso del cultivo del trigo se puede reducir hasta en un 50 % el uso de fertilizantes inorgánicos (NPK) con el uso combinado de RPCV, y conseguir el mismo rendimiento que con la dosis completa de fertilizante inorgánico como se observó en el experimento de la presente investigación con la cebolla (Capítulo 2, Blanco et al., 2021a).

Por otro lado, Jaurixje et al. (2013) indicaron que en los suelos semiáridos venezolanos, las escasas lluvias y la alta evapotranspiración hacen que exista poco lavado, por lo cual existen más bases cambiables acumuladas superficialmente, y originan valores altos de pH alrededor de 7,5, como fue el caso del presente trabajo. El efecto de la aplicación del riego frecuente (RN) desacidifica el suelo o lo mantiene en equilibrio natural o con los valores referenciales, y desconcentra la presencia de fertilizantes NPK. En la actividad fosfatasa ácida la presencia de mayor cantidad de NPK podría estimular la actividad disolvente de P, y por ende la producción de ácidos orgánicos por parte de los microorganismos, especialmente por el inoculante que tiene esta característica, que a su vez acidifican aún más el medio y favorecen esta actividad que tendió a aumentar el pH en el tratamiento 100 % NPK + CM.

Aparte del efecto del CM también se pudo determinar el efecto neto de la fertilización inorgánica sobre ciertas propiedades del suelo entre el control de producción y el control

absoluto. En la la revisión realizada por Geisseler y Scow (2014), se reporta el incremento del C_{org} por efecto del fertilizante mineral, que si fuera el caso comparar con la presente investigación este efecto se sugiere en el tratamiento 100 % NPK No inoculado por la tendencia a incrementar hasta 116 % el C_{org} , y el incremento del C_{mic} en un 38 % en comparación con el suelo no rizosférico (0 % NPK No inoculado) en la condición RN. Con respecto al pH también en el presente trabajo se observó la disminución del C_{mic} en 32 % en el tratamiento 100 % NPK + CM (pH 4,6), un efecto del fertilizante inorgánico que para Geisseler y Scow (2014) está asociado al pH, pues estos autores demostraron que la fertilización mineral influye negativamente sobre la biomasa microbiana en suelos con $pH < 5$, mientras que en pH elevados ocurre lo contrario, como también se observó en la presente investigación. Bajo esta premisa, es importante resaltar que una mayor cantidad de C_{org} incidirá positivamente sobre el C_{mic} y la actividad enzimática, y que, por encima del efecto de los fertilizantes inorgánicos, en condiciones de C_{org} (alto) y el pH (bajo) son estos dos últimos los factores que más afectan la biomasa microbiana (Geisseler y Scow, 2014), siendo sus efectos más pronunciados en ensayos a largo plazo (>10 años).

Efectos sobre las propiedades microbiológicas del suelo

En Venezuela, existen estudios que reportan valores de C_{org} en suelos cultivados y no cultivados en diferentes condiciones y manejos como se menciona a continuación. Los valores correspondientes al C_{mic} y a la RB son análogos a los encontrados por Jaurixje et al. (2013) para un suelo cultivado con cebolla en Quíbor, Venezuela (C_{mic} 187 $\mu g C g^{-1}$ y RB 12,84 $\mu g C g^{-1}$) en un suelo de ambiente semiárido bajo un manejo convencional, y en cuyo estudio también se determinó que el mejoramiento de las condiciones físicas del suelo mediante un manejo tradicional u orgánico incrementa la actividad biológica de los microorganismos, en comparación a un manejo convencional que afecta la estructura física y compacta el suelo como consecuencia de una mayor densidad aparente, menor macro y microporosidad en el suelo, y menor conductividad hidráulica. Igualmente, los valores de biomasa microbiana en los tratamientos inoculados sin presencia de fertilizantes son similares a los reportados por Rodríguez et al. (2009) en suelos semiáridos del estado Falcón, incubados con herbicidas, cuyo efecto fue estimular la respiración y biomasa microbiana entre los 7 y 45 días de su aplicación, al igual que la estimulación que se observó con el CM en ambas condiciones de riego sin la presencia del fertilizante inorgánico. El rango de valores de C_{mic} en este experimento también son parecidos a los reportados por Gómez y Paolini (2011) para suelos de sabana sometidos al cambio de cobertura por el pasto *Brachiaria brizantha* en suelos del oriente venezolano en época seca y época de lluvia como mejorador de la actividad microbiana; aunque los valores de los tratamientos inoculados con 0 % NPK son superiores a estos, y mostrarían una mejoría aún mayor en la actividad microbiana *in situ*. Los valores de C_{org} , RB, y C_{mic} encontrados en la presente investigación son inferiores a los reportados en otro estudio correspondiente a suelos cafetaleros con distintos manejos agrícolas (Paolini,

2018), siendo entonces esta variable (C_{org}) considerada como una fuente limitante para la biomasa microbiana.

Ahora bien, el efecto de los microorganismos promotores del crecimiento vegetal sobre las propiedades biológicas puede observarse en otros estudios con *A. cepa*. Colo et al. (2014) encontraron que la aplicación de los inoculantes *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens*, tanto de forma individual como en consorcio influenciaron la rizósfera de cebolla, incrementando el número total de microorganismos, el número total de bacterias, y el número de *Azotobacter* con respecto al control no inoculado, mientras que la mayoría de los inoculantes redujeron el número total de hongos y no afectaron el número de actinomicetes. Además, en un estudio actual, Pellegrini et al. (2020) determinaron que la inoculación de la cebolla (desde semillas) con un consorcio microbiano compuesto por cuatro bacterias (*Azospirillum brasilense*, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae*, y *Burkholderia ambifaria*) incrementó el carbono orgánico, y la diversidad microbiana del suelo rizosférico en condiciones de campo, en comparación con el tratamiento control no inoculado, lo que indica el efecto positivo de la inoculación con RPCV sobre la salud del suelo, especialmente en el incremento de la fertilidad, y la estructura y diversidad de la comunidad microbiana. Recientemente Javoreková et al. (2015) determinaron que la adición de biofertilizantes influye sobre la estructura de la comunidad microbiana del suelo luego de un estudio del ADN microbiano antes y después de la inoculación, incrementando el número de unidades taxonómicas operativas en el suelo, además de incrementar significativamente la biomasa microbiana a los 30 días de su aplicación. Además, no solo las rizobacterias son usadas como biofertilizantes. Al-Maliki et al. (2019) utilizaron el alga *Ascophyllum nodosum* como biofertilizante en el cultivo de cebolla bajo distintos niveles de riego y encontraron que con la inoculación + el nivel de riego 100% se logró incrementar la actividad microbiana (RB) gracias al incremento en la MOS que influenció el desarrollo de la estructura del suelo, la porosidad y la capacidad de retención de agua del suelo, mejorando de esta forma la comunidad microbiana. En concordancia, en la presente investigación también se observó que los inoculantes rizobianos (CM) modificaron la rizósfera al incrementar la biomasa microbiana sin la influencia de los fertilizantes químicos. De esta manera, se reconoce la utilidad del enfoque funcional como una alternativa poderosa para estudiar la microbiota del suelo como fue planteado por Zamora et al. (2012), pero en este caso para determinar el efecto de los inoculantes sobre la biomasa microbiana y en condiciones limitantes y no limitantes de agua, incluso, luego de un disturbio como la mecanización de la parcela.

El cociente microbiano ($qMic = (C\text{-biomasa}/C\text{-orgánico}) \times 100$) es considerado como un indicador de la actividad biológica en el suelo y de la acumulación de MOS, de la disponibilidad de carbono de los microorganismos, de la eficiencia en la conversión del carbono a biomasa microbiana y de la estabilización del carbono por la fracción mineral del suelo, y se reportan valores entre 1 – 4 %. (Sparling, 1992; Insam, 1990). De acuerdo con esta

información, los tratamientos inoculados con 0 % NPK y no inoculados en ambas condiciones de riego, y el tratamiento 50 % NPK + CM en condición RN cumplieron con estos valores, mostrando que la mayor eficiencia en la conversión del carbono a biomasa microbiana se realizó en el tratamiento 0 % NPK + CM en condición DH (2,19 %). El mayor q_{Mic} significa mejor calidad del suelo y mayor eficiencia de las comunidades microbianas en el uso del C de la materia orgánica del suelo (Pardo-Plaza et al., 2019). Por su parte, el cociente metabólico o cociente ecofisiológico ($qCO_2 = RB/C\text{-biomasa}$) es la tasa de respiración por unidad de biomasa, y el término ecofisiológico hace referencia a la influencia del medio ambiente sobre la biomasa microbiana como unidad biológica, por ende el estado ecofisiológico de la microbiota del suelo (Dilly et al. 2001; Insam y Haselwandter, 1989). A mayor qCO_2 , se dice que la comunidad microbiana está en condiciones de estrés, o que es una comunidad joven, pues es mayor la respiración de los microorganismos que el tamaño que ocupan y se encuentran en crecimiento (Odum, 1969), o puede haber factores que estén influenciando su crecimiento como los pesticidas, la salinidad, metales pesados. De esta manera, más recientemente el cociente respiratorio ($qCO_2/C\text{-orgánico}$) hace referencia a la eficiencia metabólica como la relación entre el uso eficiente del C por los microorganismos y la calidad de la materia orgánica en el suelo (Dilly et al., 2001). Dilly et al. (2001) y Dilly (2005) propusieron este nuevo índice ecofisiológico llamado cociente de eficiencia metabólica que se refiere al cociente metabólico normalizado por el contenido de carbono orgánico. Este parámetro integra la respiración basal, la biomasa microbiana y el contenido de carbono orgánico en un solo valor (Paolini, 2018). Los microorganismos son más eficientes desde el punto de vista energético si este cociente es menor; y se incrementa cuando la respiración es mayor, la biomasa microbiana disminuye y el sustrato es menos rico y de menor calidad en carbono orgánico (Dilly, 2005).

Ruiz y Paolini (2004) reportaron valores de q_{Mic} entre 1,4 % y 4,1 %, en suelos cultivados con banano y caña de azúcar, con un promedio de 2,95 % para suelos cultivados, y 2,04 % para suelos bajo vegetación natural, siguiendo la tendencia de este valor a ser menor en suelos con vegetación natural que en suelos cultivados, mostrando que a menores valores de este índice posiblemente haya una considerable proporción de carbono orgánico muy humificado y por lo tanto difícilmente utilizable por los microorganismos, y por el contrario, a mayores valores hay mayor cantidad de C lábil, y por lo tanto disponible este para la microbiota. Más adelante, Paolini (2018) también determinó que sobre este parámetro influye el manejo del suelo y el estado nutricional del mismo, consiguiendo valores del cociente microbiano en suelos cafetaleros con manejo tradicional de 1,35%, y con manejo orgánico y convencional entre 0,71% y 0,85%. Asimismo, se evidenció que las prácticas de manejo influyen sobre el qCO_2 (cociente metabólico) y el $qCO_2/C\text{-orgánico}$ (cociente de eficiencia metabólica), indicando que los valores más altos están en el tipo de manejo convencional, y los valores más bajos en los manejos tradicional y orgánico, mostrando así que los microorganismos estarían bajo un mayor estrés en un suelo con manejo convencional,

posiblemente por la adición de agroquímicos. A pesar de no haber obtenido diferencias significativas en el cociente metabólico, el intervalo de valores encontrados concuerda con los reportados por Pardo-Plaza et al. (2019) considerados como ecosistemas agroforestales maduros, de manera que, la tendencia a disminuir este valor observado en los tratamientos 0 % NPK + CM en ambas condiciones de riego, y en el tratamiento 50 % NPK + CM en condición RN, sugieren que la presencia del CM podría inducir un uso más eficiente del C por la comunidad microbiana.

De acuerdo con Pardo-Plaza et al. (2019) en época seca la reducción del contenido de humedad causa estrés sobre los microorganismos y esto a su vez ocasiona un incremento en la respiración, lo cual podría observarse en el presente ensayo en la condición de déficit hídrico. Sin embargo, es importante resaltar que la aplicación de biofertilizante CM tendió a mitigar este efecto en la comunidad microbiana de acuerdo con los resultados obtenidos, en donde en el tratamiento 0% NPK + CM en condición de DH el cociente de eficiencia metabólica fue tan bajo como con el mismo tratamiento en condición RN; además, el efecto benéfico del CM sobre este índice ecofisiológico se observó también en el tratamiento 50 % NPK + RN, mitigando de cierta forma el impacto de dicha dosis de fertilizante inorgánico en la salud del suelo, e indicando que la presencia del CM tiende a favorecer el metabolismo de microbiota del suelo en hacer un uso más eficiente de los sustratos energéticos en estos tratamientos, aún en condiciones limitantes de agua.

Con respecto a la mineralización de N en condiciones anaeróbicas, estudios previos han mostrado una alta correlación entre esta y las actividades amidasa, glutaminasa, y asparaginasa, por lo que el estudio de estas actividades también es útil para determinar el N disponible para las plantas (Abdel Magid y Tabatabai, 1991). De hecho, Sullivan (2003) propuso que la prueba de mineralización de N sería más precisa para recomendar el N para la producción de cultivos, que como generalmente se hace a partir del porcentaje de MOS o el cultivo anterior, ya que el N mineralizable suministra entre el 5 % y 40 % de N, mientras que el amonio y el nitrato disponibles en el suelo suministran entre el 5 % y 15 % del requerimiento de N, y el resto proviene de los fertilizantes nitrogenados (40 % - 70 %) (Anderson et al., 2010); además se considera que esta prueba tiene un menor costo de análisis, y menos residuos de extracto que quedan en el laboratorio (Braos et al., 2016). Sin embargo, en la presente investigación los valores de N mineralizado son muy bajos respecto a los trabajos mencionados (10 a 120) (Abdel Magid y Tabatabai, 1991; Anderson et al., 2010), probablemente porque el nitrógeno potencialmente mineralizable es más sensible en suelos agrícolas sin fertilizantes sintéticos, es decir, bajo un manejo orgánico (USDA, 2014). Por otro lado, a medida que aumenta el NPK las plantas se encuentran mejor nutridas y por esto secretan mayor cantidad de exudados radicales como fuente de N mineralizable, y por ello pudo haber más actividad en estos tratamientos en condiciones RN tal como se observó.

Efecto sobre la rizósfera

La relación R/S se refiere a la relación entre los microorganismos de la rizósfera frente a los microorganismos que habitan en el suelo no rizosférico, y este valor suele encontrarse entre 10 y 50, lo que significa que hay entre 10 y 50 veces más microorganismos en el suelo rizosférico que en el suelo no rizosférico (Coyn, 2000). En este estudio el cálculo de la relación R/S permitió dilucidar el efecto de la fertilidad natural del suelo y la dependencia de los microorganismos a la rizósfera de acuerdo con Reyes y Valery (2007). Estos autores indicaron que si un suelo es pobre, los microorganismos dependen mucho de los exudados radicales, y por ende, la relación R/S es muy alta (R/S 44,0) en comparación con la del suelo no rizosférico, o que si esa relación es baja (R/S 4,6), entonces el suelo es rico o tiene una alta fertilidad y los microorganismos no son dependientes de los exudados radicales. La relación R/S encontrada en la presente investigación mostró valores muy bajos (a lo sumo 2,8 veces la biomasa microbiana en la rizósfera, en comparación con el suelo no rizosférico), lo que indica que en este suelo existe una alta fertilidad natural que hace que la microbiota nativa no sea dependiente de los exudados radicales para su nutrición, sino que, en este suelo fértil o rico los microorganismos cuentan con cantidad suficiente de minerales para su nutrición, debido a la acumulación de nutrientes no lixiviados ni lavados en las condiciones del ambiente semiárido del ensayo; y por esta razón además se justifica no haber establecido un tratamiento con suelo rizosférico con 0 % NPK No inoculado, o mejor dicho cultivar la cebolla sin fertilizantes ni inoculantes para poder observar el efecto del CM. En este sentido se determinó que en el tratamiento 0 % NPK + CM sí hubo un incremento significativo de esta relación con respecto al resto de tratamientos, indicando que posiblemente la aplicación del CM haya favorecido el crecimiento de grupos funcionales en estas condiciones de suelo donde no hubo influencia de los fertilizantes inorgánicos, sino que fue evidente el ya discutido efecto *priming* en la rizósfera, con mayor C disponible para la microbiota por efecto de la inoculación. Por lo tanto, se observó que el CM influyó sobre la estructura del suelo, específicamente sobre el compartimiento microorganismos al incrementar la fracción microbiota (mayor biomasa microbiana como se discutió anteriormente).

Efecto sobre las propiedades enzimáticas

Los valores de hidrólisis DAF obtenidos se encontraron dentro del rango reportado también por Gómez y Paolini (2006) en suelos del oriente venezolano con manejo de pastos, mientras que los valores de la actividad deshidrogenasa, y amonificación de arginina son inferiores y similares respectivamente a los reportados por Gómez y Paolini (2011) en suelos con la misma textura que el del presente estudio, en una sabana nativa y una sabana sometida a pastoreo extensivo, en condiciones de sequía y lluvia en el oriente venezolano. La medición de la actividad deshidrogenasa refleja el rango de la actividad oxidativa de los microorganismos del suelo, y se presenta solo como parte integral de células intactas y no se acumula extracelularmente en los suelos, por lo tanto puede ser tomada como un indicador del

metabolismo activo de la microbiota, por ende, de la actividad microbiana del suelo (Balota et al., 2013; Piotrowska-Dlugosz, 2014). Los valores obtenidos de la actividad deshidrogenasa en los tratamientos inoculados sin fertilización inorgánica o con dosis media son superiores a los mostrados por Srivastava et al. (2012) para suelo rizosférico de plantas de cebolla vermicompostada, y son similares a los obtenidos en los tratamientos con fertilización inorgánica. En la presente investigación el efecto inhibitorio de la actividad deshidrogenasa a medida que incrementó la dosis de fertilización inorgánica fue también observado tempranamente por Bremner y Tabatabai (1973) y Trevors (1984), quienes determinaron la inhibición de la actividad deshidrogenasa en presencia de compuestos nitrogenados como nitratos, nitritos y amonio, además de una mayor actividad deshidrogenasa en condiciones anaeróbicas ($O_2 < 5\%$), posiblemente por la restricción del O_2 como aceptor final de electrones en la respiración, hecho que resalta en el presente estudio en la condición RN donde la actividad enzimática de la deshidrogenasa fue significativamente mayor que en la condición DH. Es importante acotar que en otros estudios se ha observado un aumento de la actividad deshidrogenasa cuando existe un incremento del qCO_2 , debido a un mayor flujo de electrones por la condición estresante de los microorganismos (Balota et al., 2013).

El uso de consorcios microbianos es considerado en campo ya que estos podrían resistir mejor los periodos de limitación de nutrientes debido a la diversidad metabólica disponible por la variedad de especies que los componen. Posiblemente, bajo condiciones de déficit hídrico, existe una mayor actividad enzimática y ácidos orgánicos, esto, aunado a los exudados radicales que participarían en la tolerancia de algunas especies vegetales a la sequía de acuerdo con Song et al. (2012), como en este caso se observó en el híbrido de cebolla utilizado (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a), y que podrían haber favorecido la biomasa microbiana tal como se comprobó en esta investigación. En la presente investigación, los valores obtenidos de las actividades ureasa y amonificación de arginina son superiores a los reportadas por Armado et al. (2009) para suelos ligeramente alcalinos, en San Juan de Lagunillas, Mérida, Venezuela que mostraron una alta actividad microbiológica y enzimática en suelos cacaoteros, lo que indica que en la parcela estudiada existe una actividad biológica aún mayor que la anteriormente reportada. Asimismo, los valores más altos conseguidos en los tratamientos inoculados con el 0 % y el 50 % de NPK en la amonificación de arginina son similares a los más altos valores mostrados por Gómez y Paolini (2006) para otros suelos venezolanos cultivados con pastos y considerados como de alta actividad microbiana en época de lluvia, cuando la actividad microbiana aumenta. Esto indica que efectivamente el CM favoreció la actividad enzimática, y que esta variable resulta un buen indicador de la influencia del biofertilizante sobre la calidad y salud del suelo sobre la mineralización del N. En este sentido, Sanaullah et al. (2011) observaron que la condición de sequía disminuyó fuertemente la actividad enzimática en un suelo no cultivado, mientras que en el suelo cultivado con maíz en monocultivo se incrementó altamente la actividad de la leucina-aminopeptidasa, sugiriendo una mejora de la demanda de N en esta condición. De acuerdo al

resultado observado en las actividades ureasa y amonificación de la arginina en donde el CM fue más activo con las menores dosis de NPK, al contrario que en la mineralización del N, se pudo deducir que los inoculantes aplicados actuaron mejor como nitrificantes, y tuvieron menor efecto como amonificantes.

Ahora bien, con respecto a la actividad enzimática en la rizósfera en cebolla y otras especies como el pimentón se ha reportado que las actividades deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, ureasa, y β -glucosidasa, aumentan significativamente con la adición de sustratos vermicompostados, adjudicado al incremento de la biomasa microbiana por adición de microorganismos o por adición de sustratos orgánicos disponibles que promueven el crecimiento de microorganismos autóctonos, y con ellos la actividad enzimática (Benítez et al., 2000; Srivastava et al., 2012), de forma similar a lo observado en la presente investigación para estas mismas actividades enzimáticas, y cuyos rango de valores son similares en todos los casos. Benítez et al. (2000), también observaron la inhibición de las actividades fosfatasa (alcalina) y ureasa en el suelo rizosférico con la presencia de fertilizantes inorgánicos P soluble y amonio, respectivamente, al igual que ocurrió en la presente investigación en la rizósfera de cebolla fertilizada.

Por otro lado, los valores más altos de la actividad de la fosfatasa alcalina y ureasa (control absoluto y CM + 0% NPK) y el rango de valores de la hidrólisis del DAF y la β -glucosidasa en el presente estudio, son similares a los reportados por Aponte et al. (2011) en suelos semiáridos falconianos cultivados con sábila a plena exposición solar, condición similar al presente ensayo especialmente en la condición DH. Indudablemente, la aplicación de fertilizantes inorgánicos afectó progresivamente de acuerdo a la dosis aplicadas estas actividades enzimáticas tal como lo describen Balota et al. (2013), en ambas condiciones de riego, y aún con la presencia del CM. Vale destacar que en el estudio de Aponte et al. (2011) se consideró a los suelos semiáridos como de gran potencial para la actividad agrícola, por lo que, debido a la similitud de los valores encontrados en estas actividades bioquímicas que además correlacionan significativamente entre ellas, y con el carbono orgánico, el N total, y el P disponible, es oportuno reiterar que el suelo de la parcela experimental del presente estudio tiene una alta fertilidad y alta actividad de la microbiota nativa, que puede ser aún mejorada con la presencia del CM por el incremento de la producción de enzimas en condición de DH y sin la aplicación de fertilizantes inorgánicos. En este mismo orden de ideas, Renella et al. (2011) determinaron que el triptófano (precursor del ácido indol acético AIA), incrementó significativamente la actividad fosfatasa, β -glucosidasa, ureasa y proteasa, mientras que el precursor del etileno (ACC 1-amino ciclopropano-1-ácido carboxílico), incrementó la actividad fosfodiesterasa, ureasa y proteasa. Por lo tanto, según estos autores se considera que dichas fitohormonas pueden actuar como activadores metabólicos microbianos en lugar de fuentes de nutrientes para microorganismos; de esta forma, en esta investigación el CM presente pudiera utilizarlos como tal e incidir positivamente en la comunidad microbiana.

Entre otras cosas, Gianfreda (2015) menciona que los exudados radicales, el CO₂ atmosférico, el crecimiento de las plantas, el manejo del suelo, la temperatura y aridez, la salinidad, la interacción planta-microorganismo, y los contaminantes, son los factores que afectan la producción y actividad enzimática en la rizósfera.

Es de hacer notar que así como las propiedades microbiológicas del suelo relacionadas con el ciclo del C y los coeficientes ecofisiológicos (q_{Mic} , q_{CO_2} , y $q_{CO_2} C_{org}^{-1}$) son útiles para estudiar las alteraciones de la calidad y salud del suelo en respuesta a variedades de cultivo, estacionalidad climática, y tipo de manejo agrícola (Pardo-Plaza et al., 2019; Paolini, 2018), también resultaron apropiadas por su rápida y sensible respuesta ante el efecto del biofertilizante y la condición de estrés hídrico inducido en esta investigación, en las que se destacaron las variables biomasa microbiana, q_{Mic} , y el cociente de eficiencia metabólica. Además, es importante recalcar el potencial del CM para restaurar y mejorar el equilibrio dinámico del agroecosistema gracias a los menores valores mostrados en los tratamientos inoculados con ausencia de fertilizantes inorgánicos en comparación con el resto de tratamientos y el valor referencial para este suelo en la variable cociente de eficiencia metabólica. Por ello, en las propiedades microbiológicas del suelo y la tolerancia al estrés hídrico por la aplicación de inoculantes, el efecto pudiera deberse a la interacción planta-microorganismo como se observó en este estudio.

Los rizobios son reconocidos como agentes biocontroladores de enfermedades, por lo que una de las formas para lograr este efecto es incrementando la microbiota rizobiana en el suelo para contrarrestar los efectos que los fitopatógenos puedan ocasionar (Weller, 1988; Kumar et al., 2019; Blanco y Castro, 2021). Asimismo, el potencial biorremediador que presentan los rizobios puede ser utilizado en planes de restauración o rehabilitación de suelos (Blanco et al., 2013; Ying et al. 2015); esto en concordancia con el potencial que los rizobios usados en la presente investigación mostraron como mejoradores de las propiedades microbiológicas del suelo. El incremento de la biodisponibilidad de nutrientes en el suelo es otro de los mecanismos de los rizobios que enriquecen la fertilidad del suelo con el fin de mejorar la producción de los cultivos (Kumar et al., 2019). Igualmente, su efecto sinérgico con otros géneros de RPCV permite ampliar las posibilidades de éxito como inoculantes en el suelo con fines de una agricultura sostenible. Además, las RPCV afectan directamente el crecimiento vegetal por la síntesis de fitohormonas, fijación de nitrógeno, disolución de fósforo inorgánico, y mineralización del fosfato orgánico, lo que está relacionado con el aumento de la actividad enzimática del suelo (Egamberdieva et al., 2011). En otros estudios se ha reportado que la actividad ureasa y proteasa es fuertemente estimulada por la presencia de auxinas y giberelinas, y que la inoculación de plántulas de trigo con cepas de *Flavobacterium* sp. que producen auxinas, incrementaron la actividad galactosidasa y glucosidasa (Egamberdieva et al., 2011). Esto podría ayudar a explicar el incremento de la actividad ureasa

observado en la presente investigación, pues las bacterias aplicadas en el consorcio son productoras de sustancias estimulantes como el AIA (Blanco y Castro, 2021).

Es sabido que la fertilización inorgánica incrementa el contenido de elementos minerales en el suelo, pero disminuye o inhibe la actividad enzimática en este; y que por el contrario, la fertilización orgánica incrementa o mejora la mayoría de las actividades enzimáticas tanto en la rizósfera como en el suelo, siendo este último tipo de fertilización beneficiosa en términos de ahorro de costo y calidad medioambiental (Balota et al., 2013; Gianfreda, 2015; Antonious et al., 2020), como se pudo apreciar en términos generales en las actividades evaluadas en esta investigación; y que la fertilización orgánica (en este caso proporcionada con el CM) favoreció la actividad biológica y enzimática del suelo por proporcionar mayor cantidad de materia orgánica, como también lo acotó Gianfreda (2015). Asimismo se ha determinado que es necesario tener una adecuada concentración de materia orgánica junto con la aplicación de inoculantes microbianos para que haya un efecto sobre la actividad enzimática (fosfatasa ácida, ureasa, deshidrogenasa), pues los microorganismos necesitan una fuente de energía (carbono) para desarrollarse y funcionar correctamente en el suelo (Angulo et al., 2020).

En esta investigación se logró determinar que en condiciones de 0 % NPK el inoculante CM favoreció la restauración de la actividad biológica del suelo, ya que incrementó la biomasa, mejoró los cocientes ecofisiológicos y estimuló actividades enzimáticas como la fosfatasa alcalina, deshidrogenasa, la ureasa y la amonificación de arginina, tanto en condiciones no limitantes de agua (RN) como en condiciones limitantes de agua (DH), inclusive, igualando o superando el valor de referencia para el suelo de esta parcela antes del disturbio. Estos efectos positivos del consorcio podrían explicar el rendimiento de cebolla conseguido con el tratamiento 0% NPK + CM, el cual, a pesar de haber sido significativamente inferior al rendimiento de 36 t ha⁻¹ encontrado con los tratamientos 50% NPK + CM en condición RN, y el tratamiento 100% NPK no inoculado (control de producción) en ambas condiciones de riego (RN y DH) (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a), fue similar al rendimiento promedio para Venezuela y otros países con 18 t ha⁻¹ (FAO, 2020), destacando la ausencia de fertilizantes. Es decir, que es una alternativa ecológica bastante sustentable para el cultivo y el híbrido utilizado. Igualmente, se destacó que una dosis media de fertilizante 50% NPK + CM permitió aún el funcionamiento de la microbiota en cuanto al incremento de la biomasa microbiana, el cociente microbiano, y la actividad enzimática como la deshidrogenasa, la fosfatasa alcalina, la ureasa, y la amonificación de la arginina, esto en contraste con reducción significativa de estas actividades enzimáticas observada en los tratamientos 100% NPK + CM, y 100% NPK No inoculado (control de producción). La actividad amonificación de la arginina y el contenido de N total del suelo en 50% NPK + CM RN pudieran tener correlación con el buen rendimiento de bulbos alcanzado en este tratamiento debido a un mayor aporte de nitrógeno facilitado por el inoculante (Capítulo 3;

Blanco et al., 2021a). Asimismo, se demostró que no es adecuado aplicar el 100% NPK + CM, debido a la toxicidad que sobre el metabolismo microbiano produjo la dosis completa de fertilizante además de la presencia del CM, disminuyendo así la salud del suelo, y que se evidenció también sobre la reducción de algunos parámetros de crecimiento del cultivo (Capítulo 6).

CONCLUSIONES

El consorcio microbiano planteado podría ser una alternativa ecológica para mejorar la calidad y salud del suelo en condiciones de baja concentración de fertilizantes, en especies tolerantes a la sequía y zonas semiáridas, y pudiera ser usado en planes de restauración de suelos con condiciones similares a las mostradas en la presente investigación, y que además a futuro pueda incrementar la capacidad de resiliencia del suelo. Los indicadores biológicos biomasa microbiana, qMic, cociente de eficiencia metabólica, actividad deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, y especialmente los relacionados con el ciclo del N (actividad ureásica, amonificación de arginina) se mostraron sensibles a la acción del biofertilizante aplicado y a la condición de riego, pudiendo servir estos indicadores en estudios posteriores para evaluar de forma sencilla y rápida el efecto de la aplicación de inoculantes y déficit hídrico sobre los cambios en la calidad y salud del suelo.

REFERENCIAS

- Abdel Magid, H.M., Tabatabai, M.A., 1991. Amide nitrogen transformation in waterlogged soil. J. Agric. Sci. 116(2): 281-285.
- Adan, G., Duncan, H., 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range soils. Soil Biol. Biochem. 33: 943-951.
- Akbar, M., Aslam, N., Khalil, T., Akhtar, S., Siddiqi, E.H., Iqbal, M.S., 2019. Effects of seed priming with plant growth promoting rhizobacteria on wheat yield and soil properties under contrasting soils. J. Plant Nutr. 42(17): 2080-2091. DOI: 10.1080/01904167.2019.1655041.
- Alef, K., 1995. Soil respiration. En: Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Alef K. and Nannipieri P. Academic Press. Harcourt Brace & company, Publishers. p. 214-217.
- Alef, K., Kleiner, D., 1987. Applicability of arginine ammonification as indicator of microbial activity in different soils. Biol. Fertil. Soils. 5:148-151.
- Alef, K., Nannipieri, P., 1995. Microbial biomass. In: Alef, K. and P. Nannipieri (eds). Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press. Arcourt Brace and Company, Publishers. p. 375.
- Al-Maliki, S., Adnan, A., Alhussain, K.A., AL-Mammory, H., ALmoslimawi, A.A., 2019. Effect of *Ascomyllum* extract and water stress on soil biological properties and growth of onion (*Allium cepa* L.). Indian J. Ecol. 46(4): 796-802.
- Altamirano, F.E., 2003. Ecofisiología de las rizobacterias. En: Microbiología Agrícola: Un aporte

- a la investigación argentina. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Argentina. Albanesi, A., Anriquez, A., Luna, S., Kunst, C., Ledesma, R. (eds.). Universidad Nacional de Santiago del Estero. pp. 113-118.
- Anderson, J.P.E., Domsch, K.H., 1978. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.* 10: 215-222.
- Anderson, T. H., Domsch, K. H., 1989. Ratios of microbial biomass carbon to total organic-C in arable soils. *Soil Biol. Biochem.* 21: 471-479. doi: 10.1016/0038-0717(89)90117-X.
- Anderson, T. H., Domsch, K. H., 1990. Application of ecophysiological quotients (qCO_2 y qD) on microbial biomass from soil of different cropping histories. *Soil Biol. Biochem.* 22: 251-255. doi: 10.1016/0038-0717(90)90094-G.
- Anderson, N.P., Hart, J.M., Christensen, N.W., Melbye, M.E., Flowers, M.D., 2010. Using the nitrogen mineralization soil test to predict spring fertilizer N rate for soft white winter wheat grown in western Oregon. EM 9020. Corvallis, OR: Oregon State University Extension Service. 5 p.
- Angulo, J., Martínez-Salgado, M.M., Ortega-Blu, R., Fincheira, P., 2020. Combined effects of chemical fertilization and microbial inoculant on nutrient use efficiency and soil quality indicators. *Scientia Agropecuaria* 11(3): 375-380.
- Antonious, G.E., Turley, E.T., Dawood, M.H., 2020. Monitoring soil enzymes activity before and after animal manure application. *Agriculture* 10(166). 12 p. doi:10.3390/agriculture10050166.
- Aponte, H., Paolini, J., Mogollón, J.P., 2011. Efecto del cují asociado al cultivo de sábila sobre las propiedades bioquímicas de un suelo del semiárido falconiano. *Agronomía Trop.* 61(1): 5-13.
- Armado A., F. Contreras., P. García y J. Paolini., 2009. Correlación de actividades enzimáticas con la respiración basal en suelos cacaoteros del occidente venezolano. *Avances en Química.* 4(2): 73-77.
- Ataroff, M., Sarmiento, L., 2004. Las unidades ecológicas de Los Andes de Venezuela. En: La Marca, E., Soriano, P. (Eds), *Reptiles de Los Andes de Venezuela*. Fundación Polar, Codepre-ULA, Fundacite-Mérida, BIOGEOS, Mérida, Venezuela, pp. 11-26.
- Balota, E.L., Nogueira, M.A., Carvalho Mendes, I., Hungría, M., Lima Fagotti, D.S., Peruca Melo, G.M., Souza, R.C., de Melo, W.J., 2013. Enzimas e seu papel na qualidade do solo. *Tópicos Ci. Solo* 8: 221-278.
- Barriuso, J., B. Ramos Solano, J. A. Lucas, A. Probanza Lobo, A. García-Villaraco, F. J. Gutiérrez Mañero., 2008. Ecology, Genetic Diversity and Screening Strategies of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). En: *Plant-Bacteria Interactions. Strategies and Techniques to Promote Plant Growth*. Ahmad, I., J. Pichtel y S. Hayat (eds). WILEY-VCH. Germany. pp 1-18.
- Beck, T., Öhlinger, R., Baumgarten, A., 1995. Substrate induced respiration. pp. 64-68. In: F. Schinner, R. Öhlinger, E. Kandeler, and R. Margesin (eds.). *Methods in soil biology*. Springer Verlag, Berlin, FRG.

- Benítez, E., Melgar, R., Sainz, H., Gómez, M., Nogales, R., 2000. Enzyme activities in the rhizosphere of pepper (*Capsicum annuum* L.), grown with olive cake mulches. *Soil Biol. Biochem.* 32: 1829-1835.
- Blanco, E.L., Marquina, M.E., Castro, Y., 2013. Respuestas a la aplicación de carbamatos en dos aislados rizobianos provenientes de Mucuchíes, estado Mérida, Venezuela. *Bioagro* 25(2): 117-128.
- Blanco, E.L., Reyes, I., 2018. Aplicación de un biosustrato compuesto por microorganismos y roca fosfórica sobre el cultivo de dos variedades de lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 35: 408-434.
- Blanco, E.L., Rada, F., Paolini, J., Guerrero, J.A., 2021a. Effects of induced water deficit and biofertilization on growth dynamics and bulb yield of onion (*Allium cepa* L.) in a neotropical semi-arid environment. *Can. J. Soil. Sci.* 101(3): 494-506. DOI: [dx.doi.org/10.1139/cjss-2021-0011](https://doi.org/10.1139/cjss-2021-0011).
- Blanco, E.L., Rada, F., Castro, Y., Paolini, J., 2021b. Selección de un consorcio microbiano promotor del crecimiento de plántulas de cebolla en condiciones de umbráculo [Selection of a growth promoter microbial consortium in onion seedlings under shade-house conditions]. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 38(2): 301-321.
- Blanco, E.L., Castro, Y., 2021. Antagonismo de rizobacterias sobre hongos fitopatógenos, y su actividad microbiana con potencial biofertilizante, bioestimulante y biocontrolador. *Rev. Col. Biotecnol.* 23(1): 6-16. DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v23n1.84808.
- Bowya, T., Balachandar, D., 2020. Rhizosphere engineering through exogenous growth-regulating small molecules improves the colonizing efficiency of a plant growth-promoting rhizobacterium in rice. *3 Biotech* 10(6): 277. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02275-5>.
- Braos, B.B., Ferreira, M.E., Cruz, M.C.P., Braos, L.B., Barbosa, J.C., 2016. Mild and moderate extraction methods to assess potentially available soil organic nitrogen. *Rev. Bras. Cienc. Solo* 40: e0151059. DOI: 10.1590/18069657rbcs20151059.
- Bremner, J.M., 1965. Inorganic forms of nitrogen, En C. A. Black (eds.). *Methods of soil analysis (Part 2) Agronomy 9*. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA, pp. 1179-1237.
- Bremner, J.M., Tabatabai, M.A., 1973. Effects of some inorganic substances on TTC assay of dehydrogenase activity in soils. *Soil Biol. Biochem.* 5: 385-386.
- Casida, L.E. Jr., Klein, D.A., Santoro, T., 1964. Soil dehydrogenase activity. *Soil Sci.* 98: 371-376.
- Chapin, F.S. III, Matson, P., Mooney, H.A., 2002. *Principles of terrestrial ecosystem ecology*. Springer, New York, 435 p.
- Colo, J., Hajnal-Jafari, T.I., Duric, S., Stamenov, D., Hamidovic, S., 2014. Plant growth promotion rhizobacteria in onion production. *Pol. J. Microbiol.* 63(1): 83-88.

- Coyn, M., 2000. Microbiología del Suelo: un enfoque exploratorio. Editorial Paraninfo. España, pp. 12, 140.
- Dalal, R. and Meyer, R., 1987. Long term trends in fertility of soils under continuous cultivation and cereal cropping in southern Queensland. VII. Dynamics of nitrogen mineralization potentials and microbial biomass. *Aust. J. Soil Res.* 25:461- 473.
- Dash, P. K., Mishra, A., Saren, S., 2019. Role of micro-organisms in maintaining soil health. *Science Horizon*, pp. 16-19.
- Dilly, O., 2005. Microbial energetics in soils. In: *Microorganisms in soils: roles in genesis and functions. Soil Biology, Volume 5* (P. Buscot y A. Varma, eds.). Springer Verlag, Berlin, pp. 123-138.
- Dilly, O., Munch, J. C., 1998. Ratios between estimates of microbial biomass content and microbial activity in soils. *Biol. Fertil. Soils* 27: 374-379. doi: 10.1007/s003740050446.
- Dilly O., K. Winter, A. Lang, J.C Munch., 2001. Energetic eco-physiology of the soil microbiota in two landscapes of southern and northern Germany. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 164: 407-413.
- Ebrahimi, M., Sarikhani, M.R., Shiri, J., Shahbazi, F., 2021. Modeling soil enzyme activity using easily measured variables: Heuristic alternatives. *Applied Soil Ecology* 157: 103753. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103753>.
- Eivazi, F., Tabatabai, M.A., 1988. Glucosidases in and galactosidases in soils. *Soil Biol. Biochem.* 20: 601-606.
- Egamberdieva, D., Renella, G., Wirth, S., Islam, R., 2011. Enzyme activities in the rhizosphere of plants. In: *Soil Enzymology*, Shukla, G., Varma, A. (eds). Soil Biology 22, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg. Pp. 149-166. doi 10.1007/978-3-642-14225-3_8.
- FAO, 2020. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>. (consulta del 30/04/2020).
- Frioni, L., 1999. Procesos microbianos. Editorial de la Fundación universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina. Pp. 15, 59, 62.
- Frioni, L., Sicardi, M., Pereyra, C. 2003. Indicadores biológicos de la calidad del suelo sensibles a diferentes prácticas de manejo. En: *Microbiología Agrícola. Un aporte de la investigación argentina*. Albanesi, A., Anriquez, A., Luna, S., Kunst, C., Ledesma, R. (eds.). Universidad Nacional de Santiago del Estero. Pp. 23-37.
- Gamarra, C., Díaz, M.I., Vera, M., Galeano, M., Cabrera, A.J.N., 2018. Relación carbono-nitrógeno en suelos de sistemas silvopastoriles del Chaco paraguayo. *Rev. Mex. Cienc. Forestales* 9 (46): 4-26. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v9i46.134>.
- Gianfreda, L., 2015. Enzymes of importance to rhizosphere processes. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition.* 15(5): 1-10.
- Gómez, Y., Paolini, J., 2006. Actividad microbiana en suelos de sabanas de los llanos orientales de Venezuela convertidas en pasturas. *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol.)* 54(2): 273-285. DOI: 10.15517/rbt.v54i2.13868.
- Gómez, Y., Paolini, J., 2011. Variación en la actividad microbiana por cambio de uso en suelos en sabanas, Llanos orientales, Venezuela. *Rev. Biol. Trop.* 59(1): 1-15.

- Geisseler, D., Scow, K.M., 2014. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms – A review. *Soil Biol. Biochem* 75: 54-63.
- Haichar, F.Z., Santaella, C., Heulin, T., Achouak, W., 2014. Root exudates mediated interactions belowground. *Soil Biol. Biochem.* 77: 69-80.
- InfoStat Statistical Software., 2002. InfoStat/Profesional Versión 2.0. Estadística y Diseño-F.C.A., Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Insam, H., Haselwandter, K., 1989. Metabolic quotient of the soil microflora in relation to plant succession. *Oecologia*. 79:174-178.
- Insam, H., 1990. Are the soil microbial biomass and basal respiration governed by the climatic regime? *Soil Biol. Biochem.* 22: 525-532.
- Jaurixje, M., Torres, D., Mendoza, B., Henríquez, M., Contreras, J., 2013. Propiedades físicas y químicas del suelo y su relación con la actividad biológica bajo diferentes manejos en la zona de Quíbor, estado Lara. *Bioagro* 25(1): 47-56.
- Javoreková, S., Maková, J., Medo, J., Kováčsová, S., Charousová, I., Horák, J., 2015. Effect of bio-fertilizers application on microbial diversity and physiological profiling of microorganisms in arable soil. *Eurasian J. Soil Sci.* 4: 54-61.
- Jenkinson, D.S., Ladd, J.N., 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. En: Paul, E.A., Ladd, J.N. (eds). *Soil Biochemistry*. Marcel Dekker. Nueva York, pp. 415-471.
- Jupinder, K., Gosal, S.K., Samiksha, K., 2020. Soil enzymes: an agricultural perspective. En: Bakshi, B. (ed), *New perspectives in agricultural sciences*. LAP LAMBERT Academic Publishing. Mauritius, pp. 59-82.
- Kandeler, E., Gerber, H., 1988. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol Fertil Soils*. 6: 68-72.
- Kumar, A., V.S. Meena, P. Roy, Vandana, y R. Kumarli., 2019. Role of Rhizobia for sustainable agriculture: Lab to Land. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2019 129. En: A. Kumar, V. S. Meena (eds.), *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Agricultural Sustainability*, https://doi.org/10.1007/978-981-13-7553-8_7.
- Lin, Q., Brookes, P.C., 1999. Arginine ammonification as a method to estimate soil microbial biomass and microbial community structure. *Soil Biol. Biochem.* 31: 1985-1997.
- Margalef, O., Sardans, J., Fernández-Martínez, M., Molowny-Horas, R., Janssens, I.A., Ciais, P., Goll, D., Richter, A., Obersteiner, M., Asensio, D., Peñuelas, J., 2017. Global patterns of phosphatase activity in natural soils. *Scientific Reports* 7: 1337. doi:10.1038/s41598-017-01418-8.
- Marinari, S., Moscatelli, C., Grego, S., 2014. Enzymes at plant-soil interface. En: Gianfreda L. y M.A. Rao (eds). *Enzymes in Agricultural Sciences*. OMICS Group eBooks. USA, pp 94-109.
- Montgomery, D., 1991. *Diseño y análisis de experimentos*. Editorial Iberoamericana. 541 p.
- Odum, E. P., 1969. The strategy of ecosystem development. *Science* 164: 262-270. doi: 10.1126/science.164.3877.262.

- Paolini, J., 2011. Métodos de análisis de suelos, aguas y plantas. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Centro de Ecología. Laboratorio de Ecología de Suelos. Miranda, Venezuela.
- Paolini, J., 2018. Actividad microbiológica y biomasa microbiana en suelos cafetaleros de los andes venezolanos. *Terra Latinoamericana* 36: 13-22.
- Pardo-Plaza, Y.J., Paolini Gómez, J.E., Cantero-Guevara, M.E., 2019. Biomasa microbiana y respiración basal del suelo bajo sistemas agroforestales con cultivos de café. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 22(1): e1144. <https://doi.org/10.31910/rudca.v22.n1.2019.1144>.
- Pell, M., Stenström, J., Granhall, U., 2006. Soil respiration. pp. 117-126. En: J. Bloem, D. W. Hopking, and A. Benedetti (eds.). *Microbiological methods for assessing soil quality*. CAB International. Wallingford, UK.
- Pathak, D.V., Kumar, M., 2016. Microbial inoculants as biofertilizers and biopesticides. In: D.P. Singh et al. (eds.), *Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity*. Springer India. pp. 197-209. DOI 10.1007/978-81-322-2647-5_11.
- Pellegrini, M., Spera, D., Ercole, C., del Gallo, M., 2020. *Allium cepa* L. inoculation with a consortium of plant growth-promoting bacteria: effects on plant growth and development and soil fertility status and microbial community. *Proceedings 2019*, 5 p. doi:10.3390/ECM2020-07121 (registering DOI).
- Piotrowska-Dlugosz, A., 2014. Enzymes and soil fertility. En: Gianfreda L. y M.A. Rao (eds). *Enzymes in Agricultural Sciences*. OMICS Group eBooks. USA, pp 44-79.
- Rao, M.A., Scelza, R., Gianfreda, L., 2014. Soil enzymes. En: Gianfreda L. y M.A. Rao (eds). *Enzymes in Agricultural Sciences*. OMICS Group eBooks. USA. pp 10.
- Renella, G., Landi, L., Garcia Mina, J.M., Giagnoni, L. Nannipieri, P., 2011. Microbial and hydrolase activity after release of indoleacetic acid and ethylene–polyamine precursors by a model root surface. *Appl. Soil Ecol.* 47, 106–110.
- Reyes, I., Valery, A., 2007. Efecto de la fertilidad del suelo sobre la microbiota y la promoción del crecimiento del maíz (*Zea mays* L.) con *Azotobacter* spp. *Bioagro* 19(3): 117-126.
- Rodríguez, N., Coronado, H., Torres, D., Zamora, F., 2009. Cambios en la biomasa microbiana, respiración basal y germinación de cebolla (*Allium cepa* L.) luego de la aplicación de los herbicidas Oxifluorfen, Fluaxifop y Pendimetalin en un entisol del estado Falcón. *Revista UDO Agrícola* 9(3): 579-589.
- Ruiz, M., 2001. Características de la materia orgánica y la actividad biológica de suelos de la depresión del lago de Valencia sometidos a diversas formas de manejo. Tesis Doctoral. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía. Postgrado en Ciencias del Suelo. Maracay. 207 p.
- Ruiz, M., Paolini, J., 2004. El cultivo y el agua de riego sobre el carbono de la biomasa microbiana. *Agronomía Trop.* 54(2): 161-178.
- Sanaullah, M., Blagodatskaya, E., Chabbi, A., Rumpel, C., Kuzyakov, Y., 2011. Drought effects on microbial biomass and enzyme activities in the rhizosphere of grasses depend on plant community composition. *Appl. Soil Ecol.* 48, 38-44.

- Sims, J. R., Haby, V. A., 1971. Simplified colorimetric determination of soil organic matter. *Soil Sci.* 112: 137-141.
- Smith, J., Paul, E., 1990. The significance of soil microbial biomass estimations. In: *Soil Biochemistry*. Vol. 6. J. Bollag and G. Stotzky (Eds.). Marcel Dekker, New York. pp. 357 – 396.
- Solaiman, Z., 2007. Measurement of Microbial Biomass and Activity in Soil. In: *Soil Biology Volume 11. Advanced Techniques in Soil Microbiology*. Varma A, y R. Oelmüller. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. P.p 201-211.
- Song, F., Han, X., Zhu, X., Herbert, S.J., 2012. Response to water stress of soil enzymes and root exudates from drought and non-drought tolerant corn hybrids at different growth stages. *Can. J. Soil Sci.* 92, 501-507.
- Sparling, G.P., 1992. Ratio between microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of change in soil organic matter. *Aus. J. Soil res.* 30: 195-207.
- Srivastava, P.K., Gupta, M., Upadhyay, R., Sharma, S., Shikha, Singh, N., Tewari, S.K., Singh, B., 2012. Effects of combined application of vermicompost and mineral fertilizer on the growth of *Allium cepa* L. and soil fertility. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 175: 101-107. doi: 10.1002/jpln.201000390.
- Statistical Graphics Corporation, 2002. *Statgraphics Plus Versión 5.1*.
- Sullivan, D.M., 2003. Mineralizable nitrogen in soil: methods and interpretations. *Western Nutrient Management Conference* 5: 28.
- Tabatabai, M.A., 1995. Soil enzymes. En: *Microbiological and biochemical properties*. Weaver, R.W., S. Angle, P. Bottomley, D. Bezdicsek, S. Smith, A. Tabatabai, A. Wollum (eds). Soil Science Society of America. pp 775-883.
- Tabatabai, M.A., Bremner, J.M., 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil biology and biochemistry*, 1(4): 301-307.
- Trevors, J.T., 1984. Effect of substrate concentration, inorganic nitrogen, O₂ concentration, temperature and pH on dehydrogenase activity in soil. *Plant and Soil* 77: 285-293.
- USDA United States Department of Agriculture, 2020. https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/survey/class/maps/?cid=nrcs142p2_053594 (consulta del 17/06/2020).
- USDA United States Department of Agriculture - Natural Resources Conservation Service, 2014. Potentially mineralizable nitrogen (PMN). *Soil Quality Indicators*. 2 p.
- Van Bruggen, A.H.C., Semenov, A.M., 2000. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. *Applied Soil Ecology*. 15: 13-24.
- Vázquez, M.M., César, S., Azcón, R., Barea, J.M., 2000. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. *Applied Soil Ecology* 15: 261–272.

- Vásquez, J.R., Macías, F., Menjivar, J.C., 2013. Respiración del suelo según su uso y su relación con algunas formas de carbono en el departamento del Magdalena, Colombia. *Bioagro* 25(3): 175-180.
- Witter, E., 1996. Soil C balance in a long-term field experiment in relation to the size of the microbial biomass. *Biol. Fertil. Soils*. 23: 33 – 37.
- Walkley, A., y Black, I.A., 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37: 29-38.
- Waring, S.A., Bremner, J.M., 1964. Ammonium production in soil under waterlogged conditions as an index of nitrogen availability. *Nature* 201(4922): 951-952.
- Weller, M.D., 1988. Biological control of soil-borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26: 379–407.
- Wilkinson, A., Hill, P.W., Vaieretti, M.V., Farrar, J.F., Jones, D.L., Bardgett, R.D., 2015. Challenging the paradigm of nitrogen cycling: no evidence of in situ resource partitioning by coexisting plant species in grasslands of contrasting fertility. *Ecology and Evolution* 5(2): 275-287. doi: 10.1002/ece3.1244.
- Ying, T., Xiaomi W., Li L., Li, Z., Luo, Y.M., 2015. Rhizobia and their bio-partners as novel drivers for functional remediation in contaminated soils. *Front. Plant Sci.* 6: 32.
- Zak, J., Willing, M., Moorhead, D., Wildman, H., 1994. Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach. *Soil Biol. Biochem.* 26: 1101-1108.
- Zamora, A., Malaver, N., Ramos, J., 2012. Análisis funcional de microorganismos: un estimador de diversidad y estructura comunitaria. *Acta Biol. Venez.* 32(1): 57-86.

CAPÍTULO 6

Análisis del crecimiento y distribución de asimilados en cebolla biofertilizada en condiciones de déficit hídrico y nutricional en un ambiente semiárido

RESUMEN

El crecimiento poblacional mundial predicho para las próximas décadas ha originado una cantidad de estudios dirigidos a buscar estrategias eco-amigables, tanto para la mayor eficiencia del uso del agua, como para la mayor eficiencia del uso de nutrientes en los cultivos. El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de un consorcio microbiano sobre la dinámica del crecimiento y la distribución de asimilados en el cultivo de cebolla bajo condiciones de déficit hídrico y nutricional en un ambiente semiárido. Se cultivó cebolla híbrido F1 2000 en la estación experimental del IIAP-ULA San Juan de Lagunillas-Mérida, con un diseño bifactorial 2x4 en bloques completamente aleatorizados con tres repeticiones. El factor riego consistió en riego normal (RN; 100 % ETc), y déficit hídrico (DH; 67 % ETc); mientras que el factor fertilización consistió en cuatro niveles de fertilizante NPK + un consorcio microbiano (CM): 0 % NPK + CM, 50 % NPK + CM, 100 % NPK + CM, 100 % NPK no inoculado (control de producción). Se analizaron variables de crecimiento, índices de productividad y la eficiencia del uso de nutrientes (EUN). Los tratamientos 50 % NPK + CM y el tratamiento 100 % NPK no inoculado promovieron el área foliar, índice de área foliar, peso fresco de hojas, peso seco de raíz y bulbos, % N foliar en la etapa media del cultivo, y diámetro del bulbo, el peso fresco y seco de bulbos, y % N bulbos al final del cultivo. Las tasas de crecimiento mostraron que el DH acelera la maduración del cultivo, y que el déficit nutricional retrasa esta fase. El CM con la dosis 50 % NPK se recomienda para maximizar la EUN y la calidad nutricional de la cebolla sin afectar su rendimiento, y la dosis 100 % NPK no inoculada en condiciones de DH se recomienda en sitios con limitación hídrica como estrategias agrosostenibles.

Palabras clave: *Allium cepa*, alometría, biofertilizantes, eficiencia del uso de nutrientes, índices de productividad.

INTRODUCCIÓN

El crecimiento es definido por Taiz y Zeiger (2010) como un aumento constante en el tamaño de un organismo, acompañado por un proceso de morfogénesis y diferenciación celular. El crecimiento de los diferentes órganos de la planta es un proceso fisiológico complejo que depende directamente de la fotosíntesis, la respiración, la división celular, la elongación, la diferenciación, entre otros, y que además está influenciada por factores como temperatura, intensidad de luz, densidad de población, calidad de la semilla, disponibilidad de agua y de nutrientes (Mohr y Schopfer, 1995).

Hunt (1982), menciona que el análisis del crecimiento es una aproximación cuantitativa que usa datos simples y básicos para la descripción e interpretación de las plantas que crecen bajo condiciones naturales o controladas. Barrera et al. (2010) plantean que en el análisis de crecimiento se usan índices tales como área foliar específica (índice morfológico que describe una proporción entre el potencial fotosintético y el respiratorio, o la relación entre el área foliar total y la masa seca foliar total por planta), índice de área foliar (área de hojas verdes (m^2) por m^2 cuadrado de suelo), tasa de crecimiento absoluto (una tasa de cambio en tamaño, o sea un incremento del tamaño por unidad de tiempo), y tasa de crecimiento relativo (definida como el aumento en la cantidad de masa seca por unidad de biomasa y tiempo de acuerdo con Casierra y Vargas (2015)). Los valores de las tasas se obtienen de los muestreos destructivos estimados como masa seca en dos tiempos consecutivos. Pero estrictamente hablando, el análisis de crecimiento clásico es, en realidad, un análisis de la fijación y partición del carbono (Di Benedetto y Tognetti, 2016), y es un análisis de acumulación de peso seco como estimador del carbono total de la planta que facilita el análisis de los aspectos fisiológicos.

En el ambiente, existen estreses que se pueden encontrar como el hídrico, temperaturas extremas, baja disponibilidad de nitrógeno, presencia de metales pesados, alta salinidad, y sombra por plantas vecinas, entre otros. Los estreses mencionados inducen cambios fisiológicos, morfológicos y anatómicos que conciernen hojas, tallos y raíces (Chelli-Chaaboum, 2014), los cuales podrían afectar los procesos productivos como la distribución de asimilados y su balance dentro de la planta, afectando a su vez las tasas de crecimiento vegetal y producción. Las plantas responden a estos estreses a través de diferentes mecanismos que se desarrollan en distintas escalas de tiempo de acuerdo a la naturaleza del estrés y al proceso fisiológico que es afectado (Lambers y Oliveira, 2019).

Los biofertilizantes son sustancias que contienen microorganismos vivos que muestran efectos benéficos sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas (Maçik et al., 2020). Algunos de los microorganismos que contienen estos biofertilizantes son las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV). Los géneros microbianos con potencial para facilitar el crecimiento de cultivos como el tomate, papa, pimentón, entre otros son *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Enterobacter* y *Azospirillum* (Mekonnen y Kibret, 2021). Ellas permiten optimizar la producción vegetal y reducen la aplicación de fertilizantes minerales y pesticidas por los mecanismos principalmente de disolución de fosfatos, fijación de nitrógeno, producción de fitohormonas, producción de ácido cianhídrico, producción de sideróforos, inducción de resistencia sistémica y tolerancia sistémica, enzimas hidrolíticas y producción de antibióticos, que permiten promover el desarrollo sostenible de los cultivos (Mekonnen y Kibret, 2021). La importancia de los biofertilizantes en la agricultura además radica en que no causan daños al medio ambiente, incrementan la calidad y cantidad de los cultivos, y mejoran la estructura y fertilidad del suelo (Maçik et al., 2020).

El uso de consorcios de microorganismos (bacterias y hongos) promotores del crecimiento vegetal (MPCV) ha sido ampliamente reportado como mejoradores de parámetros del crecimiento en cultivos de cereales, hortalizas y especies ornamentales (Mondal et al., 2020). En cebolla se ha demostrado que las RPCV *Bacillus* sp., *Burkholderia* sp., *Azotobacter* sp., *Sphingobacterium* sp., pueden estimular la síntesis de metabolitos secundarios que pueden incrementar la acumulación de compuestos antioxidantes en los bulbos (Tinna et al., 2020). Por otro lado, Mahmoud et al. (2015) reportaron el incremento entre el 18,6 % y 19,2 % en el peso seco del bulbo y la planta en cebolla inoculada con *Azotobacter chroococcum* y *Azospirillum brasilense* en combinación con una dosis de 214 kg N ha⁻¹, lo cual consideran como un manejo integrado de nutrientes para mejorar el rendimiento y las propiedades del suelo para este cultivo. Igualmente se evaluó en cebolla (cv. NHRDF Red 2) el efecto de la inoculación de *Azospirillum* + bacterias disolventes de fosfato con el 50 %, 75 % y 100 % de la dosis recomendada de NPK, y se encontró que la combinación con el 100 % y 75 % NPK mejoraban parámetros de crecimiento como el diámetro del bulbo, número de hojas, altura de la planta, y rendimiento del bulbo, en tanto que la mejor relación beneficio / costo fue con la combinación 75 % NPK + *Azospirillum* + bacterias disolventes de fosfato (Vachan y Tripathi, 2017).

Uno de los mecanismos microbianos que actúa en condiciones de estrés ambiental tanto biótico como abiótico es la producción de ACC (1-aminociclopropano-1-carboxilasa) deaminasa. En este mecanismo la producción de AIA (ácido indol acético) estimula la producción de ACC sintasa, y a su vez esta ACC sintasa produce ACC, el cual es degradado por la ACC deaminasa de las RPCV y esta libera amoníaco y alfa-ketobutirato, disminuyendo el efecto inhibitor del etileno e incrementando la disponibilidad de N a la planta, especialmente en condiciones estresantes como la sequía, además permitiendo que el AIA haga su trabajo como estimulante del crecimiento vegetal (Glick, 2015). Al respecto, Dimkpa et al. (2009) mencionaron que hay efectos comunes inducidos por las tensiones ambientales con respecto a las interacciones raíz-suelo y cambios fisiológicos en el sistema radicular inducidos por RPCV como: i) estimulación del crecimiento radicular por el AIA y óxido nítrico producido por los microorganismos en condiciones de sequía o deficiencia de nutrientes, salinidad y toxicidad por metales, ii) disminución del nivel de etileno en plantas estresadas por la actividad ACC deaminasa en condiciones de estrés, y iii) cambios inducidos en la pared y/o membrana celular bajo condiciones de sequía y temperatura desfavorable.

De acuerdo con varios autores, la demanda global de alimentos se incrementará en los próximos 30 años entre 60 % y 110 % (Singh et al., 2018). En respuesta a esta situación, es necesario inducir a que los cultivos maximicen la eficiencia del uso de nutrientes (EUN) para el beneficio tanto del ambiente como de la humanidad. La cebolla es uno de los cultivos de mayor importancia a nivel mundial por su alto consumo y rentabilidad. Dependiendo de la variedad o híbrido, la cebolla puede ser sensible (Mubarak y Hamdan, 2018; Piri y Naserin,

2020) o tolerante al estrés hídrico (capítulo 3; Blanco et al., 2021a). Sin embargo, Pérez-Ortolá y Knox (2014) encontraron que las restricciones de agua durante el crecimiento del cultivo producen bulbos más pequeños y pueden provocar descomposición en almacenamiento.

La cebolla, a diferencia de otras hortalizas, es un cultivo que requiere de grandes cantidades de fertilizante N, P, K para alcanzar el máximo rendimiento de bulbos debido a su sistema radicular poco profundo y ramificado, y por esta misma razón su productividad depende en gran medida de la disponibilidad de agua en el suelo (Sekara et al., 2017). Su requerimiento nutricional es más alto durante la fase de desarrollo foliar y el rendimiento comercial disminuye conforme disminuye la longitud del ciclo de cultivo provocada por el aumento de temperatura de crecimiento (Sekara et al., 2017). En general, los nutrientes absorbidos por las plantas son usados principalmente para la producción de nuevos tejidos, siendo el N incorporado primeramente dentro de proteínas con menor cantidad de ácidos nucleicos y lipoproteínas, y es un muy importante componente de la clorofila; el P se incorpora preferentemente en fosfatos de azúcar involucrados en las transformaciones de energía, ácidos nucleicos y fosfolípidos; mientras que el K es importante para la regulación osmótica (Chapin et al., 2002; Singh et al., 2018). Así, para un crecimiento óptimo de las plantas, el contenido de estos nutrientes con respecto al peso seco en la fase de crecimiento vegetativo debe estar entre 2 a 5 % para el N y el K, mientras que debe estar entre 0.3 y 0.5 % para el P (Rouphael et al., 2012). Con la EUN se busca aumentar el rendimiento general de los sistemas de cultivo proporcionando una nutrición económicamente óptima al cultivo y minimizando las pérdidas de nutrientes en el campo, por lo cual son valiosas las prácticas de manejo que mejoran la EUN sin reducir la productividad o el potencial de futuros aumentos de productividad (Fixen et al., 2015). La escala de interés en la EUN puede ser tan pequeña como para una planta individual o tan grande como para un país o un conjunto de países para fines políticos, educativos o comerciales, y desde una sola temporada de cultivo o en su sistema de cultivo por décadas (Fixen et al., 2015).

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de biofertilizantes (un consorcio microbiano) sobre el crecimiento y la distribución de asimilados en cebolla bajo condiciones de déficit hídrico y nutricional en un ciclo de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del ensayo

El experimento se realizó en la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes (IIAP-ULA), ubicada en San Juan de Lagunillas, municipio Sucre, estado Mérida, con una altitud entre 1050 y 1100 msnm, y las coordenadas UTM 240946E – 941369N, 240737E – 941369N, 240737E – 941754N, 240946 E – 941759 N. El suelo de la estación experimental

está clasificado como un Aridisol de acuerdo a la taxonomía de suelos (USDA, 2020). De acuerdo al sistema de zonas de vida de Holdridge, el área de estudio corresponde a un bosque seco premontano, con una temperatura entre 18 °C y 24 °C, en la transición entre el bosque espinoso y el bosque muy seco en la región tropical. Mientras que Ataroff y Sarmiento (2004) se refieren a esta zona como una unidad ecológica de arbustal espinoso. La precipitación en la zona tiene un comportamiento bimodal con dos picos de lluvia en abril y octubre, la precipitación anual es de 509 mm, y la temperatura promedio es 23,7 °C (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a.). La evaporación anual es mayor a los 1500 mm, por lo que supera a la precipitación durante todo el año, lo cual hace que ningún cultivo supla su requerimiento hídrico y sea dependiente del riego, permitiendo realizar en el sitio experimentos con condiciones de déficit hídrico (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a). El experimento se realizó desde finales de febrero hasta mediados de junio de 2017. Las características del suelo de la parcela entre 0-15 cm de profundidad son: textura franco arenosa, materia orgánica 3,61 %, N total 0,12 %, P disponible 30 mg kg⁻¹, pH 6,04, conductividad eléctrica 0,14 mS cm⁻¹, K 568 mg kg⁻¹, Ca 2060 mg kg⁻¹, Mg 1872 mg kg⁻¹, y capacidad de retención de agua 27 % (Capítulos 2 y 3; Blanco et al., 2021a), y se determinaron previo al ensayo.

Establecimiento del experimento en campo

Inicialmente, se desinfectaron las semillas de cebolla híbrido F1 2000 según protocolo descrito en el capítulo 2 (Blanco et al., 2021b) y se estableció el semillero en bandejas de horticultura de 200 celdas con las condiciones descritas en el capítulo 3 (Blanco et al., 2021a). Luego, en la parcela experimental acondicionada con un pase de arado de disco, un pase de rastra, y la aplicación de herbicida preemergente y selectivo (i.a s-metalocloro) en dosis 2 L ha⁻¹ para el control de las malezas un mes antes del trasplante, se levantaron canteros con parcelas de 2,4 m de largo x 1,4 m de ancho (3,36 m²), separadas entre sí física y espacialmente a través de una zanja, con el fin de evitar contaminación entre los tratamientos aplicados. En cada parcela de 3,36 m², se dispusieron las plántulas de cebolla provenientes del semillero de 45 días después de la siembra (dds) (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a), en seis filas para un total de 120 plantas por parcela, con un marco de siembra de 10 cm x 20 cm para una densidad de siembra de 360.000 plantas ha⁻¹. El deshierbe durante el ensayo se realizó manualmente y el riego fue localizado.

Inóculo microbiano

El biofertilizante aplicado fue el consorcio microbiano (CM) de las cepas ME01 (*Rhizobium tropici*) + Leu2A (*Bradyrhizobium japonicum*), que fue seleccionado por su efecto promotor del crecimiento vegetal en plántulas de cebolla (Capítulo 2; Blanco et al., 2021b). Los tratamientos biofertilizados se inocularon con 2,5 mL del CM (1 x 10⁸ cel mL⁻¹) por plántula en las bandejas el día del trasplante, y se reinocularon en campo a los 15 ddt con

aproximadamente 5 mL del inóculo CM por planta de forma localizada con la ayuda de una bomba de aspersión eléctrica en la base de cada planta (Figura 1a) (Capítulo 3, Blanco et al., 2021a). El biofertilizante pertenece al cepario del Laboratorio de Fitobiotecnología-ULA.

Tratamientos y diseño experimental

En el experimento se usó un diseño bifactorial en bloques completamente aleatorizados con tres repeticiones. El factor riego consistió en dos frecuencias de riego y correspondiente a una determinada ETc: riego normal RN (riego diario; 100 % ETc) y déficit hídrico (riego cada tres días; 67 % ETc) a partir de los 20 días después del trasplante (ddt) (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a). El factor fertilización consistió de cuatro tratamientos de acuerdo al 100 % del requerimiento nutricional de NPK de cebolla para un rendimiento de 40 t ha⁻¹, para el cual se estableció una extracción neta de 247 kg N, 240 kg P₂O₅, 240 kg K₂O con un total de 577 g de fertilizante inorgánico de fórmula comercial 15-15-15 N-P-K (N amoniacal 10.3 %, N nítrico 4.7 %; fósforo asimilable 15 %; cloruro de potasio 15 %) más 5,4 g de urea para cada parcela de 3,36 m² (Capítulo 3; Blanco et al., 2021a). Los niveles de fertilización se combinaron con la aplicación del biofertilizante CM quedando establecidos los tratamientos de la siguiente manera: 0 % NPK + CM; 50 % NPK + CM; 100 % NPK + CM; 100 % NPK No inoculado (control de producción). Además, se tomó el suelo no rizosférico de las parcelas del tratamiento 0 % NPK + CM, estableciendo de esta manera una especie de control absoluto que supone un tratamiento 0 % NPK No inoculado para cada condición de riego, y que permitió observar el efecto de la rizósfera. La fertilización fue edáfica y se aplicó en banda. La dosis para el 100 % del requerimiento nutricional se dividió en tres partes (60 %, 20 % y 20 %) de la siguiente manera para cada parcela de 3,36 m²: 1era fertilización 9 días después del transplante (ddt) 346 g 15-15-15 /parcela; 2da fertilización 20 ddt 115,2 g 15-15-15 /parcela; 3ra fertilización 37 ddt 115,2 g 15-15-15 + 5,4 g urea /parcela. La cantidad total de fertilizante inorgánico se consideró como el 100 % NPK y con base en esta cantidad total se calculó el total de fertilizante para la dosis 50 % NPK, el cual se aplicó de la misma forma y en los mismos momentos durante el ciclo del cultivo.

Variables morfológicas

Las variables se determinaron mediante muestreo destructivo, y se realizaron medidas directas de crecimiento como el número de hojas, la longitud de la parte aérea y longitud de la raíz de forma manual utilizando una regla milimetrada; el diámetro del bulbo y el diámetro del cuello del bulbo utilizando un vernier con los cuales se determinó la relación de bulbificación, y posteriormente se separó cada planta en sus diferentes órganos. Luego se determinó el peso fresco y el peso seco de la raíz, bulbo y hojas. El material se secó a 60 °C hasta peso constante (3, 5 y 15 días a esa temperatura de acuerdo al desarrollo del cultivo) y se pesó. Las medidas se realizaron en tres tiempos: T₀=46 dds (0 ddt), T₁=80 dds (35 ddt), T₂=114 dds (69 ddt). Para

el T_0 se midieron estas variables en las plántulas que quedaron luego del trasplante el mismo día ($n=24$), debido a que el número de plantas era limitado y el promedio de estos datos sirvió como medida inicial para los siguientes tiempos. Las mediciones de las variables morfométricas en el T_1 y T_2 se realizaron en dos plantas por cada repetición por tratamiento ($n=3$, con dos submuestras por repetición). La unidad de muestra para las variables morfométricas fue la planta, mientras que la unidad de muestra para el rendimiento al final del cultivo (71 ddt) fue la parcela $3,36 \text{ m}^2$. El área foliar de la cebolla se determinó solo en el T_0 y T_1 de acuerdo con Córcoles et al. (2015) mediante la fórmula:

Área foliar (cm^2) = $0,000199 + (1,277 \times \text{largo hoja} \times \text{diámetro hoja a una distancia de 25\% desde la base de la hoja})$.

Análisis del crecimiento

Posterior a las determinaciones morfométricas se realizó una alometría determinando las variables indicadas en la Tabla 1.

Tabla 1. Índices de productividad determinados en el cultivo (Hunt, 1982)

Parámetro	Abreviatura	Definición	Unidades
Índice de área foliar	IAF	L_A/P	m^2/m^2
Área foliar específica	AFE	L_A/L_W	$\text{m}^2 \text{ kg}^{-1}$
Tasa de crecimiento absoluto	TCA	$(W_2 - W_1) / (T_2 - T_1)$	g d^{-1}
Tasa de crecimiento relativo	TCR	$(\ln W_2 - \ln W_1) / (T_2 - T_1)$	$\text{mg mg}^{-1} \text{ d}^{-1}$

Donde L_A =área foliar total, P =área del suelo por muestra, L_W =peso seco foliar total, W_2 =peso seco en el tiempo final, W_1 =peso seco en el tiempo inicial, T_2 =tiempo final, T_1 =tiempo inicial.

Distribución de asimilados

La asignación de biomasa a cada órgano se determinó con la relación porcentual de la biomasa de cada órgano con respecto a la biomasa total. Se determinó la acumulación de N foliar en el T_1 y T_2 , y la acumulación de N en bulbos en el T_2 . Para esto se homogenizaron las submuestras secadas por órgano y se molieron y tamizaron a $0,01 \text{ mm}$. Luego se determinó el N por el método de Kjeldahl por duplicado por cada repetición por tratamiento pesando 100 g

de material vegetal por muestra, de acuerdo con el protocolo descrito en el manual del laboratorio de Ecología Vegetal del ICAE.

Eficiencia del uso de nutrientes

Las variables de la eficiencia del uso del fertilizante NPK y del nitrógeno se determinaron de acuerdo con lo indicado en la Tabla 2. Las cantidades de nutrientes a saber para calcular estas variables se indican en la Tabla 3.

Tabla 2. Variables de eficiencia del uso de nutrientes

Variable	Fórmula	Fuente
Extracción total de N	Concentración de N en órgano (mg g ⁻¹) x Peso seco órgano	Przygocka-Cyna et al. (2020)
Eficiencia en el uso del nitrógeno (EUN _N)	(g N m ² / g N aplicado m ²) x 100	Machado (2005)
Índice de cosecha (IC)	(Peso seco bulbo / Peso seco planta) x 100	Cárdenas Velázquez et al. (2019); Hidangmayum y Sharma (2017)
Factor parcial de productividad (FPP)	Rendimiento kg / kg fertilizante NPK aplicado	Dobermann (2007)

Tabla 3. Cantidades en gramos de nutrientes aplicados por tratamiento

Tratamientos	Fertilizantes / parcela 3,36 m ²		N elemental aportado / m ²
	15-15-15 NPK	Urea	
0 % NPK + CM	0	0	0
50 % NPK + CM	288,5	2,7	13,25
100 % NPK + CM	577	5,4	26,5
100 % NPK No inoculado	577	5,4	26,5

CM=consorcio microbiano

Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante un ANOVA de dos vías y la prueba de medias LSD ($p < 0,05$) con el programa Statgraphics (Statistical Graphics Corporation, 2002). Se comprobó el supuesto de homogeneidad de varianza con el test de Bartlett. En los casos en los que los datos no cumplieron con el supuesto de homogeneidad de las varianzas, se sometieron a la prueba de Kruskal Wallis ($p < 0,05$) con el programa Infostat a un nivel de confianza del 95% (InfoStat Statistical Software, 2002; Montgomery, 1991). Para efectos del análisis estadístico morfométrico en el T_0 se dividieron los datos al azar en 8 grupos para determinar la igualdad inicial de las plantas trasplantadas a través de un ANOVA de una vía.

RESULTADOS

Variables de crecimiento en el T_0 46 dds (0 ddt)

En la Tabla 4 se observan los valores iniciales de las variables de crecimiento determinadas en un grupo de plántulas restantes luego del trasplante. El ANOVA de una vía realizado para estos datos agrupados al azar en ocho tratamientos permitieron corroborar que no habían diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las plántulas de las bandejas de horticultura, por lo que se utilizó el valor promedio mostrado en cada variable como valor único en T_0 para cada uno de los tratamientos luego del trasplante. Estos valores iniciales sirvieron como punto inicial en cada variable determinada para el T_1 .

Tabla 4. Variables morfométricas determinadas en el T0 = 46 dds (día del trasplante 0 ddt)

	Long total (cm)	Long aérea (cm)	Long raíz (cm)	PF aéreo (g)	PF raíz (g)	PS aéreo (g)	PS raíz (g)	PS total (g)	Nº de hojas	Diámetro base pseudotallo (mm)	Diámetro cuello pseudotallo (mm)	AF (cm ²)	AFE (m ² kg ⁻¹)	IAF (m ² /m ²)
Promedio	23,73	19,46	4,27	0,81	0,19	0,06	0,02	0,08	2,58	4,43	1,97	10,35	17,26	0,04
DE	2,57	2,34	0,59	0,19	0,07	0,01	0,00	0,02	0,49	0,74	0,09	2,41	4,01	0,01

n= 24; DE indica la desviación estándar. Los datos agrupados en ocho tratamientos al azar no mostraron diferencias estadísticas entre sí ($p>0,05$).

Long=longitud, PF=peso fresco, PS=peso seco, AF=área foliar, AFE=área foliar específica, IAF=índice de área foliar.

www.bdigital.ula.ve

Análisis del crecimiento y distribución de asimilados en el T1 80 dds (35 ddt)

En la variable área foliar se destacaron los tratamientos 50 % NPK + CM en condición RN y 100 % NPK No inoculado en condición DH con un incremento de 11,68 % y 12,20 % respectivamente por encima del tratamiento 100 % NPK No inoculado en condición RN (control de producción). Los valores de área foliar estuvieron entre 204,04 y 554,55 cm² siendo el menor valor mostrado por el tratamiento 0 % NPK + CM en condición RN. En la variable peso fresco de hojas y peso fresco de bulbos los valores de los tratamientos 50 % NPK + CM en condición RN y 100 % NPK No inoculado en condición DH fueron similares al control de producción 100 % NPK No inoculado en condición RN, pero se observó una reducción significativa de estos parámetros en el tratamiento 0% NPK + CM por efecto del déficit nutricional en ambas condiciones de riego (Tabla 5). La variable peso fresco raíz mostró que en la condición DH para todos los tratamientos inoculados hubo una reducción de este parámetro por debajo del control de producción, pero en el tratamiento 100 % NPK No inoculado en condición DH estos valores fueron similares al control de producción en RN. Con respecto a la variable peso seco hojas se encontró que los tratamientos % NPK + CM en condición RN y 100 % NPK No inoculado en condición DH tuvieron la misma incorporación de biomasa en este órgano con respecto al control de producción; y un resultado similar se encontró en la variable peso seco raíz y peso seco bulbos, incluso en esta última el tratamiento 100 % NPK No inoculado en condición DH superó en 29,6 % al control de producción. Conforme a lo que se esperaba en estas variables de biomasa, el tratamiento 0 % NPK + CM en ambas condiciones de riego fue inferior al control de producción en 62 %, 73 %, y 25 % menos biomasa para hojas, bulbos y raíces, respectivamente; siendo los menores valores en el tratamiento 0 % NPK + CM en condición RN. Por otra parte, contrario a lo que se esperaba en el tratamiento 100 % NPK + CM se observaron valores inferiores a los del control de producción en las variables peso fresco raíz, peso seco hojas, y peso seco raíz en 33 %, 42 %, y 38 % respectivamente, mostrando cierta inhibición en la incorporación de biomasa con respecto al control de producción. En las variables diámetro del bulbo y diámetro del cuello del bulbo se observó una similitud entre los tratamientos fertilizados inoculados y no inoculados con respecto al control de producción, a excepción del tratamiento 0 % NPK + CM en el que se observa menor diámetro en ambos parámetros con respecto al control de producción (Tabla 5). Esto se observa mejor en la Figura 1 donde se puede apreciar que el tratamiento 100 % NPK No inoculado (control de producción) había recién iniciado la etapa de bulbificación al presentar una relación igual a 2, conforme a lo indicado en los Grados-día acumulados en el Capítulo 3, y que los tratamientos fertilizados no difirieron significativamente de este. Se observa que el tratamiento 0 % NPK + CM mostraba ya en este momento un retraso en la bulbificación con respecto al control de producción debido al déficit nutricional al que estaba sometido. También se observa una leve tendencia de haber iniciado más rápido esta fase los tratamientos 100 % NPK + CM en condición RN, y 100 % NPK No inoculado en condición DH.

Tabla 5. Variables morfométricas en el T1 = 80 dds (35 ddt)

Variables	Unidades	Tratamientos / Condición de riego							
		0% NPK + CM		50% NPK + CM		100% NPK + CM		100% NPK No inoculado (control de producción)	
		RN	DH	RN	DH	RN	DH	RN	DH
Número de hojas	-	7,83±0,76	7,17±0,29	8,33±0,76	7,5±0,87	6,83±0,29	7,5±0,87	8,5±0,5	7,17±0,76
Área foliar	cm ²	204,04±32,62 c	283,36±56,52 bc	551,94±47,30 a	410,18±49,39 abc	288,89±2,70 bc	412,48±121,78 abc	494,23±24,65 ab	554,55±120,19 a
Longitud aérea	cm	53,88±11,84	49,37±0,32	58,43±3,90	61,92±2,10	56,60±2,43	64,57±4,99	65,10±6,33	67,85±7,14
Longitud raíz	cm	7,12±1,05	4,87±0,88	6,53±0,45	5,78±0,73	7,07±1,39	5,65±1,20	6,65±1,68	6,35±1,00
Peso fresco hojas	g	12,52±2,27 d	17,04±5,04 cd	36,52±3,85 a	28,80±2,27 abcd	20,26±0,38 bcd	28,15±9,15 abc	34,47±2,18 ab	35,62±8,01 ab
Peso fresco bulbos	g	4,83±0,32 d	7,68±3,59 cd	15,44±5,31 ab	12,32±2,70 bcd	14,34±5,66 abc	12,61±6,72 bc	15,78±2,28 ab	21,63±5,46 a
Peso fresco raíz	g	0,53±0,08 abc	0,37±0,05 c	0,59±0,04 ab	0,36±0,04 c	0,44±0,06 bc	0,41±0,23 bc	0,66±0,09 a	0,57±0,09 ab
Peso seco hojas	g	0,95±0,16 c	1,47±0,47 bc	2,10±0,17 ab	2,09±0,12 ab	1,44±0,15 bc	2,00±0,64 ab	2,49±0,13 a	2,45±0,83 a
Peso seco bulbos	g	0,46±0,01 d	0,83±0,33 cd	1,67±0,42 ab	1,35±0,30 bc	1,43±0,58 abc	1,33±0,75 bc	1,69±0,55 ab	2,19±0,52 a
Peso seco raíz	g	0,06±0,01 bcd	0,05±0,01 d	0,07±0,01 ab	0,05±0,01 cd	0,06±0,00 bcd	0,05±0,02 cd	0,08±0,01 a	0,07±0,01 abc
Diámetro del bulbo	mm	17,17±0,92 d	19,73±4,32 cd	27,3±3,03 ab	26,42±2,39 ab	27,08±4,28 ab	25,18±5,40 bc	29,33±2,23 ab	31,93±3,17 a
Diámetro cuello del bulbo	mm	11,45±0,56 d	11,58±1,66 d	14,98±0,58 a	13,58±0,30 abc	11,88±0,85 cd	13,1±1,73 bcd	14,72±0,88 ab	14,58±0,28 ab

Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días ETc 67%). CM= consorcio microbiano.

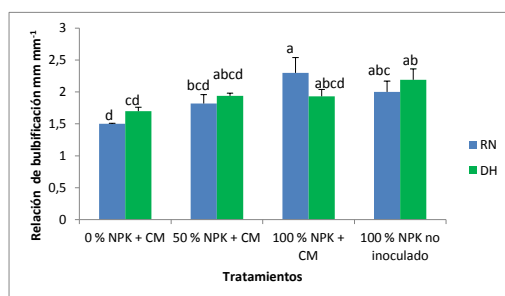


Figura 1. Relación de bulbificación a los 35 ddt (Diámetro del bulbo/diámetro cuello). Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días ETc 67%). CM= consorcio microbiano.

En la Figura 2 se puede observar en forma general el aspecto del crecimiento de las plantas de los tratamientos en campo. La TCA mostró que los tratamientos fertilizados con el 50 % NPK + CM tanto en RN como en DH, y el tratamiento 100 % NPK + CM y 100 % NPK No inoculado en la condición DH no para esta fase del cultivo no diferían estadísticamente del tratamiento 100 % NPK No inoculado en condición RN (control de producción). Sin embargo el tratamiento 100 % NPK No inoculado en condición DH tendió a superar el crecimiento del control de producción en 11 %. La deficiencia y exceso de nutrientes en esta fase del cultivo se observó que afectó el crecimiento total de las plantas ya que redujo el crecimiento de las plantas en los tratamientos 0 % NPK + CM en ambas condiciones de riego (45 y 66 % menos) y en el tratamiento 100 % NPK + CM en condición RN (37 % menos) con respecto al control de producción.

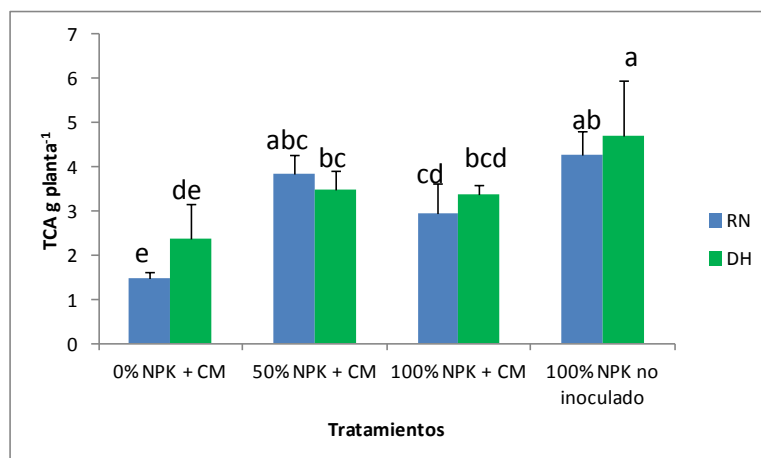


Figura 2. Tasa de crecimiento absoluto a los 35 ddt. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días ETc 67%). CM= consorcio microbiano.

En la Figura 3 se observan las variables de crecimiento foliar a los 35 ddt. En la figura 3a se observa que el IAF más alto se encontró en los tratamientos 50 % NPK + CM en condición RN y el tratamiento 100 % NPK No inoculado en condición DH con respecto al tratamiento 100 % NPK No inoculado en condición RN, superando por igual en 12 % a este último tratamiento correspondiente al control de producción, lo que indica el efecto positivo de estos tratamientos en déficit nutricional con la acción de los inoculantes sin limitación hídrica, y el efecto del déficit hídrico sobre la cebolla sin limitación nutricional en una mayor proporción de hojas verdes por área de superficie. Al igual que en parámetros anteriores se observa una reducción de esta variable en el tratamiento 0 % NPK + CM en RN (59 % por debajo del control de producción) y una tendencia en el tratamiento 100 % NPK + CM en condición RN (42 % por debajo del control de producción). En la Figura 3b no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos para la variable AFE, sin embargo se observa que el valor más alto lo presentó el tratamiento 50 % NPK + CM en condición RN tendiendo a ser superior en 32 % con respecto al control de producción.

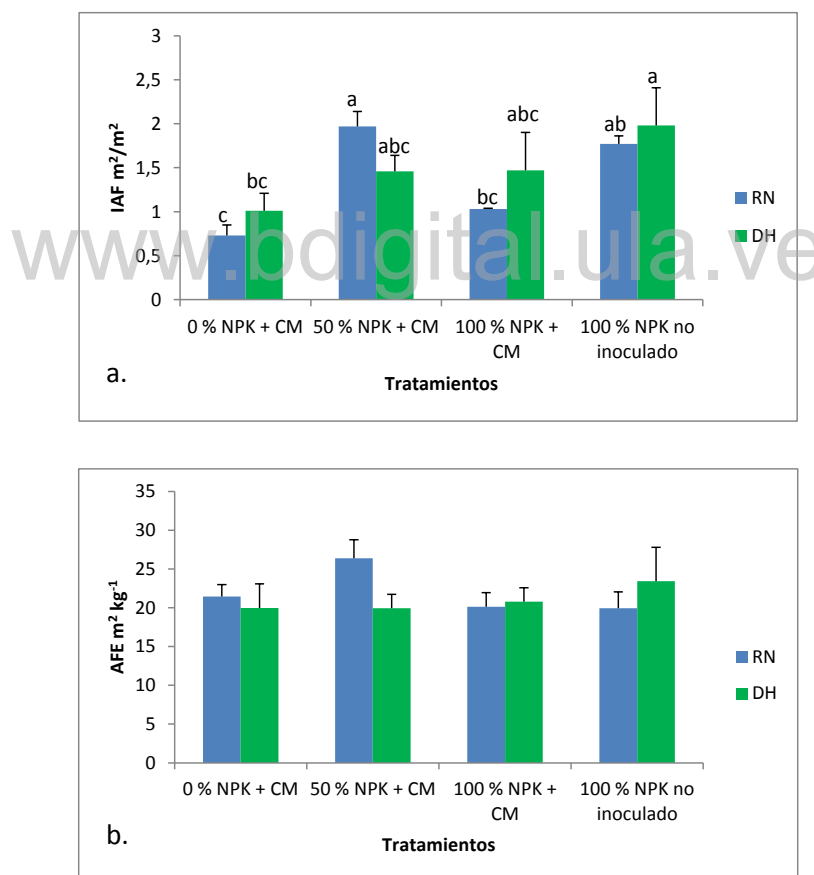


Figura 3. Variables de crecimiento foliar en el T1=35 ddt a. Índice de área foliar. b. Área foliar específica. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$), $\pm$ una desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano.

En la Figura 4 se observa que los tratamientos de la condición DH con fertilizantes mostraron una TCR total similar al control de producción, sin que el déficit nutricional afectara el crecimiento de la cebolla. Ahora bien, en los tratamientos con 0 % NPK + CM se observó en ambas condiciones de riego el bajo crecimiento con respecto al control de producción, siendo más fuerte el efecto en la condición RN. Además se observa que el exceso de aplicación de NPK en el tratamiento 100 % NPK + CM en la condición RN produjo una reducción en el crecimiento del cultivo debido a una mayor presencia soluble de estos en el suelo aunado al efecto del inóculo que produjeron una especie de toxicidad en las plantas causando la disminución del 10 % en la TCR con respecto al control de producción.

En la Figura 5 se observa que la TCR en órganos mostró un patrón similar en todos los tratamientos para esta fase del cultivo. En todos los tratamientos hubo ganancia de biomasa, especialmente en el tratamiento control 100 % NPK No inoculado en condición RN (Figura 5a). Con respecto a la TCR en hojas y bulbos se observa que la mayoría de los tratamientos fueron similares al control de producción, pero como en variables anteriores se observó que el tratamiento 0 % NPK + CM en ambas condiciones de riego fue el que menos incorporó biomasa entre los 46 y 80 dds (0 y 35 ddt) debido al déficit nutricional en el que se encontraba, siendo más evidente en la condición RN; igual que el exceso de nutrientes en el tratamiento 100 % NPK + CM en condición RN que se observa por debajo del control de producción. También se observa que la TCR en la raíz fue menor en los tratamientos inoculados en la condición DH (Figura 5b).

El patrón de asignación de asimilados mostró entre 50 % – 60 % asimilados para hojas, y entre 31 % – 47 % para bulbos y no mostró diferencia entre los tratamientos en lo referente a estos órganos (Figura 6a y Figura 6b), pero con respecto a la raíz se observa una mayor asignación de asimilados hacia este órgano en el tratamiento 0 % NPK + CM en la condición RN con respecto al resto de tratamiento incrementando hasta en 110 % la asignación de asimilados en la raíz en comparación con el tratamiento 100 % NPK No inoculado en condición RN (Figura 6a), mostrando que efectivamente el déficit nutricional fue mayor en este tratamiento y a pesar de la aplicación del CM no se puede sustituir la fuente de fertilizantes inorgánicos.

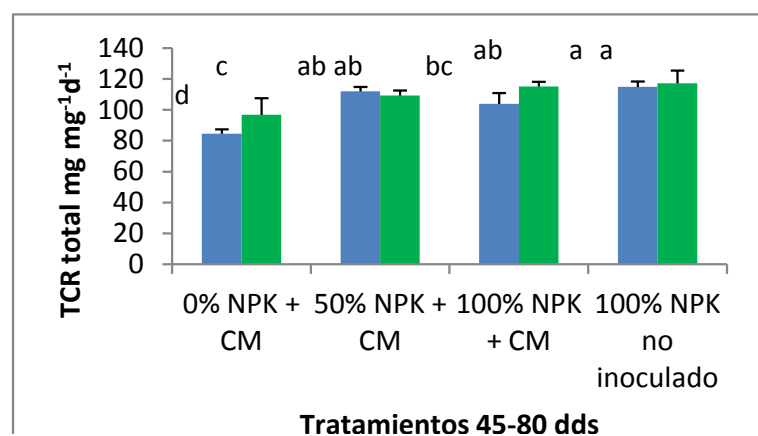


Figura 4. Tasa de crecimiento relativo total a los 35 ddt. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días ETc 67%). CM= consorcio microbiano.

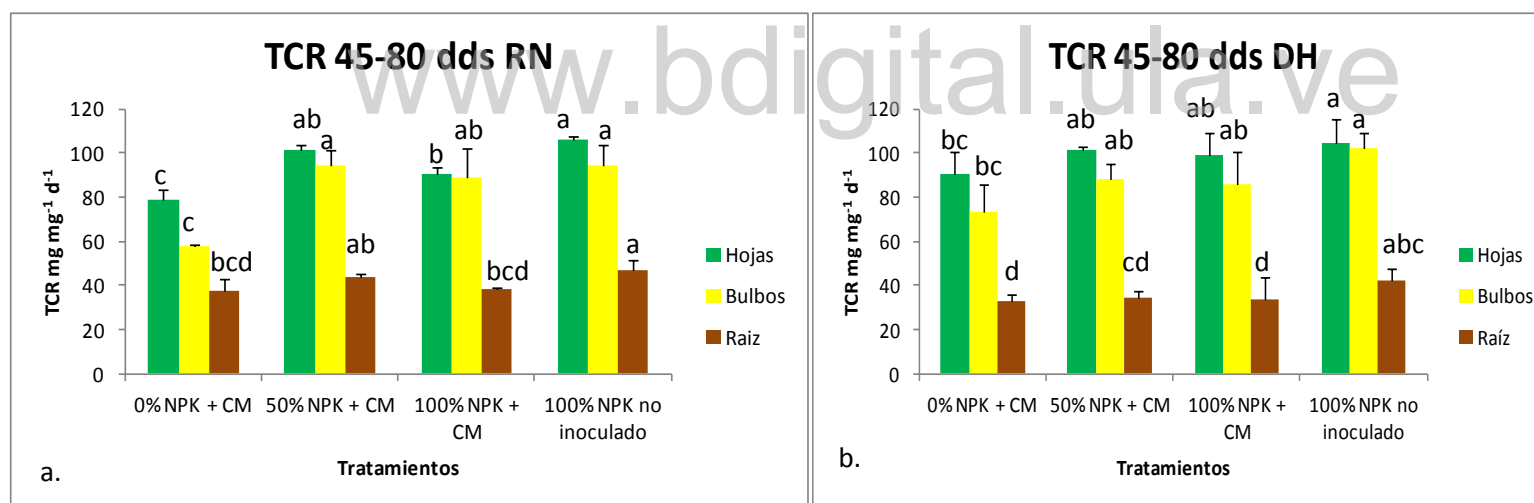


Figura 5. Tasa de crecimiento relativo de cada órgano a los 35 ddt. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano. a. Tratamientos en condición RN. b. Tratamientos en condición DH.

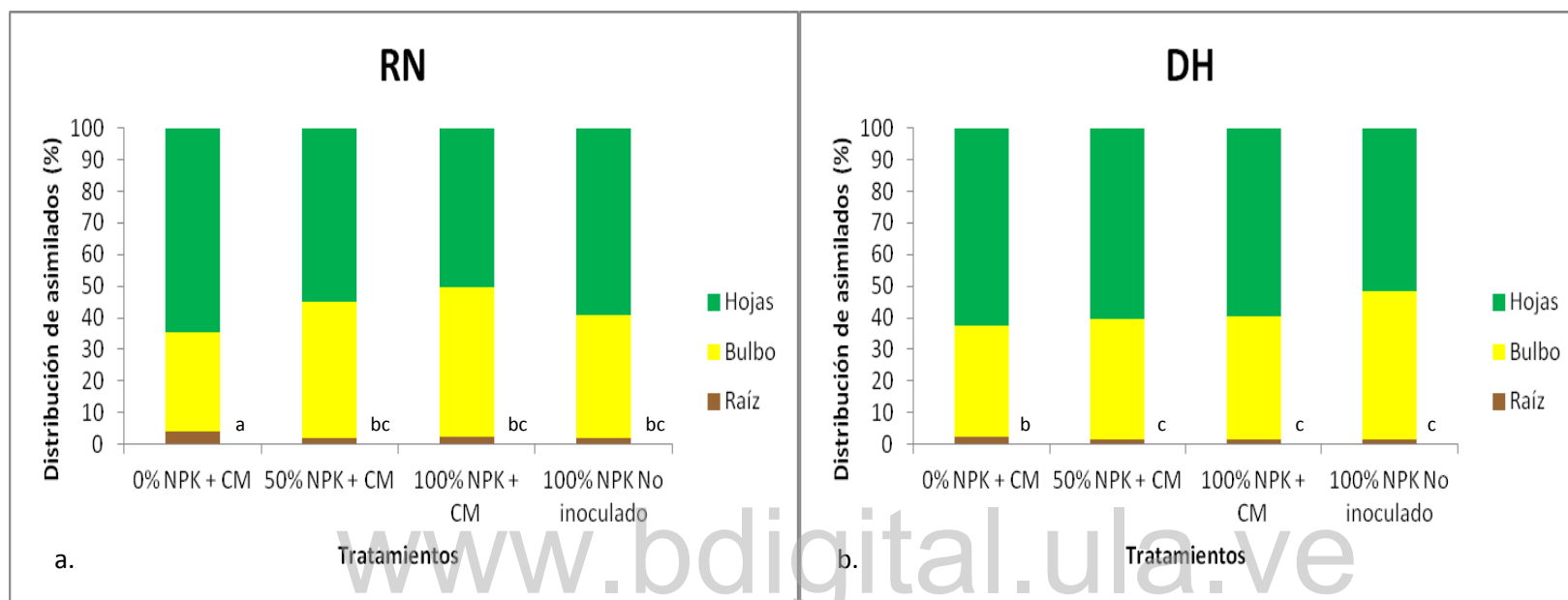


Figura 6. Distribución de asimilados en cada tratamiento a los 35 ddt. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$) a nivel de la raíz, $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano. a. Tratamientos en condición RN. b. Tratamientos en condición DH.

Con respecto a la acumulación de N en esta fase del crecimiento correspondiente a la bulbificación se observó que el mayor porcentaje de N foliar se encontró en los tratamientos inoculados 50 % NPK + CM y 100 % NPK + CM en condición RN, siendo estos similares al control de producción en esta misma condición de riego (3 % N). En este punto es importante recordar que la tasa de asimilación de CO₂ fue similar también entre el tratamiento 50 % NPK + CM y el control de producción 100 % NPK No inoculado en condición RN (Capítulo 4) lo que permite inferir que un mayor aporte de N por efecto del CM es clave para una mejor actividad fotosintética; igualmente el tratamiento 100 % NPK No inoculado en condición DH fue similar al control de producción en RN en el contenido de N foliar para esta fase del cultivo (Tabla 6). La variable extracción total de N en esta fase del cultivo mostró que los tratamientos 50 % NPK + CM en ambas condiciones de riego y 100 % NPK + CM y 100 % NPK No inoculado en condición DH fueron similares al control de producción 100 % NPK + CM en condición RN con la extracción de N foliar por m². En esta misma variable se observó que el tratamiento 100 % NPK + CM en condición RN y el tratamiento 0 % NPK + CM en ambas condiciones de riego presentaron menor extracción de N en entre 40 % y 78 % con respecto al control de producción 100 % NPK No inoculado en condición RN. Con respecto a la EUN_N se determinó que con la dosis 50 % de nitrógeno en los tratamientos 50 % NPK + CM se obtuvo hasta un 73 % de mayor eficiencia en la condición de RN y un 51 % de mayor eficiencia en la condición DH con respecto al control de producción. También se observó que el tratamiento 100 % NPK No inoculado en condición DH fue igual de eficiente al control de producción a pesar de la limitación hídrica. Por otra parte se observa que con la misma dosis de fertilizante 100 % en condición RN pero con la presencia del CM la eficiencia fue 40 % menor que el control de producción, lo que sugiere que un mayor exceso de nutrientes reducen la eficiencia de uso del nitrógeno en estos tratamientos y ocasionan un aporte de nitrógeno innecesario (Tabla 6).

Tabla 6. Acumulación de N foliar y variables de eficiencia del uso de nutrientes en el T1 = 80 dds (35 ddt)

		Tratamientos / Condición de riego							
		0% NPK + CM		50% NPK + CM		100% NPK + CM		100% NPK No inoculado (control de producción)	
Variables	Unidades	RN	DH	RN	DH	RN	DH	RN	DH
N foliar	%	1,64±0,24 d	1,94±0,14 c	3,03±0,24 a	2,65±0,13 b	3,06±0,16 a	2,86±0,17 ab	2,97±0,15 a	2,79±0,10 ab
Extracción total de N foliar	g N m ⁻²	0,57±0,18 d	1,02±0,34 cd	2,28±0,32 a	1,99±0,19 ab	1,57±0,08 bc	2,04±0,61 ab	2,63±0,12 a	2,43±0,74 a
EUN _N	%	nd	nd	17,19±2,41 a	14,99±1,45 a	5,94±0,31 c	7,68±2,29 bc	9,92±0,46 b	9,18±2,80 bc

Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano. EUN_N=eficiencia en el uso del nitrógeno. nd= no determinado porque el denominador es cero.

Análisis del crecimiento y distribución de asimilados en el T₂ 114 dds (69 ddt)

En esta fase de crecimiento a los 69 ddt (bulbificación-maduración), las variables morfométricas mostraron diferencias significativas entre los tratamientos en el número de hojas, señalando la pérdida de hojas en la condición de DH (5 hojas) para todos los tratamientos con respecto a la condición de RN (7 hojas). Para esta fase no hubo diferencias entre los tratamientos para las variables peso fresco y peso seco de hojas y raíces, pero sí hubo diferencias en los pesos tanto fresco como seco en los bulbos. En la variable peso fresco del bulbo los tratamientos fertilizados con 50 % y 100 % NPK inoculados en ambas condiciones de riego y el tratamiento 100 % NPK No inoculado en condición DH fueron similares al tratamiento control de producción 100 % NPK No inoculado en condición RN; mientras que el tratamiento 0 % NPK + CM fue inferior en 40 % en la condición RN y 29 % inferior en la condición DH con respecto al control comercial. El mayor valor del peso fresco del bulbo fue para el tratamiento 50 % NPK + CM en condición RN con 175 g por bulbo. En la variable peso seco del bulbo se observó que todos los tratamientos fueron similares al control de producción, a excepción del tratamiento 0 % NPK + CM en la condición DH; No obstante, se observó una clara tendencia a ser mayor la incorporación de biomasa en el tratamiento 50 % NPK + CM en condición RN en 25 % más que el control de producción indicando el efecto promotor del crecimiento realizado por el CM en condiciones no limitantes de agua sobre estas importantes variables de producción del cultivo de cebolla como lo son peso fresco y seco de bulbo. Por otro lado, el tratamiento 0 % NPK + CM fue inferior al control de producción en 22 % para la condición RN y en 35 % para la condición DH, mostrando así el efecto del déficit nutricional a pesar de la presencia del consorcio (Tabla 7). En el diámetro del bulbo también el tratamiento 50 % NPK + CM en condición RN mostró el mayor valor (77,55 mm), 5 % más ancho que el diámetro de los bulbos del tratamiento control. Con respecto a la variable cuello del bulbo se observó que el único tratamiento que fue diferente al control de producción fue el tratamiento 0 % NPK + CM mostrando un diámetro más ancho en el cuello del bulbo, lo que hace referencia a una inmadurez en el bulbo producto de un retraso en el ciclo del cultivo en este tratamiento por efecto del déficit nutricional (Tabla 7).

En la relación de bulbificación para esta fase del cultivo no se observaron diferencias entre los tratamientos, pero si se observa que la menor relación es en el tratamiento 0 % NPK + CM en condición RN, y la mayor relación en el tratamiento control de producción 100 % NPK No inoculado en condición RN (Figura 7).

Tabla 7. Variables morfométricas, nitrógeno foliar y en bulbos, y rendimiento en el T2 = 114 dds (69 ddt)

Variables	Unidades	Tratamientos / Condición de riego							
		0% NPK + CM		50% NPK + CM		100% NPK + CM		100% NPK No inoculado (control de producción)	
		RN	DH	RN	DH	RN	DH	RN	DH
Número de hojas	-	6,67±0,29 a	5,0±0,5 c	6,17±0,76 ab	4,83±0,76 c	6,17±0,29 ab	5,33±0,29 bc	6,5±0,25 a	5,17±0,29 c
Peso fresco hojas	g	9,53±4,20	8,33±5,64	9,04±0,58	6,06±1,68	6,75±1,99	8,0±0,78	7,28±1,16	8,37±1,94
Peso fresco bulbos	g	90,54±19,29 d	106,92±38,28 cd	174,86±8,49 a	151,96±8,43 ab	160,63±21,58 ab	129,40±27,35 bc	150,02±9,79 ab	144,59±13,77 ab
Peso fresco raíz	g	0,61±0,08	0,72±0,23	0,87±0,32	0,78±0,09	0,61±0,25	0,77±0,07	0,62±0,27	0,93±0,17
Diámetro del bulbo	mm	68,67±6,05 abc	60,57±5,61 c	77,55±7,15 a	71,75±1,33 ab	73,72±5,67 ab	66,65±5,95 bc	73,92±4,03 ab	70,42±3,67 ab
Diámetro cuello bulbo	mm	17,98±1,26 a	9,17±2,50 b	11,48±6,17 b	10,65±2,50 b	11,78±5,73 b	8,82±1,39 b	7,08±0,31 b	9,62±2,68 b
Peso seco hojas	g	1,69±0,48	1,62±0,78	2,15±0,29	1,36±0,62	1,70±0,41	1,46±0,24	1,77±0,19	1,58±0,22
Peso seco bulbos	g	6,80±2,24 bc	5,68±1,62 c	10,86±0,46 a	7,50±0,91 bc	8,56±0,85 b	7,69±1,85 bc	8,68±0,53 ab	7,93±0,56 b
Peso seco raíz	g	0,06±0,01	0,06±0,01	0,08±0,01	0,06±0,00	0,05±0,01	0,07±0,01	0,06±0,01	0,08±0,01

Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano. La unidad de muestra para estas variables fue la planta. La unidad de muestra para el rendimiento fue la parcela.

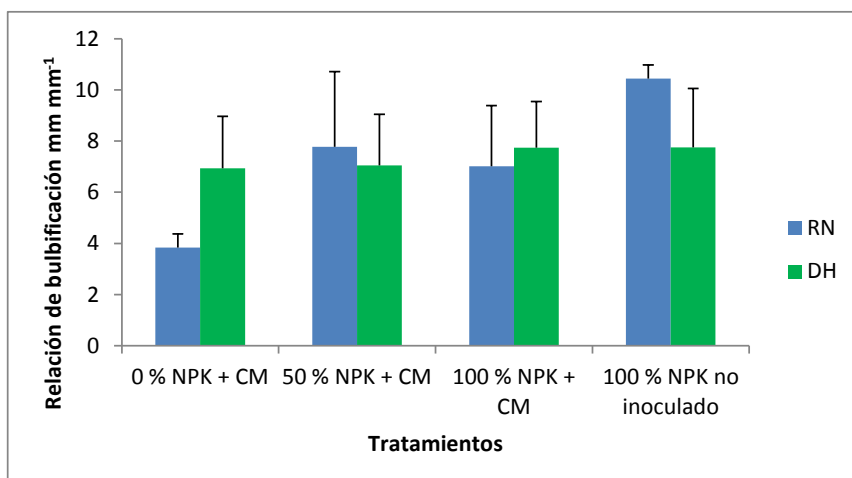


Figura 7. Relación de bulbificación a los 69 ddt (Diámetro del bulbo/diámetro cuello). Las barras indica la desviación estándar Tasa de crecimiento absoluto a los 69 ddt. Las barras indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días ETc 67%). CM= consorcio microbiano.

En la Figura 8 se observa la TCA a los 69 ddt donde se muestra una tendencia de mayor crecimiento alcanzada por el tratamiento 50 % NPK + CM en condición RN en 25 % sobre el tratamiento control de producción 100 % NPK No inoculado; mientras que se observa una tendencia general de un menor crecimiento en los tratamientos bajo la condición DH, pero sin diferencias significativas con respecto al control de producción a excepción del tratamiento 0 % NPK + CM.

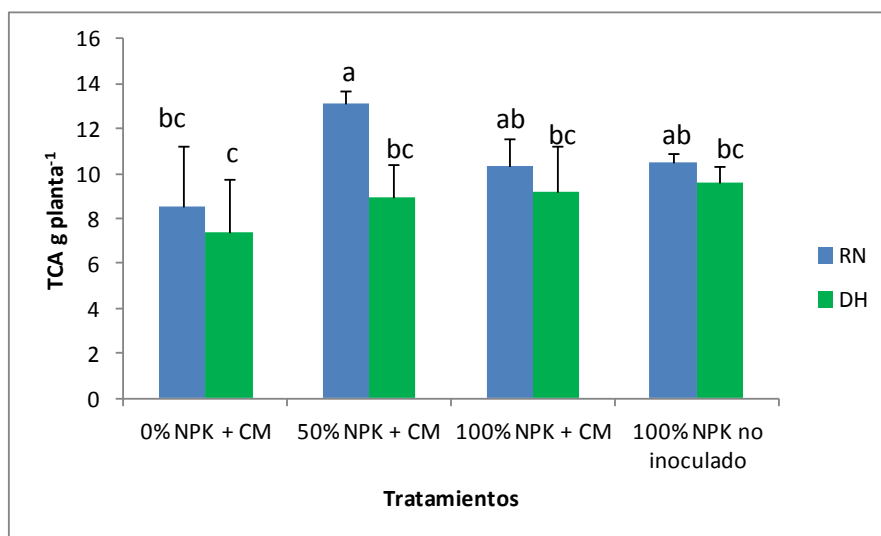


Figura 8. Tasa de crecimiento absoluto a los 69 ddt. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano.

La TCR total a los 69 ddt (Figura 9) muestra una tendencia clara a una menor ganancia de biomasa en el T₂ para los tratamientos fertilizados con 50 % y 100 % NPK, especialmente en el tratamiento 100 % NPK No inoculado en condición DH sobre la biomasa existente; además se observa que el tratamiento 0 % NPK + CM en ambas condiciones de riego, especialmente en la condición RN ganaron más biomasa durante el intervalo T₁-T₂ indicando una desventaja con respecto a los demás tratamientos por efecto del déficit nutricional.

La TCR de acuerdo a cada órgano a los 69 ddt (Figura 10) mostró en general una pérdida de peso en hojas en los tratamientos de la condición DH y en el tratamiento control de producción 100 % NPK + CM en la condición RN indicando un movimiento de asimilados desde las hojas hacia los bulbos en estos tratamientos que ya habían iniciado la fase de maduración del cultivo (observación de follaje doblado a nivel del cuello del bulbo). Con respecto a la TCR de bulbos se observa que todos los tratamientos ganaron biomasa durante el intervalo T₁-T₂, mostrando una menor ganancia de biomasa en el tratamiento 100 % NPK No inoculado en condición DH de acuerdo a lo observado a lo largo del cultivo, y conforme a lo indicado en el capítulo 3 en donde se señaló que la condición de estrés hídrico adelantó la fase de maduración, y en el tratamientos 0 % NPK + CM se observó una mayor incorporación de biomasa durante este intervalo, acorde a lo indicado también en el capítulo 3 como un retraso en la fase de maduración en ambas condiciones de riego para este tratamiento, y en consonancia con lo observado en la mayoría de parámetros evaluados. Con respecto a la TCR de la raíz no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, solo pérdida de peso para este órgano en los tratamientos 100 % NPK inoculado y no inoculado en la condición RN (Figura 10).

Contrario a lo que se esperaba, en la distribución de asimilados no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 11). En esta Figura 11 se muestra un patrón general de asignación de asimilados entre 16 % – 21 % para hojas, 78 % - 85 % para bulbos y 0,49 % - 0,88 % para raíces a los 69 ddt correspondiente a la última fase del cultivo (final de bulbificación-maduración).

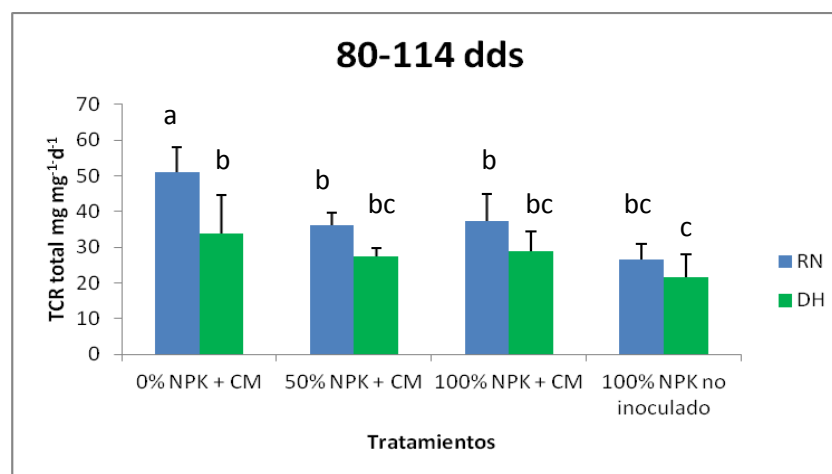


Figura 9. Tasa de crecimiento relativo total a los 69 ddt. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano.

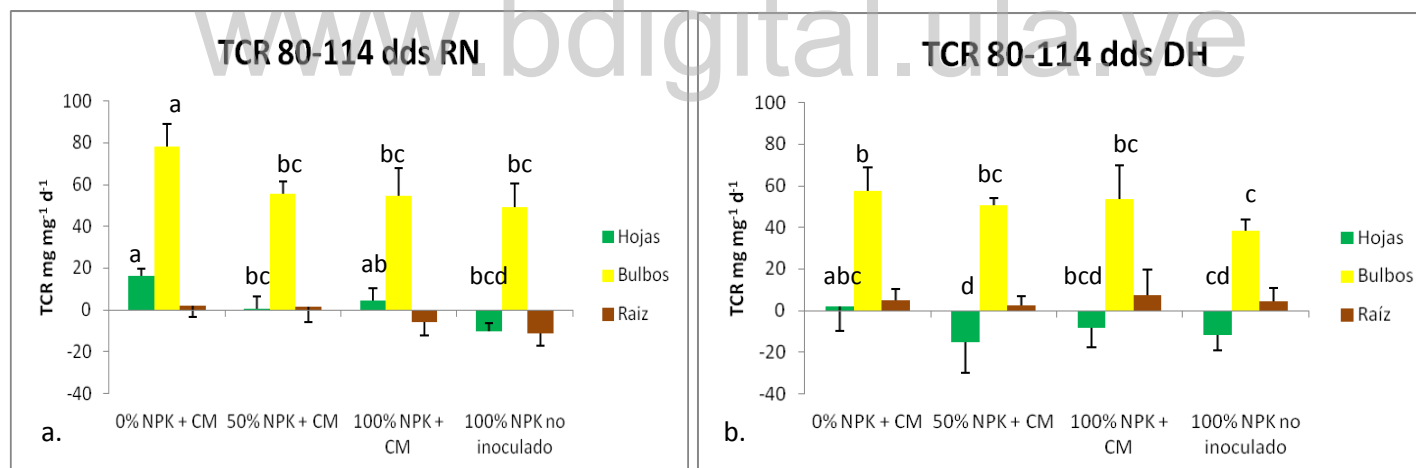


Figura 10. Tasa de crecimiento relativo de cada órgano a los 35 ddt. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano. a. Tratamientos en condición RN. b. Tratamientos en condición DH.

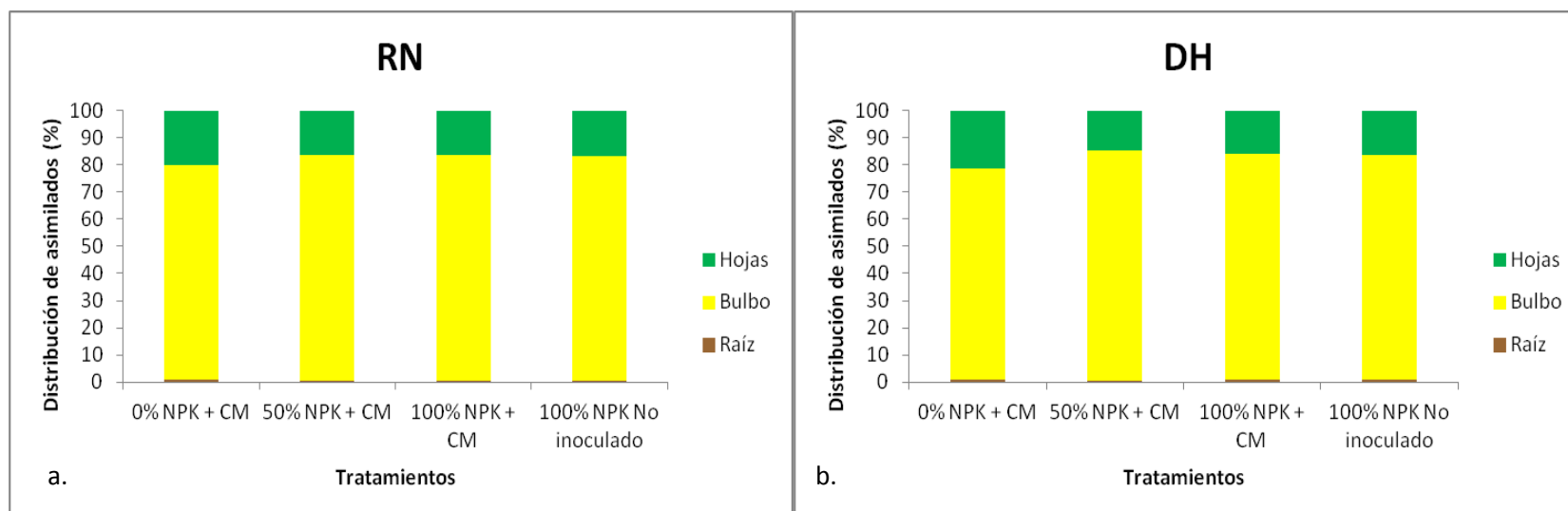


Figura 11. Distribución de asimilados en cada tratamiento a los 69 ddt. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano. a. Tratamientos en condición RN. b. Tratamientos en condición DH.

El contenido de N en hojas mostró que los porcentajes encontrados a los 69 ddt (Tabla 8) fueron menores con respecto a los encontrados a los 35 ddt (Tabla 6), lo que indica que es preferible determinar este parámetro durante la fase media de bulbificación y cuando la actividad fotosintética es mayor (Capítulo 4), para observar el efecto de los tratamientos sobre la asimilación de este elemento. Sin embargo se observó una acumulación de N similar entre los tratamientos 50 % NPK + CM en condición DH, 100 % NPK + CM en condición RN, y el tratamiento 100 % NPK No inoculado con respecto al control de producción 100 % NPK + CM No inoculado en condición RN. En consecuencia, para la variable extracción total de N foliar no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Ahora bien, en la EUN_N a nivel foliar para el T_2 se observó la misma tendencia que en el T_1 mostrando hasta 117 % y 46 % mayor eficiencia del uso de este elemento en el tratamiento 50 % NPK + CM para la condición RN y DH respectivamente con respecto al tratamiento control de producción 100 % NPK No inoculado en condición RN. Además en esta variable se observa que los tratamientos 100 % NPK inoculados y no inoculados tendieron a ser menos eficientes en el uso del N, lo que sugiere que la condición DH con la dosis completa de este elemento no hay deficiencia nutricional a pesar de la limitación hídrica (Tabla 8) como se discutió en el capítulo 3.

Un resultado interesante se presenta en el contenido de N en bulbos, pues muestra que la mayor incorporación de N fue en el tratamiento 50 % NPK + CM en la condición DH, superando significativamente en 19 % al control de producción 100 % NPK No inoculado en la condición RN, lo que permitió determinar que a pesar de haber conseguido un menor rendimiento en este tratamiento, indudablemente la calidad nutricional de los bulbos es mayor debido al efecto del CM en condiciones de estrés hídrico y nutricional (Tabla 8). También se observó un contenido de nitrógeno similar entre los tratamientos con 100 % NPK indiferentemente de la inoculación o condición de riego. Referente a la extracción total de N en bulbos se observó que fue similar entre los tratamientos 50 % NPK + CM y 100 % NPK inoculados y no inoculados con respecto al control de producción 100 % NPK No inoculado; y en efecto, hubo una menor extracción de N en bulbos en el tratamiento 0 % NPK + CM en ambas condiciones de riego debido a la carencia de N disponible para las plantas en este tratamiento a pesar de la presencia del CM. Al igual que la EUN_N foliar, la EUN_N en bulbos mostró una mayor eficiencia en el tratamiento 50 % NPK + CM especialmente en la condición RN hasta 110 % más eficiencia que el control de producción. Por otro lado, el rendimiento ya ha sido presentado con detalle en el capítulo 3, sin embargo es importante observar que el rendimiento similar encontrado entre el tratamiento 50 % NPK + CM en condición RN con respecto al control de producción 100 % NPK No inoculado en condición RN es debido a la presencia del CM por su efecto promotor del crecimiento evidenciado en la mayoría de las variables estudiadas en condiciones no limitantes de agua. De igual forma, el rendimiento similar entre los tratamientos no inoculados con el 100 % NPK corroboraron las hipótesis planteadas en la discusión del capítulo 3, y se observa que cuando hay limitación hídrica no

puede haber déficit de nutrientes si no se quiere afectar el rendimiento comercial de este cultivo (Tabla 8). Por otro lado, el índice de cosecha no mostró diferencias entre los tratamientos a pesar del estrés hídrico y el estrés nutricional aplicado. Finalmente, el FPP hace referencia a un uso más eficiente de los fertilizantes en los tratamientos con menor dosis NPK aplicados, siendo estos hasta 92 % más eficientes en el caso del tratamiento 50 % NPK + CM en condición RN con respecto al control de producción 100 % NPK No inoculado; mientras que el tratamiento análogo al control de producción pero en condición de estrés hídrico mostró un FPP igual a este, señalando que a pesar de la limitación hídrica cuando no hay limitación de fertilizantes no se afecta el rendimiento ni la calidad nutricional, además de la ventaja que representa el ahorro de agua en 35 % para el ciclo de crecimiento del cultivo. Y en general, para la eficiencia del uso de nutrientes se observó el siguiente orden: 50 % NPK + CM RN > 50 % NPK + CM DH > 100 % NPK No inoculado RN > 100 % NPK No inoculado DH > 100 % NPK + CM DH > 100 % NPK + CM RN. De acuerdo al rendimiento reportado se deduce que la eficiencia en el uso de nutrientes debió haber sido aún mayor en el tratamiento 0 % NPK + CM con respecto a todos los tratamientos, a pesar de no ser posible realizar este cálculo (Tabla 8).

www.bdigital.ula.ve

Tabla 8. Acumulación de N y variables de rendimiento y eficiencia del uso de nutrientes en el T2 = 114 dds (69 ddt)

		Tratamientos / Condición de riego							
		0% NPK + CM		50% NPK + CM		100% NPK + CM		100% NPK No inoculado (control de producción)	
Variables	Unidades	RN	DH	RN	DH	RN	DH	RN	DH
Hojas	N foliar	%	1,59±0,11 cd	1,48±0,07 d	1,61±0,05 bc	1,72±0,04 ab	1,77±0,08 a	1,65±0,03 bc	1,81±0,07 a
	Extracción total de N foliar	g N m ⁻²	0,97±0,32	0,86±0,42	1,24±0,20	0,84±0,38	1,08±0,28	0,86±0,15	1,15±0,14
	EUN _N	%	nd	nd	9,39±1,54 a	6,31±2,89 b	4,07±2,46 bc	3,25±1,06 c	4,32±0,52 bc
Bulbos	N bulbos	%	1,21±0,15 d	1,66±0,10 c	1,62±0,15 c	2,31±0,28 a	2,02±0,09 b	1,77±0,15 bc	1,94±0,12 b
	Extracción total de N bulbos	g N m ⁻²	2,94±0,97 c	3,38±1,07 c	6,29±0,67 a	6,13±5,88 ab	6,16±0,69 a	4,82±1,14 b	6,01±0,17 ab
	EUN _N	%	nd	nd	47,47±5,09 a	46,26±3,18 a	23,26±2,62 b	18,19±4,28 b	22,66±0,65 b
	Rendimiento (71 ddt)	t ha ⁻¹	23,96±2,46 d	25,35±4,39 d	35,0±2,02 abc	28,70±1,98 bcd	28,37±6,07 cd	29,30±5,80 abcd	36,40±4,46 a
	Índice de cosecha	-	0,79±0,03	0,78±0,03	0,83±0,02	0,85±0,04	0,83±0,02	0,83±0,02	0,83±0,02
	FPP	kg kg ⁻¹	nd	nd	40,76±2,35 a	33,43±2,31 b	16,52±3,54 c	17,06±2,46 c	21,20±2,60 c

Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$), $\pm$ indica la desviación estándar. RN= frecuencia de riego diaria (ETc 100%). DH= frecuencia de riego cada tres días (ETc 67%). CM= consorcio microbiano. EUN_N=eficiencia en el uso del nitrógeno. FPP=factor parcial de productividad. nd= no determinado porque el denominador es cero.

DISCUSIÓN

Efectos del biofertilizante sobre el crecimiento de la cebolla

En investigaciones realizadas en la India se ha demostrado un efecto de biofertilizantes combinados como mejoradores de los parámetros de crecimiento de la cebolla *Allium cepa* L. cv. Pusa Red usando una dosis de bacterias disolventes de fósforo (25 %) + *Rhizobium* (25 %) + *Trichoderma* (50 %) por el incremento del número de hojas, diámetro del bulbo, diámetro del cuello del bulbo, peso fresco del bulbo, y sólidos solubles totales a los 90 ddt; mientras que el rendimiento de bulbos fue incrementado satisfactoriamente por la aplicación de *Trichoderma* (25 %) + vermicompost (25 %) + Neem cake (50 %) alcanzando un total de 46,67 t ha⁻¹ (Kumar et al., 2019). En la variedad Arka Kalyan también se ha determinado un efecto positivo de *Azospirillum* + micorrizas en combinación con una dosis de fertilizante inorgánico NPK N₁₂₀P₆₀K₈₀ consiguiendo incrementos significativos en el número de hojas, diámetro del bulbo, espesor del cuello, peso fresco hojas, peso fresco bulbos, peso seco bulbos, peso seco total por planta, mayor relación beneficio:costo, y mayor rendimiento de bulbos (46,76 t ha⁻¹) en 22 % sobre el tratamiento no biofertilizado (Singh et al., 2017).

Con respecto a las variables de crecimiento, en la investigación realizada por Dingre y Pawar (2020) también en la India en cebolla (variedad 'N-2-4-1') y aplicando un estrés hídrico del 60 % durante la fase de desarrollo del cultivo y 20 % en las demás fases se encontró una reducción en variables como el diámetro del bulbo, peso seco del bulbo, y el rendimiento (31,1 t ha⁻¹), aunque este último parámetro no varió significativamente con respecto al tratamiento sin estrés hídrico (35,5 t ha⁻¹), y de acuerdo con esta investigación, es clave la fase del cultivo en la cual se aplique el estrés hídrico severo para no tener pérdidas significativas en el rendimiento y conseguir ahorrar agua de forma importante como se consiguió en este mismo experimento de campo (Blanco et al., 2021a). Las variables diámetro, peso fresco del bulbo y número de hojas y EUA de riego en el tratamiento control de producción, fueron ligeramente superiores a las mostradas por Rao et al. (2019), en una investigación donde se determinó el uso de riego por goteo como el más efectivo para cebolla. Vale destacar que a pesar de conseguir en la presente investigación valores superiores en estas variables mostradas por Rao et al. (2019), no ocurrió lo mismo con el rendimiento de 45,25 t ha⁻¹ mostrados por ellos, puesto que estos autores dejaron madurar los bulbos entre 10 y 12 días antes de la cosecha, algo que no fue posible en la presente investigación por las condiciones de precipitación atípica al comienzo de esta fase del cultivo (Blanco et al., 2021a); en este sentido se ha observado que el bulbo de la cebolla sigue creciendo después de que la hoja se dobla y es económicamente redituable esperar hasta los 15 días para iniciar la recolección del bulbo debido a que el diámetro y peso de la cebolla siguen aumentando después de que la hoja se ha doblado, por lo que se debe procurar que durante el periodo de doblado de la hoja, esta mantenga su coloración verde lo más completo posible, mediante el control de enfermedades como el mildiú (López et al., 2017).

Además, con el uso del consorcio *Azotobacter* sp. + *Sphingobacterium* sp.+ *Burkholderia* sp. + 75 % fertilizante NPK en cebolla cultivar “Punjab Naroya” se consiguió mejorar variables de crecimiento como la altura de la planta, número de hojas, rendimiento de bulbos, peso y diámetro del bulbo, otros aspectos fisiológicos como el contenido de ácido ascórbico, sólidos solubles totales, ácido pirúvico y materia seca, y aspectos de la producción como menor pérdida de peso de bulbos en almacenamiento a temperatura ambiente (Tinna et al., 2020). Igualmente en la cebolla se ha evaluado el efecto de microorganismos eficientes sobre variables de crecimiento en los cultivares Dorata di Bologna, Lunga di Firenze, Bianca Musona, y Rossa di Tropea mostrando un aumento significativo en el diámetro, peso y longitud de bulbos y peso de la raíz en las plantas tratadas con respecto a las no tratadas (Prisa, 2019). El efecto positivo del inóculo CM sobre el rendimiento del cultivo en condiciones de RN con el tratamiento 50 % NPK, se relacionó con los mayores valores obtenidos en la tasa de asimilación de CO₂ en los tratamientos inoculados (Capítulo 4) y al contenido de N foliar a los 35 ddt similar al tratamiento control de producción, ya que esto influyó en la incorporación de biomasa a la planta y se reflejó en el peso seco del bulbo y el peso seco total de la planta a los 69 ddt con respecto al tratamiento control de producción no inoculado. Con respecto a la incorporación de biomasa en la planta, otros investigadores encontraron que con la inoculación con biopelículas fúngicas-bacterianas y fúngicas-rizobianas con el 50% de la fertilización química recomendada en arroz, se incrementó el peso seco de raíz y de tallo con relación al tratamiento inoculado con el 100% de fertilizantes recomendados, y con relación al tratamiento no inoculado con el 100% del fertilizantes (Seneviratne et al., 2009).

En lo concerniente al rendimiento, Colo et al. (2014) encontraron un incremento entre 26,48 % y 97,33 % en el rendimiento de cebolla inoculada con *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, y *Azotobacter chroococcum* con respecto al tratamiento no inoculado. Es decir, las RPCV incrementan *per se* cerca del doble del rendimiento sin el uso de fertilizantes; como se infiere que ocurrió en el tratamiento 0 % NPK + CM en la presente investigación, por lo que no fue necesario establecer un tratamiento vegetal como control absoluto no inoculado para observar este efecto. En la presente investigación se resalta que los rizobios también pueden ser usados como RPCV en la producción de cebolla. Se ha reportado que el uso de *Rhizobium* cepa RP023 como único inoculante + *Vicia faba* var. major Harz. en un suelo previo al cultivo de cebolla produce un mayor rendimiento de hojas en cebolla, incluso por encima de la simbiosis tripartita *Rhizobium*-leguminosa-micorriza, por lo que se recomienda la rotación de cultivos con la hortaliza mencionada (Dubova et al., 2017).

La materia seca en raíces es un indicador de la capacidad de la planta para absorber nutrientes (Angulo et al., 2020). Sin embargo, esto no es el único indicativo de que las plantas poseen mayor capacidad de absorción, sino que se debe tomar en cuenta la acción de las fitohormonas como el AIA, puesto que este se considera como un factor importante en la

estimulación del crecimiento o proliferación de las raíces para mejorar la absorción de agua y nutrientes en condiciones de estrés hídrico como se ha observado en varias especies vegetales con la inoculación de bacterias capaces de producir este compuesto (Dimka et al., 2009). Al parecer, el AIA debilita las paredes celulares de las plantas por lo que se facilita la exudación radicular que proporcionan nutrientes adicionales para el crecimiento de las RPCV (Glick, 2012). No obstante, en la presente investigación, a pesar de que el CM es productor de AIA (Blanco y Castro, 2021) no se observó el incremento de la raíz de cebolla como respuesta ante el déficit hídrico, sino que el cierre estomático mostrado por esta especie vegetal (ver capítulo 4) fue suficiente para tolerar el estrés hídrico.

Por otro lado, el patrón de distribución de asimilados varió ligeramente con el presentado por Casierra y Vargas (2015) para cebolla (híbrido Yellow Granex) en condiciones del trópico alto, en el sentido que al final del cultivo observaron una menor asignación de masa seca hacia los bulbos (alrededor de 70 %), y una mayor asignación hacia las hojas (alrededor de 30 %), en comparación con la presente investigación. Como el rendimiento de un cultivo está determinado por su capacidad de acumular biomasa en los órganos de cosecha (Casierra y Vargas, 2015), se puede deducir que esta asignación pudiera variar entre las variedades, cultivares e híbridos de cebolla, siendo los más productivos aquellos que designen una mayor cantidad de asimilados hacia sus bulbos con respecto a las hojas.

Efectos del biofertilizante sobre las tasas de crecimiento y variables asociadas al área foliar

El área foliar obtenida a los 35 ddt en la presente investigación para los tratamientos con mayor rendimiento (entre 494 cm² y 555 cm²) es similar al área reportada por Abou Khadrah et al. (2017) para cebollas del cultivar Giza Red (entre 544 cm² a 669,5 cm² a una densidad de siembra similar a la nuestra 30-45 plantas m⁻²) a los 90 ddt (equivalentes a unos 53 ddt aproximadamente en el presente ensayo de acuerdo al ciclo de crecimiento que tardó la cebolla evaluada (Blanco et al., 2021a; Capítulo 3), lo que indica que estas plantas se encontraban en un buen desarrollo morfológico y fisiológico para su tiempo de crecimiento, que se reflejó luego en el rendimiento alcanzado en estos mismos tratamientos. En este sentido, se puede indicar que, a pesar del déficit nutricional al que estuvieron sometidas las plantas en campo, gracias al efecto del CM esto no afectó la variable área foliar, pues se ha descrito que la deficiencia de N y P reducen el área foliar y esto posteriormente incide en tasas fotosintéticas más bajas (Singh et al., 2018).

El IAF alcanzado a los 35 ddt por los mejores tratamientos (50 % NPK + CM en RN, y 100 % no inoculado en ambas condiciones de riego fue similar al mostrado por Tei et al. (1996) en la misma fase de crecimiento para cebolla cv. Hysam (entre 1,5 m²/m² y 2,5 m²/m²);

mientras que los valores de AFE fueron ligeramente superiores a los mostrados por estos mismos investigadores (entre 10-15 m² kg⁻¹).

Kutty et al. (2014), mencionan que los genotipos de cebolla difieren en el área foliar en condiciones de estrés hídrico, siendo más tolerantes al estrés aquellos genotipos que mantienen una alta área foliar a pesar del déficit de agua, que permiten mantener una alta tasa fotosintética y una alta cosecha de bulbos. Una reciente investigación en la India mostró el efecto del estrés hídrico en varios grados de severidad (entre 0,80 y 0,20 de déficit hídrico) sobre varios cultivares de cebolla resultando como más tolerantes los cultivares de cebolla morada Local, y los de cebolla blanca Bhima Shubra, Bhima Sweta y Bhima Safed, asociado esto a un mayor contenido relativo de agua en las hojas, mantener temperaturas más bajas en el follaje y posiblemente modular la apertura estomática (Wakchaure et al., 2021). En este sentido es importante identificar las variedades o cultivares que al igual que el híbrido empleado en la presente investigación muestren tolerancia ante el estrés hídrico y produzcan un ahorro importante de agua y un rendimiento comercialmente aceptable.

Más aún, se ha demostrado que el área foliar de la cebolla disminuye con un leve déficit de agua, por lo que se considera a esta variable como muy sensible en comparación a otras variables de crecimiento (Caldwell et al., 2003). Así, el crecimiento del área foliar de las plantas de cebolla cesa al inicio de la bulbificación, justo cuando el cultivo alcanza su índice de área foliar (IAF) máximo. Desde el inicio de la bulbificación hasta la maduración del bulbo se reduce progresivamente el IAF. Se considera que el valor del IAF al inicio de la bulbificación es una de las variables con mayor efecto sobre el rendimiento final del cultivo y esta variable es altamente dependiente de la temperatura, el suministro de agua y de nutrientes en la etapa de desarrollo y crecimiento de las hojas, y también depende de la duración de este periodo (Dogliotti et al., 2011; Casierra y Vargas, 2015). Por ello, el IAF alcanzado en el tratamiento 50 % NPK + CM en condición RN y por el tratamiento 100 % No inoculado en condición DH fueron cruciales para obtener el rendimiento alcanzado en ambos similar al control de producción, incluso tendiendo a ser mayor que este.

Como el AFE es el cociente entre el área media de las hojas y el peso de las hojas, es decir, una medida del espesor de estos órganos, se puede inferir parcialmente el comportamiento del uso de fotoasimilados en las hojas, si se están acumulando en ellas o si están siendo redistribuidos a los órganos vertedero (Casierra y Vargas, 2015). Por ejemplo, en la presente investigación esto se observó en los tratamientos 50 % NPK + CM en condición RN y 100 % No inoculado en condición DH, donde el AFE, a pesar de no haber mostrado diferencias significativas entre los tratamientos, se observaron las mayores AFE en estos tratamientos (Figura 3b), de modo que, se deduce fue en estos tratamientos sometidos a déficit nutricional e hídrico respectivamente, donde los fotoasimilados migraron preferiblemente

hacia los bulbos en vez de destinarse a construir biomasa foliar o radical, tal como se notó en el rendimiento obtenido similar al control de producción.

Estudios sobre el efecto de la programación de riego por goteo sobre el crecimiento de cebolla (cv. Telagi Red) mostraron que la mayor frecuencia de riego entre 1 y 2 días promovió el aumento de variables como altura de la planta, número de hojas, área foliar, IAF, diámetro del cuello del bulbo en comparación al intervalo de cada tres días (Bagali et al., 2012), al igual que se encontró en la presente investigación entre el RN (frecuencia diaria) y DH (frecuencia cada tres días) en los parámetros número de hojas y diámetro del cuello del bulbo; no obstante, los datos disponibles hasta los 35 ddt referentes al área foliar e índice del área foliar indicaron que la menor frecuencia de riego o DH en condiciones no limitantes de nutrientes (tratamiento 100 % NPK + CM, y tratamiento 100 % NPK no inoculado) tendieron a superar los valores de estas variables en comparación a la frecuencia de riego diaria o RN, y por ello, se considera que las variables foliares están muy relacionadas con el rendimiento final, tal como se mencionó anteriormente.

La TCA de cebolla típicamente presenta un aumento desde el trasplante hasta el intervalo 130-150 dds, y luego desciende hasta la cosecha (Casierra y Vargas, 2015). Esto se presenta en una curva de TCA para muchas plantas, y a pesar de que en la presente investigación no se realizó una curva sino dos medidas puntuales de crecimiento absoluto, este aumento se observó a los 35 ddt, producto de las dos fertilizaciones realizadas en el intervalo T_0 - T_1 , que mostraron la captura de estos fertilizantes por las plantas como lo mencionan Casierra y Vargas (2015), y se observó un crecimiento mayor en los tratamientos con la fertilización completa 100 % NPK no inoculados en comparación con los demás tratamientos inoculados con las dosis 0 %, 50 %, y 100 % NPK + CM (Figura 2), mientras que en el intervalo T_1 - T_2 a los 69 ddt fue el tratamiento 50 % NPK + CM en condición RN el que tendió a ser superior, mostrando así un mayor aprovechamiento de los fertilizantes aplicados durante esta fase a pesar de ser menor la dosis aplicada, pero se debe tomar en cuenta la acción del CM sobre la dinámica de los nutrientes en el suelo y su disponibilidad para el cultivo, que logró superar la TCA del tratamiento control de producción.

Tal como lo mencionan Casierra y Vargas (2015), el rendimiento del cultivo de cebolla depende de la tasa de crecimiento del bulbo durante el periodo de bulbificación y de la duración de la planta en este tiempo. Conforme con esta información, la TCR del bulbo fue mayor durante el periodo de bulbificación a los 35 ddt (Figuras 5a y 5b) para los tratamientos fertilizados con 100 % NPK y 50 % NPK, de allí la diferencia esperada en el rendimiento con respecto al tratamiento con 0 % NPK con una menor TCR. El valor máximo de la TCR tiene lugar después de que las plantas han restablecido su sistema radical y han desarrollado el crecimiento de su área foliar (Casierra y Vargas (2015), es decir, en el presente estudio correspondió a los 35 ddt donde se obtuvieron los mayores valores de TCR superando los 100

$\text{mg mg}^{-1}\text{d}^{-1}$ para el mayor valor, en comparación con la TCR a los 69 ddt cuyo valor máximo fue $50 \text{ mg mg}^{-1}\text{d}^{-1}$ (Figura 9). En lo referente a la TCR total, lo observado en el tratamiento 100 % NPK no inoculado en condición DH (Figura 9) el cual, a los 69 ddt obtuvo el menor crecimiento coincide con lo observado por Álvarez-Herrera et al. (2017) quienes encontraron que en condiciones de estrés hídrico (ETc 0,8) las plantas de cebolla de la variedad Yellow Granex alcanzan la senescencia más rápido que las plantas que no están sometidas a la carencia de agua durante el ciclo, sugiriendo la producción de ABA por efecto del estrés abiótico sometido el cual induce la senescencia.

Efecto del biofertilizante sobre la acumulación de N

En la investigación de Singh et al., 2017 se destacó que diferentes niveles de fertilidad influyen sobre el comportamiento de los biofertilizantes y viceversa, como de forma similar fue demostrado por Angulo et al. (2020) en el cultivo de lechuga, quienes además obtuvieron resultados consecuentes con la presente investigación, aunque en condiciones de invernadero y utilizando un inóculo microbiano compuesto por más bacterias (*Acidovorax facilis*, *Bacillus licheniformis*, *B. subtilis*, *B. oleronius*, *B. marinus*, *B. megatherium* y *Rhodococcus rhodochorus*) en el contenido de N foliar, mostrando un contenido similar de este elemento entre los tratamientos 50 % NPK + inóculo y 100 % NPK No inoculado, y un mayor contenido de N en el tratamiento 100 % NPK + inóculo, esto asociado a una mayor mineralización de la urea por el inoculante microbiano.

Vale la pena destacar que el contenido de N foliar alcanzado con el tratamiento 100 % NPK + CM no inoculado en ambas condiciones de riego y con el tratamiento 50 % NPK + CM en condición RN (Tabla 6), fue óptimo para cebolla en la fase media del cultivo (correspondiente a los 35 ddt en el presente trabajo) bajo condición de fertilización ideal de acuerdo con lo reportado por el IFA (1992). Esto fue especialmente notable con los tratamientos 50 % NPK + CM y 100 % NPK + CM en condición RN (3,03 % y 3,06 % N foliar, respectivamente). Igualmente el contenido de nitrógeno foliar a los 35 ddt con la dosis 50 % NPK y 100 % NPK tanto inoculado y no inoculado se encontró dentro del rango reportado por Bosch Serra y Domingo Olivé (1999) entre 4,1 % - 2,5 % N en cebolla cultivar Valenciana de Grano (una cebolla de día largo en España) y con una densidad de 40 plantas ha^{-1} considerada como la más apropiada bajo un manejo cuidadoso del nitrógeno con 266 kg N ha^{-1} para maximizar el rendimiento del bulbo en calidad y cantidad, siendo esta densidad y dosis levemente superiores a las empleadas de 35,7 plantas ha^{-1} ; 247 kg N ha^{-1} , respectivamente en la presente investigación. Mientras que, las concentraciones promedio de 1,41 % de N foliar mostradas para el tratamiento control de producción son mayores a las determinadas por Wheeler et al. (2004) en fase de bulbificación para la cebolla cv. Hysam en condiciones normales de CO_2 y sin estrés hídrico, pero con una fertilización NPK menor a la

empleada en la presente investigación ($100 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$, $200 \text{ kg ha}^{-1} \text{ P}_2\text{O}_5$ y $60 \text{ kg ha}^{-1} \text{ K}_2\text{O}$). Por consiguiente, se considera como adecuada la dosis de N utilizada en el presente estudio para alcanzar un rendimiento máximo en cebolla en las condiciones de nuestro país, y que empleando los microorganismos del CM aplicado se puede reducir a la mitad la cantidad de fertilizante NPK, generando un beneficio tanto ambiental como económico a nivel de producción. Los valores de extracción total de N (hojas + bulbos) con los tratamientos 50 % y 100 % NPK inoculados y no inoculados concuerdan con los reportados para cebolla (variedad Supra) por Przygocka-Cyna et al. (2020) al momento de la cosecha quienes también determinaron que la extracción de N puede aún ser mayor con la adición de azufre (30 y 60 kg S ha^{-1}), lo que muestra una relación sinérgica entre ambos elementos que debe ser considerado en los planes de fertilización de este cultivo para reducir la tasa de N aplicado.

El efecto del CM sobre una mayor asimilación de N se asocia a la actividad nitrato reductasa y la actividad ureasa que presentan estos microorganismos (Blanco et al., 2021b). Este efecto también puede estar asociado con la mayor actividad fotosintética en plántulas como se observó en el capítulo 2 (Blanco et al., 2021b), y en plantas como se observó en el capítulo 4.

Además, en condiciones de estrés hídrico se ha reportado que muchas RPCV producen la ACC deaminasa la cual regula el incremento de etileno especialmente generado en condiciones de estrés hídrico y a que esta enzima incrementa la disponibilidad de nitrógeno en la rizósfera por la producción de α -ketobutirato y amonio al degradar el ACC precursor del etileno mejorando así la nutrición vegetal (Dimka et al., 2009; Esquivel-Cote et al., 2013; Glick, 2015). Esto podría explicar el mayor contenido de N en bulbos encontrado en el tratamiento 50 % NPK + CM en condición DH, pues, a pesar de no tener la certeza de que los microorganismos utilizados en el CM presenten este mecanismo de promoción de crecimiento se sugiere que posiblemente lo presenten. La dosis moderada de fertilizante 50 % NPK no causó inhibición del metabolismo microbiano como se observó en el capítulo 5, permitiendo de esta forma que se expresara este posible mecanismo de promoción de crecimiento. En este sentido, en investigaciones recientes se ha determinado que la cepa silvestre SUTN9-2, y las cepas mejoradas genéticamente SUTN9-2 (ACCDadap) y SUTN9-2:pMG103::acdRS del género *Bradyrhizobium* presentan este mecanismo que permitió aminorar los efectos adversos del estrés hídrico en arroz mejorando la biosíntesis de etileno y evitando la reducción de clorofila en comparación con plantas no inoculadas en condiciones de campo (Sarapat et al., 2020). Igualmente, en condiciones no limitantes de agua estas cepas incrementaron el peso fresco y seco de tallo y raíces con respecto a las plantas no inoculadas (Sarapat et al., 2020). Asimismo se ha evaluado el efecto de la co-inoculación *Rhizobium phaseoli* + *Pseudomonas fluorescens* ACC deaminasa positivas sobre frijol en condiciones de estrés salino, encontrando una mejoría en el contenido relativo de agua, la tasa de asimilación de CO_2 , la eficiencia del uso del agua y la clorofila, e incremento del contenido de N, P y proteínas en el grano (Ahmad et al., 2013). De igual manera, como consecuencia de una menor generación de etileno, las

plantas que están asociadas a RPCV ACC deaminasa positiva muestran raíces y brotes más largos, menor abscisión foliar, incremento de biomasa, clorofila y proteína (Glick, 2015).

De acuerdo a lo encontrado en otros estudios, el N es un elemento fundamental para el rendimiento de la cebolla, especialmente en regiones semiáridas, pues conforme se reduce la dosis de fertilizante nitrogenado a partir de 100 % del requerido se reduce el rendimiento partiendo de una pérdida significativa del rendimiento del 13,6 % entre la dosis 100 % N y 75 % N (Piri y Naserin, 2020). De hecho, Piri y Naserin (2020) propusieron que el rendimiento podría incrementarse en zonas semiáridas utilizando una dosis mayor a 120 kg N ha⁻¹ tomando en cuenta la poca profundidad y escasez de raíces de la cebolla. En este sentido, estos investigadores también mostraron que el grosor del cuello (un índice de la capacidad de almacenamiento de la cebolla) disminuía conforme aumentaba la dosis de N, y que la eficiencia del uso del agua de riego (EUA) también fue mayor con la dosis 100 % N. Esto permite corroborar que efectivamente el tratamiento 50 % NPK + CM en condiciones no limitantes de agua permitió una disponibilidad de N adecuada para no disminuir el rendimiento gracias al efecto de los microorganismos aplicados, mientras que, si existen condiciones de estrés hídrico no puede reducirse la dosis 100 % NPK No inoculado si no se quiere tener una pérdida significativa en el rendimiento del cultivo y conseguir así una mayor EUA como fue determinado por Blanco et al. (2021a) en este mismo experimento de campo.

Efecto del biofertilizante sobre la EUN

En cebolla (cultivar Giza red) se ha determinado que la inoculación con *A. chroococcum* y *A. brasilense* logró incrementar la disponibilidad de P y K en el suelo y se alcanzó un rendimiento similar al encontrado en la presente investigación, sugiriendo la sustitución parcial de fertilización química para el cultivo (Mahmoud et al., 2015). Adicionalmente se ha reportado que el uso de consorcios microbianos compuestos por *Thiobacillus thiooxidans* + *T. ferrooxidans* + *Desulfovibrio vulgaris* en combinación con el del 50 % de la dosis de fertilizante nitrogenado en el cultivo de maíz puede incrementar significativamente la biodisponibilidad de macronutrientes (N, P, K) y micronutrientes (Zn, Cu, Mn, Fe) tanto en el suelo como en las plantas por encima de la dosis completa del fertilizante sin inoculantes gracias a los mecanismos de promoción de crecimiento propios de las RPCV (Haider et al., 2020), lo que al igual que en la presente investigación demuestra una mayor eficiencia en el uso de nutrientes por los biofertilizantes aplicados. Al evaluar el efecto combinado de bacterias disolventes de fósforo (*Enterobacter* sp. y *Bacillus subtilis*) y hongos micorrízicos arbusculares en *A. cepa* cultivada en un suelo con bajo contenido de P y con roca fosfórica añadida, se encontraron niveles de N y P endógenos en tejidos vegetales significativamente más altos que las plantas no inoculadas (Toro et al., 1997). Por su parte Creus et al. (2004), indicaron que la inoculación con *Azospirillum brasiliense* en trigo incrementó el contenido de Ca, Mg y K en el grano y el rendimiento, tanto en condiciones de estrés hídrico como riego completo. Agregando a lo anterior, Wang et al. (2020) aislaron una

cepa de *Rhizobium* sp. (K13) con la mayor capacidad para disolver K dentro de los aislados obtenidos y en combinación con otras cepas de *Bacillus* sp. + *A. chroococcum* + *Agrobacterium tumefaciens* + *Klebsiella* sp. incrementó el contenido de N, P y K en plantas de trigo en condiciones de fertilización reducida al 75 % NPK. Esto permite pensar que los microorganismos usados en el consorcio empleado en esta investigación, además de disolver P (Blanco y Castro, 2021) podrían disolver K e incrementar también el contenido de P y K en las plantas, lo que serían variables a determinar posteriormente.

En general, el índice de cosecha alcanzado en el presente estudio de 82 % fue similar al mostrado en otras investigaciones con 82 % para la cebolla cultivar Hysam y 81,3 % para la cebolla cultivar Sito (Daymond et al., 1997) y superior al alcanzado en otras investigaciones que muestran un IC de 73 % en promedio para la cebolla variedad N-53 (Hidangmayum y Sharma, 2017). Con respecto a esta variable en otros estudios se ha mostrado que el índice de cosecha no varía entre los tratamientos cuando se aplican diferentes dosis de N en ajo (Cárdenas Velázquez et al., 2019) al igual que en el presente estudio; ni varía cuando se aplica la misma cantidad de N base entre distintos tratamientos en el cultivo de papa (Machado, 2005). En consecuencia, se sugiere que esta variable no es un parámetro sensible para determinar diferencias entre tratamientos basados en la dosis de nutrientes. Sin embargo, esta variable sí es afectada en condiciones elevadas de CO₂ (532 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ CO₂), incrementando el IC hasta en 6,9 % más que el IC en condiciones normales de CO₂ (374 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ CO₂) Daymond et al. (1997).

En la EUN, el FPP es una expresión simple de eficiencia de producción que indica las unidades de rendimiento del cultivo por unidad de nutriente aplicado, que, a escala global o regional es el índice más fácil de calcular, pero varía entre cada sistema de cultivo porque se basa en los rendimientos de materia fresca (Dobermann, 2007; Fixen et al., 2015). El problema del uso de nutrientes radica en que un menor uso de fertilizantes conduce a un bajo rendimiento y un mayor uso de fertilizantes conduce a la contaminación del suelo, el agua y el medio ambiente (Singh et al., 2018). Por lo tanto, es necesario conseguir un equilibrio para obtener el máximo rendimiento con tasas menores de fertilización. De acuerdo con Chapin et al. (2002), la EUN es mayor donde la producción es limitada por los nutrientes, o en otras palabras, la proporción biomasa:nutrientes es más alta en sitios improductivos, lo que sugiere que las plantas son más eficientes en producir biomasa por unidad de nutrientes cuando los nutrientes escasean. En consonancia con los patrones observados por Chapin et al. (2002), en la presente investigación la mayor EUN_N fue alcanzada en el tratamiento con déficit nutricional 50 % NPK + CM, en ambas condiciones de riego. En este punto es importante enfatizar que para maximizar la EUN debe tenerse en cuenta la mayor sincronización entre la demanda del cultivo y el suministro de nutrientes para mejorar esta eficiencia, así como el uso del agua minimizando las pérdidas especialmente del N en el sistema de producción suelo-cultivo (Singh et al., 2018). Para esto, se debe hacer una aplicación juiciosa de fertilizantes

que comprendan el momento, cantidad y lugar adecuado que apunten a altos rendimientos y EUN para el beneficio de los agricultores, la sociedad y el medio ambiente (Singh et al., 2018). También se recomienda como práctica efectiva para incrementar la EUN realizar fraccionamiento en las aplicaciones de nutrientes durante el ciclo de crecimiento en lugar de una sola aplicación de todos los nutrientes antes de la siembra, así como el uso de fertilizantes de mayor eficiencia como productos nitrogenados recubiertos que impiden la liberación inmediata, y fertilizantes nitrogenados estabilizados o tratados con inhibidores de ureasa o nitrificación (Stewart, 2007). De la presente investigación se despliega que el uso de biofertilizantes ayuda a maximizar la EUN, siempre y cuando se apliquen en dosis moderadas, pues como se observó también, al aplicarlo junto a una dosis completa de fertilizantes químicos más bien se torna tóxico para las plantas y para los microorganismos del suelo (ver capítulo 5), al mismo tiempo que disminuye la EUN. Asimismo, el uso de RPCV es considerado como un medio de biofortificación de cultivos (aumento de la concentración de micronutrientes biodisponibles en tejidos de cultivos comestibles) como una estrategia de agricultura moderna, permitiendo el acceso a alimentos de mayor calidad nutricional a más personas, con el uso de menor cantidad de recursos (Riaz et al., 2020).

CONCLUSIONES

El consorcio microbiano con la mitad de la dosis del fertilizante NPK en condiciones no limitantes de agua, y el tratamiento no inoculado con la dosis óptima de fertilizante en condiciones de déficit hídrico mostraron los mejores efectos sobre el crecimiento de la cebolla, tendiendo a incrementar sobre el control de producción las variables área foliar, índice de área foliar, peso fresco de hojas, peso seco de raíz y bulbos, y N foliar en la etapa media del cultivo, y diámetro del bulbo, el peso fresco y seco de bulbos al final del cultivo. En condiciones de estrés hídrico y fertilización moderada, el consorcio microbiano incrementó el contenido de N en bulbos, y con esto su calidad nutricional a la vez de ahorrar agua y fertilizantes, aunque con un costo de pérdida en el rendimiento. La condición de estrés hídrico redujo el número de hojas en todos los tratamientos, y de acuerdo con la dinámica de las tasas de crecimiento también indujo una maduración más rápida de las plantas. Asimismo se observó que el déficit nutricional sin la aplicación de fertilizantes en condiciones no limitantes de agua retrasó la maduración de la cebolla de acuerdo a las tasas de crecimiento analizadas y a una mayor asignación de biomasa a las raíces observada en la etapa media del cultivo. La eficiencia en el uso de nutrientes fue superior en los tratamientos con dosis moderada de fertilizantes en combinación con el consorcio microbiano en ambas condiciones de riego normal, mientras que un exceso de disponibilidad de nutrientes con dosis completa de fertilizante NPK en combinación con el consorcio microbiano disminuyeron la eficiencia del uso de nutrientes, y no incrementaron el rendimiento. El rendimiento alcanzado no varió entre el control de producción y los tratamientos con la mitad de la dosis de fertilizante en combinación con el inoculante sin déficit hídrico, y el tratamiento con la dosis óptima no

inoculado en condición de déficit hídrico. En general las variables vinculadas al área foliar y al contenido de N se asociaron con el rendimiento obtenido. De esta forma, se propone el consorcio microbiano utilizado como una alternativa agroecológica para maximizar la EUN y la calidad nutricional de la cebolla en combinación con dosis moderada del fertilizante inorgánico; y en ausencia del consorcio se recomienda la dosis óptima de fertilizante bajo régimen de déficit hídrico para conseguir un rendimiento similar al comercial en lugares donde la disponibilidad de agua sea escasa.

REFERENCIAS

- Abou Khadrah, S.H., El-Sayed, A.A., Geries, L.S.M., Abdelmasieh, W.K.L., 2017. Egypt. J. Agron. 39(2): 203-219.
- Ahmad, M., Zahir, Z.A., Khalid, M., Nazli, F., Arshad, M., 2013. Efficacy of *Rhizobium* and *Pseudomonas* strains to improve physiology, balance and quality of mung bean under salt-affected conditions on farmer's fields. Plant Physiol. Biochem. 63: 170-176. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.11.024>.
- Álvarez-Herrera, J.G., Alvarado-Sanabria, O.H., Suesca-Ochoa, F.A., 2017. Efecto de diferentes láminas de riego en el crecimiento y desarrollo de cebolla de bulbo (*Allium cepa* L.). Rev. Colomb. Cienc. Hortic. 11(2): 359-367. <http://dx.doi.org/10.17584/rcch.2017v11i2.7345>.
- Angulo, J., Martínez-Salgado, M.M., Ortega-Blu, R., Fincheira, P., 2020. Combined effects of chemical fertilization and microbial inoculant on nutrient use efficiency and soil quality indicators. Scientia Agropecuaria 11(3): 375-380. DOI: 10.17268/sci.agropecu.2020.03.09.
- Ataroff, M., Sarmiento, L., 2004. Las unidades ecológicas de Los Andes de Venezuela. In: La Marca, E., Soriano, P. (Eds), Reptiles de Los Andes de Venezuela. Fundación Polar, Codepre-ULA, Fundacite-Mérida, BIOGEOS, Mérida, Venezuela, pp. 11-26.
- Bagali, A.N., Patil, H.B., Guled, M.B., Patil, R.V., 2012. Effect of scheduling of drip irrigation on growth, yield and water use efficiency of onion (*Allium cepa* L.) Karnataka J. Agric. Sci. 25 (1): 116-119.
- Barrera, J., Suárez, D., Melgarejo, L.M., 2010. Análisis de crecimiento en plantas. In: Melgarejo, L.M. (ed), Experiments in plant Physiology, 5th edition. Pag. 25-38. Universidad Nacional de Colombia, Colombia.
- Blanco, E.L., Rada, F., Paolini, J., Guerrero, J.A., 2021a. Effects of induced water deficit and biofertilization on growth dynamics and bulb yield of onion (*Allium cepa* L.) in a neotropical semi-arid environment. Can. J. Soil. Sci. 101(3): 494-506. doi: 10.1139/CJSS-2021-0011.
- Blanco, E.L., Rada, F., Castro, Y., Paolini, J., 2021b. Selección de un consorcio microbiano promotor del crecimiento de plántulas de cebolla en condiciones de umbráculo [Selection of a growth promoter microbial consortium in onion seedlings under shade-house conditions]. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 38(2): 301-321.

- Blanco, E.L., Castro, Y., 2021. Antagonismo de rizobacterias sobre hongos fitopatógenos, y su actividad microbiana con potencial biofertilizante, bioestimulante y biocontrolador. Rev. Col. Biotecnol. 23(1): 6-16. DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v23n1.84808.
- Bosch Serra, A.D., Domingo Olivé, F., 1999. Ecophysiological aspects of nitrogen management in drip irrigated onion (*Allium cepa* L.). Acta Hort. 506: 135-140. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1999.506.18>.
- Caldwell, T.J., Lada, R., Hooper, D., 2003. Physiological responses of onion (*Allium cepa* L.) seedlings exposed to drought. Acta Hort. 618: 321-327. DOI: 10.17660/ActaHortic.2003.618.37.
- Cárdenas Velázquez, B., Escalante Estrada, J.A.S., Rodríguez González, M.T., 2019. Biomasa, índice de cosecha, rendimiento y radiación interceptada en ajo en función del nitrógeno, en clima templado. Terra Latinoamericana 37(3): 223-230. DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v37i3.424>.
- Casierra, F., Vargas, N., 2015. Fisiología del crecimiento y la nutrición en cebolla de bulbo (*Allium cepa* L. hib. 'Yellow Granex') en condiciones tropicales. Editorial UPTC. Tunja, 156 p.
- Chapin, F.S. III, Matson, P., Mooney, H.A., 2002. Principles of terrestrial ecosystem ecology. Springer, New York, 435 p.
- Chelli-Chaaboum, A., 2014. Mechanisms and Adaptation of Plants to Environmental Stress: A case of Woody species. En: Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment. Parvaiz Ahmad y Mohd Rafiq Wani. Springer. p.p 1-18.
- Colo, J., Hajnal-Jafari, T.I., Duric, S., Stamenov, D., Hamidovic, S., 2014. Plant growth promotion rhizobacteria in onion production. Pol. J. Microbiol. 63(1): 83-88.
- Córcoles, J.I., Dominguez, A., Moreno, M.A., Ortega J.F. y de Juan, J.A., 2015. A non – destructive methods for estimating onion leaf area. Irish J. Agric. Food Res. 54(1): 17 -30.
- Creus, C.M., Sueldo, R.J., Barassi, C.A., 2004. Water relations and yield in *Azospirillum*-inoculated wheat exposed to drought in the field. Can. J. Bot. 82: 273-281. doi: 10.1139/B03-119.
- Dobermann, A., 2007. Nutrient use efficiency-measurement and management. Proc. Of International Fertilizer Industry Association (IFA) Workshop on Fertilizer Best Management Practices. Brussels, Belgium. March 7-9. 28 p.
- Dubova, L., Šenberga, A., Alsina, I., 2017. Inoculated broad beans (*Vicia faba*) as a precrop for spring onions (*Allium cepa*). Research for Rural Development 2: 33-39. DOI:10.22616/rrd.23.2017.046.
- Daymond, A.J., Wheeler, T.R., Hadley, P., Ellis, R.H., Morison, J.I.L., 1997. The growth, development and yield of onion (*Allium cepa* L.) in response to temperature and CO₂. Journal of Horticultural Science 72(1): 135-145.
- Di Benedetto, A., Tognetti, J., 2016. Técnicas de análisis de crecimiento de plantas: su aplicación a cultivos intensivos. RIA 42(3): 258-282.

- Dimkpa, C., Weinand, T., Asch, F., 2009. Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant, Cell and Environment* 32: 1682-1694. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02028.x.
- Dingre, S.K., Pawar, D.D., 2020. Response of drip irrigated onion (*Allium cepa* L.) growth, yield and water productivity under deficit irrigation schedules. *J. Nat. Res. Cons. Manag.* 1(1): 69-75.
- Dogliotti, S., Colnago, P., Galván, G., Aldabe, L., 2011. Bases fisiológicas del crecimiento y desarrollo de los principales cultivos hortícolas. Tomate (*Lycopersicum sculentum*), papa (*Solanun tuberosum*) y cebolla (*Allium cepa*). Uruguay: Facultad de Agronomía, Universidad de la República. 85 p.
- Esquivel-Cote, R., Gavilanes-Ruiz, M., Cruz-Ortega, R., Huante, P., 2013. Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC deaminasa en rizobacterias, una revisión. *Rev. Fitotec. Mex.* 36(3): 251-258.
- Fixen, P.E., Brentrup, F., Bruulsema, T., García, F., Norton, R., Zingore, S., 2015. Nutrient/fertilizer use efficiency: measurement, current situation and trends. In: Drechsel, P. et al. (eds), *Managing Water and Fertilizer for Sustainable Agricultural Intensification*. International Fertilizer Industry Association (IFA), International Water Management Institute (IWMI), International Plant Nutrition Institute (IPNI), and International Potash Institute (IPI). 30 p.
- Glick, B.R., 2012. Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. *Scientifica*. 15 p. <http://dx.doi.org/10.6064/2012/963401>.
- Glick, B.R., 2015. Stress control and ACC deaminase. In: Lugtendberg, B. (ed.), *Principles of Plant-Microbe Interactions*, Springer International Publishing Switzerland, pp. 257-264. DOI 10.1007/978-3-319-08575-3_27.
- Haider, M.I.S., Ahmad, R., Hyder, S., Mahmood, A., Khalid, A., Fatima, N., Jilani, G., 2020. Role of bacterial consortia in promoting plant growth and nutrients bioavailability. *Pak. J. Agri. Sci.* 57(5): 1211-1220. DOI: 10.21162/PAKJAS/20.8444.
- Hidangmayum, A., Sharma, R., 2017. Effect of different concentrations of commercial seaweed liquid extract of *Ascophyllum nodosum* as a plant bio stimulant on growth, yield and biochemical constituents of onion (*Allium cepa* L.). *J. Pharmacogn. Phytochem.* 6(4): 658-663.
- Hunt, R., 1982. *Plant growth curves*. Editorial Eduard Arnold. Londres. 227 p.
- IFA (International Fertilizer Association). 1992. *World fertilizer use manual*. Consultado en marzo de 2021. Disponible en: https://www.fertilizer.org/images/Library_Downloads/1992_ifa_world_fertilizer_use_manual.pdf.
- InfoStat Statistical Software. 2002. InfoStat/Profesional Versión 2.0. Estadística y Diseño-F.C.A., Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

- Kumar, A., Meena, M.L., Shivran, B.C., Pal, H., Meena, B.L., 2019. Impact of bio-fertilizer on growth, yield and quality of onion (*Allium cepa* L.) cv. Pusa Red. Plant Archives 19(1): 772-776.
- Kutty, M.S., Gowda, R.V., Rao, N.K.S., 2014. Genotypic variability for physiological, biochemical and morphological responses to drought stress in onion (*Allium cepa* L.). Trop. Agric. (Trinidad) 91(4): 202-219.
- Lambers, H., Oliveira, R.S., 2019. Plant Physiological Ecology. Third Edition. Springer. New York, USA. 736 p.
- López, G., Gastélum, S., Díaz, T., Ayala, F., madueño, J., López, C., 2017. Incremento del tamaño y peso del bulbo de cebolla (*Allium cepa* L.) por translocación de nutrientes. Rev. Mex. Cien. Agríc. 8(7): 1647-1652.
- Machado, D., 2005. Un enfoque agroecosistémico para el manejo eficiente del suministro de nitrógeno en el cultivo de papa en los Andes venezolanos. Tesis Doctoral. Postgrado en Ecología Tropical. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. 257 p.
- Maçik, M., Gryta, A., Frac, M., 2020. Biofertilizers in agriculture: An overview on concepts, strategies and effects on soil microorganisms. In: Sparks, D.L. (ed), Advances in Agronomy, volume 162, pp. 31-87. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2020.02.001>.
- Mahmoud, E., El-Gizawy, E., Geries, L., 2015. Effect of compost extract, N₂-fixing bacteria and nitrogen levels applications on soil properties and onion crop. Arch. Agron. Soil Sci. 61(2): 185-201. DOI: 10.1080/03650340.2014.928409.
- Mekonnen, H., Kibret, M., 2021. The roles of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable vegetable production in Ethiopia. Chem. Biol. Technol. Agric. 8: 15. <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00213-y>.
- Mohr, H., Schopfer, P., 1995. Plant Physiology. Springer. Berlin. 603 p.
- Mondal, S., Halder, S.K., Yadav, A.N., Mondal, K.C., 2020. Microbial consortium with multifunctional plant growth-promoting attributes: future perspective in agriculture. In: A.N. Yadav et al. (eds.), Advances in plant microbiome and sustainable agriculture, microorganisms for sustainability 20. Springer Nature Singapore Pte Ltd. pp. 219-258. https://doi.org/10.1007/978-981-15-3204-7_10.
- Montgomery, D., 1991. Diseño y análisis de experimentos. Editorial Iberoamericana. 541 p.
- Mubarak, I., Hamdan, A., 2018. Onion crop response to different irrigation and N-fertilizer levels in dry Mediterranean region Adv. Hort. Sci. 32(4): 495-501. DOI: 10.13128/ahs-21934.
- Pérez-Ortolá, M., Knox, J.W., 2014. Water relations and irrigation requirements of onion (*Allium cepa* L.): a review of yield and quality impacts. Exp. Agric. 51 (02): 2010-231. <https://doi.org/10.1017/S0014479714000234>.
- Piri, H., Naserin, A., 2020. Effect of different levels of water, applied nitrogen and irrigation methods on yield, yield components and IWUE of onion. Sci. Hortic. 268: 109361. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109361>.

- Prisa, D., 2019. Effective microorganisms for the cultivation and qualitative improvement of onion (*Allium cepa* L.). World Journal of Advance Research and Reviews 2(3): 01-07. <https://doi.org/10.30574/wjarr.2019.2.3.0038>.
- Przygocka-Cyna, K., Barłóg, P., Grzebisz, W., Spizewski, T., 2020. Onion (*Allium cepa* L.) yield and growth dynamics response to in-season patterns of nitrogen and sulfur uptake. Agronomy 10: 1146. doi:10.3390/agronomy10081146.
- Rao, KVR., Gangwar, S., Aherwar, P., Yadav, D., 2019. Growth, yield, economics and water use efficiency of onion (*Allium cepa* L.) under different micro irrigation systems. J. Pharmacogn. Phytochem. 8(3): 3866-3869.
- Riaz, U., Aziz, H., Anum, W., Mehdi, S.M., Murtaza, G., Jamil, M., 2020. Biofortification technologies used in agricultura in relation to micronutrients. In: Aftab, T., Hakeem, K.R. (eds.), Plant Micronutrients, pp. 225-239. Springer Nature Switzerland AG. https://doi.org/10.1007/978-3-030-49856-6_9.
- Rouphael, Y., Cardarelli, M., Schwarz, D., Franken, P., Colla, G., 2012. Effects of drought on nutrient uptake and assimilation in vegetable crops. In: Aroca, R. (ed.), Plant Responses to Drought Stress, pp. 171-195. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-642-32653-0_7.
- Sarapat, S., Longtonglang, A., Umnajkitikorn, K., Girdthai, T., Boonkerd, N., Tittabutr, P., Teaumroong, N., 2020. Application of rice endophytic *Bradyrhizobium* strain SUTN9-2 containing modified ACC deaminase to rice cultivation under water deficit conditions Journal of Plant Interactions 15(1): 322-334. <https://doi.org/10.1080/17429145.2020.1824028>.
- Sekara, A., Pokluda, R., Del Vaacchio, L., Somma, S., Caruso, G., 2017. Interactions among genotype, environment and agronomic practices on production and quality of storage onion (*Allium cepa* L.) – A review. Hort. Sci. (Prague) 44(1): 21-42. doi: 10.17221/92/2015-HORTSCI.
- Seneviratne, G., Thilakaratne, R.M.M.S., Jayasekara, A.P.D.A., Seneviratne, K.A.C.N., Padmathilake, K.R.E., De Silva, M.S.D.L., 2009. Developing Beneficial Microbial Biofilms on Roots of Non legumes: A Novel Biofertilizing Technique. In: M.S. Khan et al. (eds.), Microbial strategies for crop improvement, pp. 51-62. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, DOI: 10.1007/978-3-642-01979-1_3.
- Singh, V.K., Amrita Kumari, Chaudhary, V.K., y Shree, S., 2017. Role of biofertilizer and chemical fertilizer for sustainable onion (*Allium cepa* L.) production. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 6(9): 2034-2040. doi: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.609.250>.
- Singh, A., Kumar, A., Jaswal, A., Singh, M., Gaikwad, D.S., 2018. Nutrient use efficiency concept and interventions for improving nitrogen use efficiency. Plant Archives 18(1): 1015-1023.
- Statistical Graphics Corporation. 2002. Statgraphics *Plus* Versión 5.1.

- Stewart, W.M., 2007. Consideraciones en el uso eficiente de nutrientes. Informaciones Agronómicas IPNI 67: 7 p.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2010. Plant Physiology. 5th ed. Sinauer Associates Inc. USA. 755 p.
- Tei, F., Scaife, A., Aikman, D.P., 1996. Growth of lettuce, onion, and red beet. 1. Growth analysis, light interception, and radiation use efficiency. Ann. Bot. 78: 633-643.
- Tinna, D., Garg, N., Sharma, S., Pandove, G., Chawla, N., 2020. Utilization of plant growth promoting rhizobacteria as root dipping of seedlings for improving bulb yield and curtailing mineral fertilizer use in onion under field conditions. Sci. Hortic. 270: 109432. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109432>.
- Toro, M., Azcón, R., Barea, J.M., 1997. Improvement of Arbuscular Mycorrhiza Development by Inoculation of Soil with Phosphate-Solubilizing Rhizobacteria To Improve Rock Phosphate Bioavailability (32P) and Nutrient Cycling. Appl. Environ. Microbiol. 63(11): 4408-4412.
- USDA (United States Department of Agriculture), 2020. https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/survey/class/maps/?cid=nrcs142p2_053594 (consulta del 17/06/2020).
- Vachan, R., Tripathi, S.M., 2017. Study on the effect of bio-fertilizer with chemical fertilizer on plant growth, yield and economics of Rabi season onion (*Allium cepa* L.) cv. NHRDF Red 2. J. Pharmacogn. Phytochem. 6(5): 1496-1499.
- Wakchaure, G.C., Minhas, P.S., Kumar, S., Khapte, P.S., Meena, K.K., Rane, J., Pathak, H., 2021. Quantification of water stress impacts on canopy traits, yield, quality and water productivity of onion (*Allium cepa* L.) cultivars in a shallow basaltic soil of water scarce zone. Agric. Water Manag. 249: 106824. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.106824>.
- Wang, J., Li, R., Zhang, H., Wei, G., Li, Z., 2020. Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application. BMC Microbiology 20:38. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-1708-z>.
- Wheeler, T.R., A.J. Daymon, J.I.L. Morison, R.H. Ellis, y P. Hadley., 2004. Acclimation of photosynthesis to elevated CO₂ in onion (*Allium cepa*) grown at a range of temperatures. Ann. appl. Biol. 144:103-111.

CAPÍTULO 7

Discusión general y conclusiones

Desde las rizobacterias hasta la estabilidad del agroecosistema

En el comienzo de esta investigación se planteó que las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) tendrían un efecto benéfico no solamente sobre el crecimiento de las plantas, sino que se tendrían en cuenta muchos otros factores que en general no se habían estudiado simultáneamente en investigaciones anteriores mostradas en la literatura, por lo que se consideró un enfoque agroecosistémico, con la finalidad de producir pero con el menor impacto sobre el medio ambiente, y además, bajo condiciones estresantes de disponibilidad de agua y nutrientes. De acuerdo con la hipótesis planteada, se sugirió que con el uso del consorcio microbiano (CM) se podría reducir significativamente la cantidad de fertilizante NPK y alcanzar el mismo rendimiento que se obtiene de forma convencional sin el uso de microorganismos. También se consideró que el CM podría aminorar los efectos del estrés hídrico sobre el cultivo de cebolla, así como incrementar la calidad del suelo. De esta manera, en cada capítulo se trató de forma individual cada uno de estos temas, y se discutieron detalladamente cada uno de estos efectos, con la intención de presentar en este capítulo final un concepto integrado de lo que representaron los resultados desde el punto de vista agroecológico. Así, con una breve discusión de los resultados más evidentes obtenidos se desea mostrar el impacto que pueden tener los microorganismos (biofertilizantes) sobre el agroecosistema cebolla.

Los microorganismos tienen un papel fundamental en el mantenimiento de la salud de suelo debido a su acción/participación en procesos como la meteorización biológica y formación del suelo, nueva formación de minerales secundarios, desarrollo de la estructura del suelo, descomposición de materia orgánica, transformación de nutrientes a formas más disponibles, producción de antibióticos, síntesis de fitohormonas, bioremediación, tolerancia al estrés, secreción enzimática, promoción de la salud vegetal, y soporte de las redes tróficas complejas del suelo (Dash et al., 2019). Para Zamora et al. (2012), cuanto mayor diversidad funcional exista en un ecosistema, más eficiencia habrá en cuanto a propiedades como productividad, resiliencia y resistencia.

En este orden de ideas, y de acuerdo con Odum (1989) y Seybold et al. (1999), la resistencia (habilidad del ecosistema para continuar funcionando sin ningún cambio cuando ocurre un estrés por algún disturbio) y la resiliencia (capacidad del ecosistema para recuperarse después del disturbio) son los componentes de la estabilidad del ecosistema, y esta es una parte esencial de la sustentabilidad, donde los microorganismos juegan un papel crítico (Prasad et al., 2021). Los microorganismos contribuyen a la formación de un agroecosistema

estable gracias al papel que ejercen sobre la biodiversidad, los ciclos biológicos saludables y la actividad microbiana del suelo (Prasad et al., 2021).

Con el rápido crecimiento de la población mundial, la producción sostenible de alimentos para satisfacer las demandas y necesidades de la población es un tema determinante en el sector agrícola. Para ello, es fundamental el desarrollo y consolidación de nuevas alternativas agrobiotecnológicas ecológicas, sostenibles y eficientes para incrementar el rendimiento, la calidad de los cultivos y restaurar la fertilidad del suelo; y en este sentido el uso de las RPCV representan una estrategia ecológica y viable para enfrentar los desafíos de la seguridad alimentaria y el cambio climático gracias a su diversidad metabólica y genética (Díaz-Rodríguez et al., 2021).

Teniendo en cuenta esto último planteado, y con la intención de tener una visión integradora con los puntos más interesantes obtenidos en la presente tesis, se realizó un análisis de correlaciones entre las variables y de ese modo seleccionar las más significativas en cada capítulo (Anexo 1). De esta manera, esta tesis se presenta desde tres aristas principales del agroecosistema por estos ser los más influenciados a partir del manejo con y sin el biofertilizante (consorcio microbiano) como se describe a continuación:

Aspectos sobre la productividad

A nivel del desarrollo inicial del cultivo, el consorcio microbiano seleccionado logró mejorar las variables de crecimiento y la actividad fotosintética de las plántulas, convirtiéndose en una opción prometedora para la producción de plántulas de cebolla con mayor vigorosidad para ser llevadas a campo y tener mayor éxito en el trasplante.

En lo concerniente en las condiciones de campo se consiguió una mayor eficacia de los recursos e insumos externos gracias a las mejoras proporcionadas por la biotecnología aplicada. El efecto biofertilizante que causaron los microorganismos en el suelo fue fundamental en la mayor disponibilidad de nutrientes para las plantas a pesar del déficit nutricional con las dosis reducidas de NPK. En este sentido, el consorcio microbiano permitió reducir la mitad de la dosis de NPK comercial que convencionalmente se aplica en campo sin representar pérdidas en el rendimiento, lo que implicó mayor eficiencia del uso de nutrientes, que en resumen se traduce en mayor economía para el agricultor, y mayor salud tanto del ambiente como para el ser humano.

El mejoramiento de aspectos asociados con el crecimiento y la calidad nutricional del cultivo, tanto en condiciones de riego normal como en déficit hídrico, permite promover el uso del consorcio microbiano por su capacidad para aminorar los efectos adversos del estrés hídrico. Así, dependiendo del interés agrícola, aunque con una pequeña reducción en el rendimiento, este consorcio permite ofrecer un producto de mayor valor nutricional en pro del medio ambiente.

En otro orden de ideas, sin el uso de los microorganismos se consiguió un mayor rendimiento del cultivo con la aplicación de la dosis óptima de fertilizante NPK, que probablemente estimuló la sincronización de nutrientes de acuerdo al esquema utilizado. Igualmente se destaca el aumento de la eficiencia del uso del agua de riego en la condición de déficit hídrico, que fue un punto clave en el diseño del manejo aplicado, pero en el que los microorganismos no jugaron el papel principal. En cuanto a la productividad en términos generales vale la pena destacar las correlaciones encontradas entre índices de productividad como el IAF, la TCA, y el % N foliar con el rendimiento (Anexo 1), y la mayor incorporación de biomasa por el incremento de la asimilación de nutrientes. Entre estas variables, el IAF al inicio de la bulbificación se considera determinante para el rendimiento, y es altamente dependiente de la temperatura, el suministro de agua y de nutrientes en la etapa de desarrollo y crecimiento de las hojas (Dogliotti et al., 2011; Casierra y Vargas, 2015); y de acuerdo con este planteamiento, el IAF alcanzado en el tratamiento 50 % NPK + CM en condición RN y por el tratamiento 100 % No inoculado en condición DH fue decisivo para obtener el rendimiento alcanzado en ambos tratamientos similar al control de producción, incluso tendiendo a ser mayor que este (Capítulo 6).

Aspectos sobre la ecofisiología

Los microorganismos actuaron favorablemente sobre la actividad fotosintética en condiciones de riego normal que a su vez mejoró la eficiencia en el uso del agua fotosintética (EUA_f), y se reflejó en mayor contenido de N foliar y aumento en el rendimiento con menor uso de nutrientes. Mientras que, en condiciones de estrés hídrico los tratamientos inoculados con y sin fertilizantes NPK mostraron mayor transpiración, menor EUA_f y esto ocasionó pérdidas en el rendimiento. Sin embargo, existe un punto favorable en estas condiciones que fue la mayor asimilación de N en bulbos y mayor eficiencia en el uso de nutrientes (EUN) que se muestran como aspectos mejoradores de la tolerancia al estrés hídrico posiblemente por algún mecanismo propuesto como la actividad ACC deaminasa, que aunque no se comprobó, es posible que la realice el consorcio microbiano utilizado como se indicó en las referencias del capítulo 6.

Desde otro punto de vista, las relaciones hídricas del cultivo estuvieron más vinculadas con la disponibilidad de agua que con los microorganismos, y se determinó que el mecanismo que la cebolla desarrolló fue el cierre estomático para evitar pérdidas de agua sin afectar su actividad fotosintética y aumento de la EUA. También se determinó que este híbrido no realizó ajustes osmóticos, pero sí incrementó la rigidez de la pared celular mostrándose como tolerante ante la escasez de agua. Además, a pesar de no haber un resultado significativo con respecto al potencial hídrico, se destaca que esta variable correlacionó positivamente con el rendimiento (Anexo 1).

Aspectos del suelo

Indudablemente la acción de los microorganismos biofertilizantes sobre el suelo fue significativamente favorable. El consorcio microbiano incrementó la biomasa microbiana y promovió la actividad enzimática. Además se logró corroborar que la presencia de altas dosis de fertilizantes afecta negativamente a la microbiota del suelo. De tal manera, la presencia del fertilizante NPK afectó de forma negativa (inhibitoria) las actividades de enzimas como la deshidrogenasa, la fosfatasa alcalina, la ureasa y la amonificación de la arginina; aunque, y no menos interesante, se determinó que las actividades de hidrólisis del diacetato de fluoresceína y la β -glucosidasa no fueron sensibles a la fertilización inorgánica.

Asimismo, en cuanto al estado ecofisiológico de la microbiota del suelo también se determinó que en presencia del consorcio microbiano y a bajas dosis de fertilizantes se produce un menor impacto en comparación con un manejo convencional. Además, el consorcio microbiano favoreció el metabolismo de la microbiota debido a que incrementó el uso eficiente de los sustratos energéticos. Cabe resaltar que en condiciones de déficit hídrico el consorcio logró aminorar los efectos de esta condición en la comunidad microbiana ya que disminuyó el cociente ecofisiológico de eficiencia metabólica. El consorcio incrementó la fracción microbiota del suelo actuando así sobre la estructura (fracción microorganismos), también incrementó la restauración de la actividad biológica del suelo fortaleciendo así la resiliencia del suelo.

Teniendo esto en cuenta desde un enfoque más integrador se realizó un análisis de estos resultados para conocer el efecto del manejo realizado sobre la calidad del suelo a través de la estimación de índices integradores cuyo procedimiento se puede detallar en el Anexo 2. Para ello se utilizaron tres índices de calidad del suelo (ICS): el índice de alteración 3 (IA3), basado en las actividades enzimáticas β -glucosidasa, fosfatasa, ureasa (Puglisi et al., 2006; Anexo 2a); la Media Geométrica de actividad enzimática y microbiana (MG_{aem}) basado en la actividad enzimática y microbiológica del suelo (Hinojosa et al., 2004, García-Ruiz et al., 2008; Sharma et al., 2016; Anexo 2b); y el ICS por comparación del área ($ICS_{Área}$) a través del uso de gráficos de radar o estrella el cual se basa en la comparación del área de un polígono dentro del gráfico de radar producido a partir de un grupo de parámetros del suelo individuales entre suelos cultivados y un suelo control (Kuzakov et al., 2020; Anexo 2c). Estos índices biológicos integrados están basados en dos enfoques: enfoque “menos es mejor” (IA3) o el enfoque “más es mejor” (MG_{aem} e $ICS_{Área}$) para definir aquellos suelos con mayor calidad y salud de acuerdo a su menor o mayor valor calculado (Paz-Ferreiro y Fu, 2016). Los resultados de este cálculo convergen en una mayor calidad del suelo en los tratamientos con menores dosis de NPK y la presencia del consorcio microbiano, y en que esta calidad disminuye a medida que la dosis de NPK aumenta (Tabla 1). Es decir, el orden de afectación del suelo debido a los tratamientos de fertilización mejoraron la calidad del suelo como sigue: 0% NPK + CM > 50 % NPK + CM > 100% NPK + CM > 100 % NPK no inoculado tanto

para riego normal como déficit hídrico. Estos resultados son consecuentes con lo observado en otras investigaciones sobre índices de calidad del suelo (Meyer et al., 2014; Sharma et al., 2016; Kuzyakov et al., 2020).

Tabla 1. Índices de calidad del suelo para el agroecosistema de cebolla biofertilizada en condiciones de déficit hídrico y fertilización inorgánica.

	Índices de calidad del suelo		
	IA3	MG _{aem}	ICS _{Área}
Control referencial	-17,02±0,14a	27,13±1,36b	1±0,0c
RN 0% NPK + CM	-16,64±2,12ab	27,26±1,75b	1,19±0,20b
RN 50% NPK + CM	-8,93±0,57c	22,75±1,77c	0,70±0,08de
RN 100% NPK + CM	-2,68±0,37e	14,35±0,42e	0,23±0,02f
RN 100% NPK no inoculado (Control de producción)	-2,05±0,78ef	14,09±0,68e	0,28±0,03f
RN suelo no rizosférico	-16,98±0,74a	20,72±1,49cd	0,78±0,13d
DH 0 % NPK + CM	-17,83±1,30a	31,26±2,38a	1,53±0,16a
DH 50% NPK + CM	-5,96±1,61d	20,63±0,56cd	0,59±0,07e
DH 100% NPK + CM	-1,63±1,56ef	7,92±0,18f	0,18±0,03ef
DH 100% NPK no inoculado	-0,47±1,95f	4,51±1,05g	0,13±0,05f
DH suelo no rizosférico	-14,8±60,47b	20,41±0,59d	0,75±0,05de

Valores promedios (n=3) y desviación estándar (±). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de medias LSD a un nivel de confianza del 95%. Condición de riego: RN= riego normal, DH= déficit hídrico. El porcentaje representa la dosis aplicada del fertilizante NPK. CM= consorcio microbiano.

Se observó también la alta correlación de la MG_{aem} con las actividades microbiológicas y enzimáticas del suelo así como con la EUN_N en bulbos y el FPP (Anexo 1). Similar a la presente investigación, en muchos trabajos se ha reportado la correlación entre las actividades enzimáticas y la actividad microbiológica. Por ejemplo, Sharma et al. (2016) y Ebrahimi et al. (2021) reportaron la correlación altamente significativa entre las actividades enzimáticas de las hidrolasas, la deshidrogenasa, y la biomasa microbiana, por lo que se puede considerar que en el presente estudio se realizó un monitoreo adecuado de la calidad del suelo con las actividades escogidas para evaluar la actividad de los microorganismos en el agroecosistema cebolla.

Cambios relativos en las propiedades del agroecosistema

Finalmente, desde el punto de vista agroecosistémico se tomaron en cuenta variables de la productividad y ecofisiología del cultivo ya discutidas, de acuerdo a las correlaciones obtenidas más representativas y se realizó un análisis utilizando los gráficos de radar, calculando el área del polígono irregular en cada tratamiento y su posterior comparación estadística (detalles en el Anexo 3). Esta representación gráfica se consideró como los cambios relativos en algunas propiedades del agroecosistema.

En las Figuras 1 y 2 se observa que la mayor área sin duda se obtuvo con el tratamiento 50 % NPK + CM en la condición RN (Figura 1), y en la condición DH (Figura 2); ambos tratamientos tendieron a ser superiores al área del control de producción en 25 % y 14 % respectivamente, lo que implica la mejoría de las variables del agroecosistema que se consideraron, y en esos mismos porcentajes además con un ahorro importante del 50 % de la cantidad de fertilizante inorgánico aplicado sin pérdida en la producción especialmente en el tratamiento 50 % NPK + CM en la condición RN como se discutió en el capítulo 3. Por otra parte, la relación del área entre el tratamiento 100 % NPK no inoculado en la condición DH y el control de producción indicó que este tratamiento fue similar al control, apenas mostrando un 12 % menos área que el control, y como ya se discutió en el capítulo 3 un ahorro del 35 % del agua sin pérdida en la producción (Figura 2). Asimismo, se mostró una mayor afectación del agroecosistema en términos generales con el tratamiento 0 % NPK + CM en ambas condiciones de riego, debido a que mostró la reducción del área en 36 % y 17 % para la condición RN y DH respectivamente, en comparación con el control de producción, lo que implica la disminución del funcionamiento del agroecosistema, mostrando solamente una mejoría en la calidad del suelo, pero una reducción significativa del resto de variables de importancia en este sistema productivo. Igualmente, se observó una tendencia a la reducción del funcionamiento del agroecosistema con el tratamiento 100 % NPK + CM en ambas condiciones de riego en 16 % y 22 % para la condición RN y DH respectivamente (Figuras 7 y 8). En general, el orden en que los tratamientos afectaron las variables del agroecosistema cebolla y su funcionamiento fue: RN 50 % NPK + CM > DH 50 % NPK + CM > RN 100 % NPK No inoculado (control de producción) > DH 100 % NPK No inoculado > RN 100 % NPK + CM > DH 100 % NPK + CM > DH 0 % NPK + CM > RN 0 % NPK + CM.

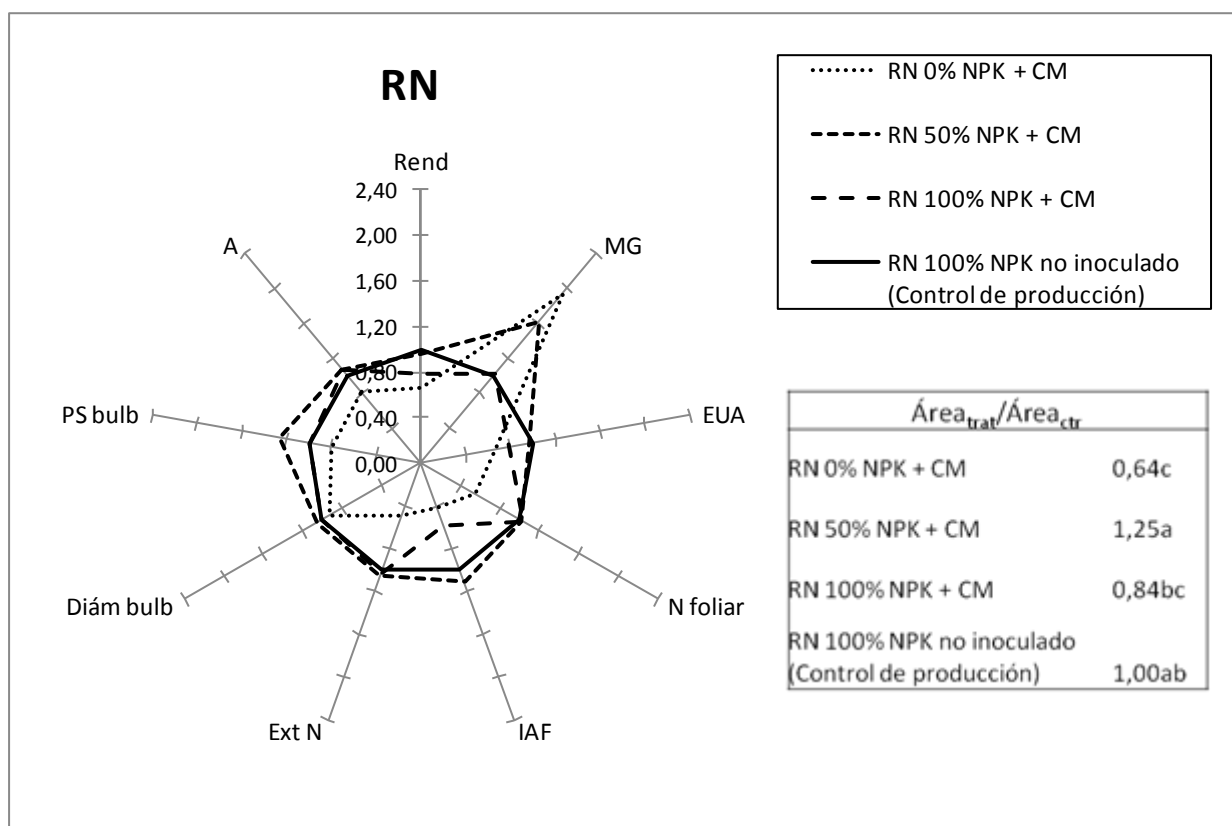


Figura 1. Cambios relativos en las propiedades del agroecosistema de acuerdo con los tratamientos aplicados en la condición riego normal (RN). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de medias LSD a un nivel de confianza del 95%. Los valores se estandarizaron utilizando como referencia el control de producción. El porcentaje representa la dosis aplicada del fertilizante NPK. CM= consorcio microbiano. Rend= rendimiento, MG= ICS Media geométrica, EUA= Eficiencia del uso del agua, IAF= índice de área foliar, Ext N= extracción de N en bulbos, Diám bulb= diámetro del bulbo, PS bulb= peso seco del bulbo, A= tasa de asimilación de CO₂.

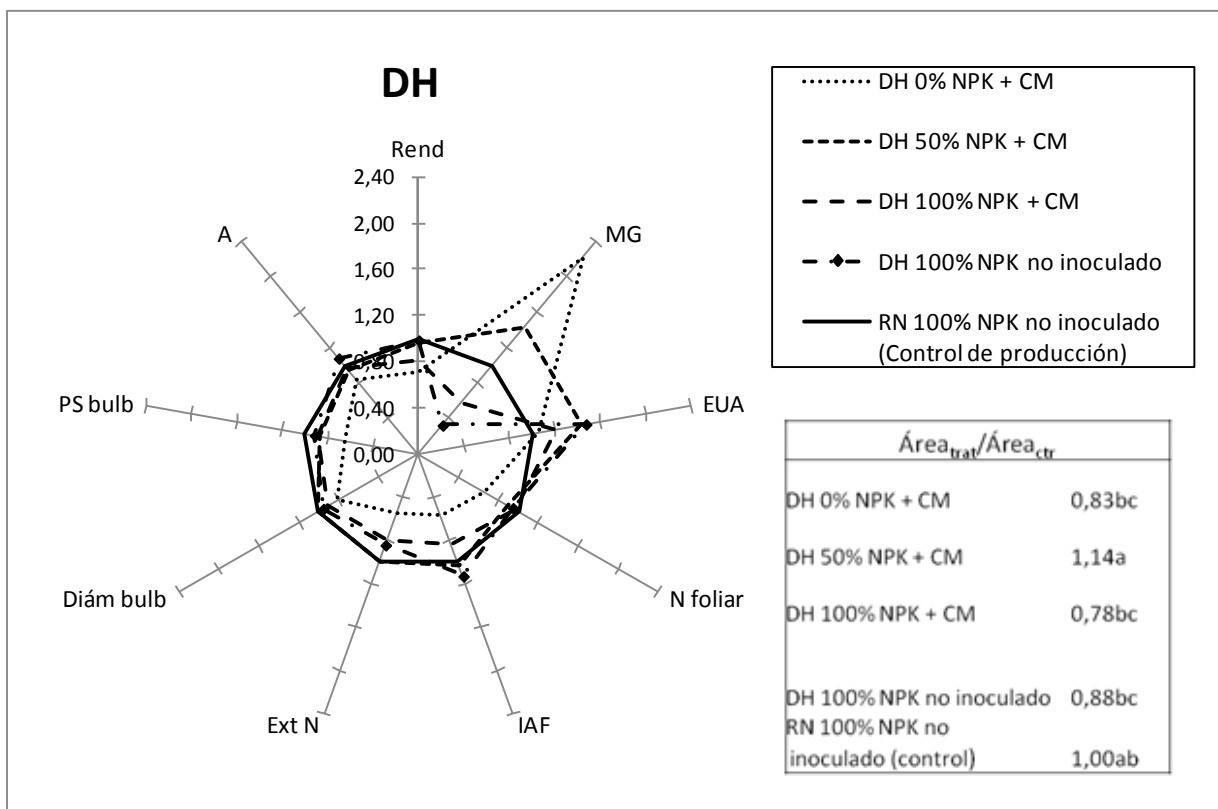


Figura 2. Cambios relativos en las propiedades del agroecosistema de acuerdo con los tratamientos aplicados en la condición déficit hídrico (DH). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según la prueba de medias LSD a un nivel de confianza del 95%. Los valores se estandarizaron utilizando como referencia el control de producción. El porcentaje representa la dosis aplicada del fertilizante NPK. CM= consorcio microbiano. Rend= rendimiento, MG= ICS Media geométrica, EUA= Eficiencia del uso del agua, IAF= índice de área foliar, Ext N= extracción de N en bulbos, Diám bulb= diámetro del bulbo, PS bulb= peso seco del bulbo, A= tasa de asimilación de CO₂.

De manera global se puede considerar que los microorganismos del suelo, especialmente los biofertilizantes en forma de consorcio microbiano, actúan sobre el agroecosistema mejorando muchas de sus funciones como: 1. El incremento del rendimiento y de la disponibilidad de nutrientes, ya que mejoran el contenido de nutrientes en el suelo y la absorción de nutrientes en las plantas (Raimi et al., 2017; Díaz-Rodríguez et al., 2021); 2. Suministro de nutrientes a bajo costo y como consecuencia el incremento de la economía: por ejemplo, en África los biofertilizantes preparados con base en rizobios suficientes para una hectárea cuesta en promedio 5 \$, frente al costo del fertilizante urea cuya cantidad necesaria para suministrar la misma cantidad de nutrientes es de 100 \$ para una ha; 3. Prevención de plagas y enfermedades por inhibición de patógenos a través de sus actividades metabólica o por competencia. 4. Bioremediación, incremento de la tolerancia al estrés hídrico en zonas semiáridas por diversos mecanismos como la producción de fitohormonas, y la ACC

deaminasa; 5. Mejoramiento de la salud humana (Raimi et al., 2017; Díaz-Rodríguez et al., 2021); 6. Uso sostenible de la biodiversidad microbiana autóctona del suelo.

De acuerdo con Mondal et al. (2020), los inoculantes microbianos presentan varias ventajas sobre los fertilizantes y agroquímicos porque ofrecen mayor seguridad al ecosistema y a la salud humana; son más específicos y eficaces en pequeñas cantidades; estimulan el crecimiento tanto de su planta hospedadora como el de su microbiota asociada; se degradan más rápidamente que los productos agroquímicos convencionales, siendo inocuos para el medio ambiente; el desarrollo de resistencia que puedan ocasionar es insignificante; y su uso es posible tanto en sistemas de manejo integrados como en sistemas de manejo convencionales.

Los microorganismos del suelo tienen un papel fundamental en la salud de este porque son los responsables de hacer circular la materia orgánica y los nutrientes, mejoran la fertilidad, y conducen a la productividad del ecosistema debido a que tienen el potencial de mejorar la mineralización y la disponibilidad de nutrientes (Prasad et al., 2021); y aunque los microorganismos suelen vivir en el suelo, su comunidad puede incrementarse mediante la inoculación o con prácticas de manejo agrícola que mejoren su abundancia y actividad (Prasad et al., 2021).

Actualmente no hay suficiente investigación sobre los efectos de la aplicación conjunta de fertilizantes químicos e inoculantes microbianos sobre la calidad del suelo y la nutrición de las plantas (Angulo et al., 2020), por lo que se considera que la presente tesis representa un gran aporte para el área de la agroecología. Para Ortega (2015), la adición de inoculantes microbianos se considera como una estrategia de manejo integrado de nutrientes. A su vez se sustenta en las relaciones propuestas por Prasad et al. (2021) pues los factores biológicos forman parte de la calidad del suelo, la calidad del suelo es parte de la calidad del medio ambiente, y la calidad del medio ambiente es un punto clave dentro de la agricultura sostenible; lo que implica que desde el comienzo los factores biológicos estarían siendo favorecidos directamente con el uso de inoculantes microbianos.

En adición, el consorcio microbiano aplicado en esta investigación logró revertir los efectos adversos causados en la estructura del suelo luego de la mecanización y restablecer la biomasa microbiana principalmente. Por lo tanto, las RPCV utilizadas tendrían una implicación ecológica favorable para la sostenibilidad del agroecosistema. Asimismo, se debe destacar que además de favorecer la calidad del suelo, el consorcio microbiano coadyuvó a alcanzar un rendimiento óptimo del cultivo, de forma más cónsona con el medio ambiente, que como se realiza generalmente de forma convencional solo con el uso indiscriminado de fertilizantes inorgánicos.

Conforme a la realidad actual, es importante señalar la preparación cuidadosa que tuvo el biofertilizante CM ME01+Leu2A, ya que este punto del control de calidad de los biofertilizantes para su comercialización y éxito en campo fue mencionado por la Dra. Rosa Poch en el Simposio Mundial sobre la Biodiversidad del Suelo 2021 (FAO, 2021), y por Bhattacharyya et al. (2020), pues se ha detectado que muchas de las formulaciones disponibles en el mundo son pobres (títulos bacterianos insuficientes) y contienen numerosos contaminantes. De hecho, se ha descubierto que hay contaminación bacteriana en el 63 % de las formulaciones disponibles. Hoy día, los biofertilizantes son una alternativa rentable a la aplicación de agroquímicos, y mediante su uso se pueden evitar los efectos dañinos irreparables de los agroquímicos al medio ambiente, pero es necesario un manejo adecuado y uso eficaz de los biofertilizantes por parte de los agricultores para que tengan un uso importante en las prácticas agrícolas sostenibles en un futuro cercano.

El potencial agrobiotecnológico de las RPCV ha sido notable en los últimos años, razón por la que en este momento crucial para el ambiente se debe desarrollar nuevos inoculantes microbianos que produzcan incrementos en la nutrición vegetal y el aumento de la tolerancia al estrés en los cultivos, a su vez que puedan impactar favorablemente la economía agrícola, y la calidad y salud ambiental. Sin embargo aún es necesario tener en cuenta muchas consideraciones para que su aplicación en campo sea una realidad exitosa, junto con otras prácticas de manejo sostenibles. A continuación se muestra un esquema final integrador en el que definitivamente la utilización del CM con dosis reducida (50%) de fertilizante inorgánico causó un impacto positivo sobre el agroecosistema, logrando optimizar el uso de recursos para incrementar la productividad y restablecer el equilibrio dinámico del agroecosistema cebolla (Figura 3).

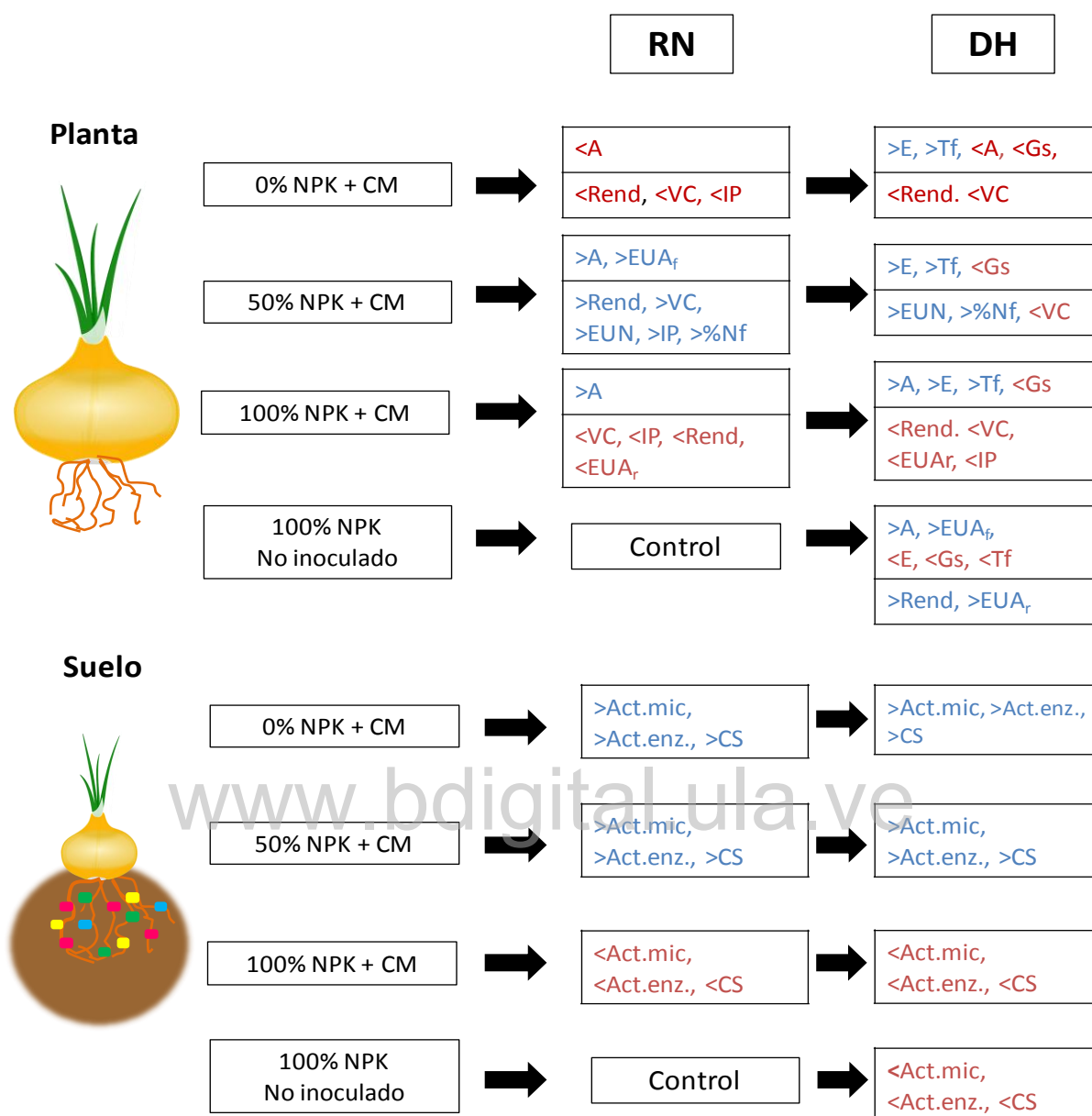


Figura 3. Efectos más significativos de los microorganismos sobre el agroecosistema cebolla, en condiciones de estrés hídrico y fertilización inorgánica. Letras de color azul indican las variables que son similares o superiores con respecto al control de producción. Letras de color vinotinto indican las variables que son inferiores con respecto al control de producción. CM= consorcio microbiano; RN= riego normal; DH= déficit hídrico; A= tasa de asimilación de CO₂; E= tasa de transpiración; Gs= conductancia estomática; Tf= temperatura foliar; Rend= rendimiento; VC= variables de crecimiento; EUA_f= eficiencia del uso del agua fotosintética; EUA_r= eficiencia del uso de agua de riego; IP= índices de productividad; %Nf= % nitrógeno foliar; Act.mic= actividad microbiológica; Act.enz= actividad enzimática; CS= calidad del suelo.

Conclusiones

En la Tabla 2 se presenta de manera resumida y secuencial las conclusiones obtenidas de acuerdo con cada objetivo planteado.

Tabla 2. Objetivos y conclusiones de los capítulos de la tesis. Para cada capítulo se presenta la conclusión general más importante.

Objetivos	Conclusiones
Capítulo 2 Seleccionar un consorcio microbiano promotor del crecimiento vegetal de microorganismos autóctonos del estado Mérida, para el crecimiento de plántulas de cebolla en condiciones de umbráculo, utilizando un suelo proveniente de una zona semiárida, con miras a incrementar la producción regional y nacional, así como disminuir las dosis de fertilizantes químicos en campo.	Se comprobó que existe una especificidad y compatibilidad cepa-cepa y cepas-cultivo, en respuesta a la interacción planta-microorganismo-suelo, de acuerdo a la relación bioquímica, fisiológica y ecológica entre estos factores, por la variedad de exudados radicales que puedan expresarse. Se seleccionó el consorcio ME01 + Leu2A (<i>Rhizobium tropici</i> + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>) porque fue la combinación que incrementó todas las variables determinadas, especialmente el diámetro de la base del pseudotallo, determinante para el cultivo de cebolla, y produjo una mayor tasa de asimilación de CO₂ en las plántulas.
Capítulo 3 Determinar los grados-día acumulados y la radiación requerida durante el ciclo en condiciones no estresantes, y el rendimiento de un cultivo de cebolla bajo déficit hídrico inducido y biofertilización, con el fin de obtener un uso más eficiente del agua, siendo este un recurso tan valioso y limitante, y ahorrar fertilizantes con un enfoque agroproductivo y sostenible.	El cultivo acumuló 1334 °C y 1188 MJ m⁻² d⁻¹ en el momento de su cosecha a los 71 días después de trasplante (ddt). El rendimiento fue de 36 t ha⁻¹, similar en ambas condiciones de riego, y el tratamiento Déficit Hídrico resultó en un ahorro de 35 % de agua y el incremento de 47 % de la eficiencia del uso del agua. Con el consorcio microbiano se ahorró el 50 % de NPK en condiciones no limitantes de agua y se consiguió un rendimiento similar al del control de producción 100 % NPK no inoculado. Se recomienda la menor frecuencia de riego y la dosis de fertilizantes 100 % NPK sin inocular bajo déficit hídrico, y el uso del

	consorcio microbiano con el 50 % NPK sin estrés hídrico, como prácticas agrosostenibles para la producción de cebolla.
Capítulo 4 Determinar el efecto de un consorcio microbiano compuesto por dos cepas rizobianas sobre las respuestas ecofisiológicas del cultivo de cebolla en condiciones de déficit hídrico y nutricional.	Se destacó el efecto del consorcio microbiano sobre una mayor actividad fotosintética en condiciones no limitantes de agua que permitió alcanzar el mismo rendimiento que el control de producción, y además el ahorro del 50% de NPK. Los tratamientos inoculados en condiciones de estrés hídrico mostraron incremento en la tasa de transpiración, y menor EUA_f, que impactaron negativamente el rendimiento. Se demostró que el híbrido de cebolla utilizado no realizó ajustes osmóticos, y sí incrementó su módulo de elasticidad en condiciones de déficit hídrico y sin la presencia del inoculante, y el cierre estomático fue el mecanismo de evasión más importante en respuesta ante la falta de agua.
Capítulo 5 Evaluar el efecto de la adición de biofertilizantes (un consorcio microbiano) sobre la actividad microbiológica y enzimática del suelo, y su influencia sobre la microbiota nativa en un suelo cultivado con cebolla en condiciones de déficit hídrico y nutricional.	El consorcio microbiano incrementó la biomasa microbiana con 0% NPK en condiciones no limitantes y limitantes de agua, favoreciendo de esta manera a las comunidades microbianas autóctonas, mejorando además el cociente microbiano y tendiendo a mejorar el cociente de eficiencia metabólica. La dosis 100 % NPK causó un estrés metabólico en las bacterias inoculadas, ya que tendió a disminuir la eficiencia ecofisiológica de la microbiota. Las variables deshidrogenasa, fosfatasa alcalina, ureasa, y amonificación de arginina resultaron sensibles a la aplicación del inoculante, a la fertilización inorgánica y al estrés hídrico.
Capítulo 6 Evaluar el efecto del biofertilizante (un consorcio microbiano) sobre el	Los tratamientos 50 % NPK + CM y el tratamiento 100 % NPK no inoculado promovieron el área foliar, índice de área foliar, peso fresco de hojas, peso seco de raíz y bulbos, % N foliar en la etapa media del

crecimiento y la distribución de asimilados en cebolla bajo condiciones de déficit hídrico y nutricional en un ciclo de cultivo	cultivo, y diámetro del bulbo, el peso fresco y seco de bulbos, y % N bulbos al final del cultivo. Las tasas de crecimiento mostraron que el DH acelera la maduración del cultivo, y que el déficit nutricional retrasa esta fase. El CM con la dosis 50 % NPK se recomienda para maximizar la EUN y la calidad nutricional de la cebolla sin afectar su rendimiento, debido a los mecanismos de biofertilización y bioestimulación del crecimiento vegetal.
Capítulo 7 Establecer las correlaciones entre las variables estudiadas para determinar el efecto de la biotecnología (biofertilizantes) sobre las propiedades del agroecosistema de cebolla.	El consorcio microbiano planteado podría ser una alternativa para mejorar la calidad y salud del suelo en condiciones de baja concentración de fertilizantes, en especies tolerantes a la sequía y en zonas semiáridas y pudiera ser usado en planes de restauración de suelos con condiciones similares a las mostradas en la presente investigación, y que además a futuro pueda incrementar la capacidad de resiliencia del suelo. Además, el CM se presenta como una alternativa factible dentro de las prácticas agrosostenibles para la producción de cebolla, con resultados cuantificables para la producción, apoyando los recursos naturales y la biodiversidad autóctona en pro del medio ambiente.

Recomendaciones finales

- Utilizar el consorcio microbiano ME01+Leu2A como una opción para mejorar la producción de cebolla en condiciones de semillero y campo.
- Emplear variedades o híbridos que se adapten al estrés hídrico en ensayos de este tipo, para así disminuir pérdidas de producción.
- Se recomienda incluir esta práctica de riego deficitario controlado a nivel de productores como una estrategia eficiente y sostenible en Venezuela para el cultivo de cebolla.
- Se recomienda evaluar el CM con otras variedades de cebolla, otras especies vegetales, y en suelos con diferentes características para determinar su efectividad y ampliar su rango de aplicación a nivel agrícola.

REFERENCIAS

- Angulo, J., Martínez-Salgado, M.M., Ortega-Blu, R., Fincheira, P., 2020. Combined effects of chemical fertilization and microbial inoculant on nutrient use efficiency and soil quality indicators. *Scientia Agropecuaria* 11(3): 375-380. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.09>.
- Bhattacharyya, C., Roy, R., Tribedi, P., Ghosh, A., Ghosh, A., 2020. Biofertilizers as substitute to commercial agrochemicals. In: Vara Prasad, M.N. (ed), *Agrochemicals Detection, Treatment and Remediation*, pp. 263-290. Butterworth-Heinemann. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-103017-2.00011-8>.
- Casierra, F., Vargas, N., 2015. Fisiología del crecimiento y la nutrición en cebolla de bulbo (*Allium cepa* L. hib. 'Yellow Granex') en condiciones tropicales. Editorial UPTC. Tunja, 156 p.
- Dash, P. K., Mishra, A., Saren, S., 2019. Role of micro-organisms in maintaining soil health. *Science Horizon*. Pp 16-19.
- Díaz-Rodríguez, A.M., Salcedo Gastelum, L.A., Félix Pablos, C.M., Parra-Cota, F.I., Santoyo, G., Puente, M.L., Bhattacharya, D., Mukherjee, J., de los Santos-Villalobos, S., 2021. The current and future role of microbial culture collections in food security worldwide. *Front. Sustain. Food Syst.* 4:614739. doi: 10.3389/fsufs.2020.614739
- Dogliotti, S., Colnago, P., Galván, G., Aldabe, L., 2011. Bases fisiológicas del crecimiento y desarrollo de los principales cultivos hortícolas. Tomate (*Lycopersicon esculentum*), papa (*Solanum tuberosum*) y cebolla (*Allium cepa*). Uruguay: Facultad de Agronomía, Universidad de la República. 85 p.
- Ebrahimi, M., Sarikhani, M.R., Shiri, J., Shahbazi, F., 2021. Modeling soil enzyme activity using easily measured variables: Heuristic alternatives. *Appl. Soil Ecol.* 157: 103753. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103753>.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura), 2021. Simposio Mundial sobre la Biodiversidad del Suelo. Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/GSP/GSOBI-21/DAY4/GSOBI_Theme_3_Rosa_Poch.pdf. Consultado el 14 de julio de 2021.
- García-Ruiz, R., Ochoa, V., Hinojosa, M.B., Carreira, J.A., 2008. Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. *Soil Biol. Biochem.* 40: 2137-2145. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.03.023>.
- Hammer, O., Harper, D.A.T., Ryan, P.D., 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Paleontologia Electronica* 4(1): 9 p.
- Hinojosa, M.B., García-Ruiz, R., Viñegla, B., Carreira, J.A., 2004. Microbiological rates and enzyme activities as indicators of functionality in soils affected by the Aznalcóllar

- toxic spill. *Soil Biol. Biochem.* 36(10): 1637–1644. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.07.006>.
- Kuzyakov, Y., Gunina, A., Zamanian, K., Tian, J., Luo, Y., Xu, X., Yudina, A., Aponte, H., Alharbi, H., Ovsepyan, L., Kurganova, I., Ge, T., Guillaume, T., 2020. New approaches for evaluation of soil health, sensitivity and resistance to degradation. *Front. Agr. Sci. Eng.* 12 p. <https://doi.org/10.15302/J-FASE-2020338>.
- Meyer, A.H., Wooldridge, J., Dames, J.F., 2014. Relationship between soil alteration index three (AI3), soil organic matter and tree performance in a ‘Cripps Pink’/M7 apple orchard. *South Afr. J. Plant Soil* 31(3): 173-175. <http://dx.doi.org/10.1080/02571862.2014.944229>.
- Mondal, S., Halder, S.K., Yadav, A.N., Mondal, K.C., 2020. Microbial consortium with multifunctional plant growth-promoting attributes: future perspective in agriculture. In: Yadav, A.N. et al. (eds.), *Advances in plant microbiome and sustainable agriculture, microorganisms for sustainability* 20. Pp. 219-258. Springer Nature Singapore Pte. Ltd. https://doi.org/10.1007/978-981-15-3204-7_10.
- Paz-Ferreiro, J., Fu, S., 2016. Biological indices for soil quality evaluation: perspectives and limitations. *Land Degrad. Develop.* 27: 14–25. <https://doi.org/10.1002/ldr.2262>.
- Prasad, S., Malav, L.C., Choudhary, J., Kannojiya, S., Kundu, M., Kumar, S., Yadav, A.N., 2021. Soil microbiomes for healthy nutrient recycling. In: A.N. Yadav et al. (ds.), *Current trends in microbial biotechnology for sustainable agriculture, environmental and microbial biotechnology*. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 21 p. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6949-4_1.
- Puglisi, E., Del Re, A.A.M., Rao, M.A., Gianfreda, L., 2006. Development and validation of numerical indexes integrating enzyme activities of soils. *Soil Biol. Biochem.* 38: 1673-1681. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.11.021>.
- Odum, E.P., 1989. *Ecology and our endangered life support systems*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Mass. 283 p.
- Ortega-Blu, R., 2015. Integrated nutrient management in conventional intensive horticulture production systems. *Acta Hortic.* 1076: 159-164. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2015.1076.18>.
- Raimi, A., Adeleke, R., Roopnarain, A., 2017. Soil fertility challenges and biofertiliser as a viable alternative for increasing smallholder farmer crop productivity in sub-Saharan Africa. *Cogent food agric.* 3: 1400933. <https://doi.org/10.1080/23311932.2017.1400933>.
- Seybold, C.A., Herrick, J.E., Brejda, J.J., 1999. Soil resilience: a fundamental component of soil quality. *Soil Sci.* 164(4): 224–234.
- Sharma, K.L., Srinivasa Rao, Ch., Suma Chandrika, D., Nandini, N., Munnalal, Sammi Reddy, K., Indoria, A.K., Satish Kumar, T., 2016. Assessment of GMean biological soil quality indices under conservation agriculture practices in rainfed Alfisol soils. *Current Science* 111(8): 1383-1387. <https://doi.org/10.18520/cs/v111/i8/1383-1387>.

Statistical Graphics Corporation, 2002. Statgraphics Plus Versión 5.1.

Zamora, A., Malaver, N., Ramos, J., 2012. Análisis funcional de microorganismos: un estimador de diversidad y estructura comunitaria. *Acta Biol. Venez.*, 32(1): 57-86.

ANEXOS

Correlación entre las variables determinadas en el agroecosistema

El análisis de correlaciones se realizó entre las variables que resultaron con diferencias significativas entre los tratamientos en los capítulos 3, 4, 5 y 6 de la presente investigación. Posteriormente se construyó una matriz de correlación con las variables que mostraron significancia, con los siguientes parámetros: Rendimiento ($t\ ha^{-1}$), MG_{aem} , eficiencia del uso del agua de riego EUA_r ($kg\ m^3$), % N foliar a los 35 ddt, tasa de asimilación de CO_2 a los 35 ddt a primeras horas de la mañana (A), conductancia estomática a los 35 ddt en horas del mediodía (Gs), tasa de transpiración a los 35 ddt en horas del mediodía (E), eficiencia del uso del agua fotosintética a los 35 ddt a primeras horas de la mañana (EUA_f), potencial hídrico foliar a los 69 ddt en horas del mediodía (Ψ_L), temperatura foliar a los 35 ddt en horas del mediodía (Tf), biomasa microbiana por el contenido de carbono microbiano (C_{mic}), cociente microbiano (q_{mic}), cociente de eficiencia metabólica ($qCO_2\ C_{org}^{-1}$), actividad deshidrogenasa (DH), fosfatasa alcalina (Fosf Alc), ureasa, amonificación de arginina, índice de área foliar (IAF) a los 35 ddt, extracción de N en bulbos a los 69 ddt ($g\ N\ bulbos\ m^{-2}$), eficiencia del uso de nutrientes (N) en bulbos a los 69 ddt (EUN_N), factor parcial de productividad (FPP), diámetro del bulbo, peso seco del bulbo, número de hojas, tasa de crecimiento absoluto (TCA). Para este análisis se utilizó el programa PAST versión 3.0 (Hammer et al., 2001); se determinó la normalidad de los datos con el test de Shapiro-Wilk, y la significancia de las correlaciones a través de la correlación de Spearman (ρ (rho)).

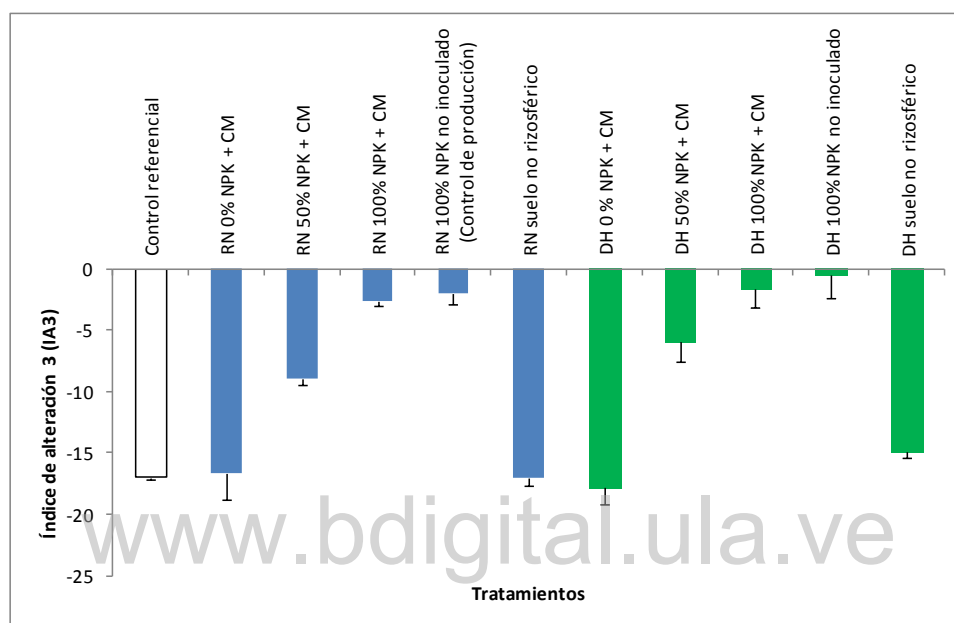
	Rendimiento Tn.ha ⁻¹	MG _{seca}	EUA _r kg.m ³	% N foliar 35 ddt	A _{35ddt} 8am	gsreal 35 ddt 11am	E _{35 ddt} 11am	EUA _r 35 ddt 8am	Potencial 69 ddt 12:30	Tfoliar 35 ddt 11am	Cmic	q _{mic}	Efic metab	Deshidrogenasa	Fosf alcalina	ureasa	amonif ic arg	IAF m ² /m ² solo para T1	Ext N g N bulbos m ⁻² T2	EUN bulbos T2 %	FPP kg kg ⁻¹	diam bulbo	PS bulbos	Num hojas	TCA 35 ddt
Rendimiento Tn.ha ⁻¹	1																								
MG	-0,472	1																							
EUA _r kg.m ³	0,592	-0,463	1																						
% N foliar 35 ddt	0,421	-0,537	0,026	1																					
A _{35ddt} 8am	0,293	-0,536	0,090	0,497	1																				
gsreal 35 ddt 11am	-0,225	0,438	0,244	-0,597	-0,171	1																			
E _{35 ddt} 11am	-0,134	0,064	0,392	-0,298	-0,313	0,661	1																		
EUA _r 35 ddt 8am	0,104	-0,461	-0,084	0,388	0,528	0,081	-0,050	1																	
Potencial 69 ddt 12:30	0,634	-0,633	0,260	0,649	0,381	-0,582	-0,304	0,251	1																
Tfoliar 35 ddt 11am	-0,244	0,166	0,274	-0,478	0,049	0,140	0,167	0,010	-0,243	1															
Cmic	-0,216	0,773	-0,283	-0,618	-0,444	0,499	0,005	-0,420	-0,487	0,144	1														
q _{mic}	-0,251	0,753	-0,183	-0,685	0,484	0,627	0,141	-0,482	-0,564	0,182	0,952	1													
Efic metab	0,030	-0,563	0,167	0,575	0,541	-0,353	0,005	0,501	0,275	0,031	-0,811	-0,750	1												
Deshidrogenasa	-0,419	0,917	-0,400	-0,522	-0,514	0,488	-0,017	-0,500	-0,559	0,259	0,720	0,691	-0,502	1											
Fosf alcalina	-0,437	0,766	-0,236	-0,492	-0,643	0,640	0,110	-0,598	-0,653	0,169	0,647	0,659	-0,465	0,785	1										
Ureasa	-0,411	0,964	-0,424	-0,557	-0,491	0,429	0,007	-0,453	-0,582	0,284	0,781	0,749	-0,579	0,942	0,747	1									
Amonif ic arg	-0,516	0,953	-0,616	-0,438	-0,522	0,306	-0,067	-0,464	-0,572	0,020	0,716	0,694	-0,523	0,870	0,722	0,914	1								
IAF m ² /m ² solo para T1	0,824	-0,462	0,575	0,430	0,241	-0,198	-0,037	0,006	0,536	-0,251	-0,143	-0,179	0,014	-0,465	-0,396	-0,419	-0,482	1							
Ext N g N bulbos m ⁻² T2	0,336	-0,288	0,022	0,500	0,422	-0,483	-0,164	0,333	0,458	-0,394	-0,269	-0,274	0,303	-0,358	-0,472	-0,345	-0,253	0,512	1						
EUN bulbos T2 %	-0,148	0,866	-0,329	-0,152	-0,277	0,059	-0,020	-0,409	-0,198	-0,142	0,616	0,602	-0,354	0,770	0,507	0,782	0,840	0,146	0,833	1					
FPP kg kg ⁻¹	0,463	0,639	0,265	-0,245	-0,422	0,357	0,069	0,662	0,075	0,147	0,610	0,593	-0,441	0,689	0,510	0,698	0,516	0,558	0,236	0,641	1				
diam bulbo	0,547	-0,203	-0,003	0,445	0,351	-0,447	-0,251	0,209	0,375	-0,516	-0,205	-0,249	0,211	-0,237	-0,284	-0,244	-0,123	0,464	0,656	0,474	0,381	1			
PS bulbos	0,441	-0,192	-0,140	0,510	0,177	-0,384	-0,260	0,046	0,434	-0,747	-0,160	-0,214	0,042	-0,275	-0,333	-0,269	-0,101	0,479	0,693	0,476	0,238	0,732	1		
Num hojas	0,046	0,179	-0,587	0,207	0,033	-0,337	-0,512	0,162	0,167	-0,339	0,097	-0,009	-0,170	0,171	-0,031	0,193	0,246	-0,134	0,091	0,131	-0,057	0,248	0,336	1	
TCA 35 ddt	0,727	-0,561	0,460	0,405	0,465	-0,392	-0,078	0,219	0,526	-0,202	-0,317	-0,350	0,166	-0,564	-0,645	-0,539	-0,578	0,835	0,565	0,034	0,294	0,462	0,545	-0,147	1

Anexo 1. Coeficiente de correlación de Spearman entre las variables más representativas del agroecosistema cebolla, bajo la aplicación de biofertilizantes en condición de déficit hídrico y fertilización inorgánica. Los valores dentro cada casilla muestran el valor de ρ de Spearman. Los valores en color rojo indican una correlación significativa ($p < 0,05$). Valores entre 0,4–0,69 indican una correlación moderada; valores entre 0,7–0,89 indican una correlación alta; valores entre 0,9–1 indican una correlación muy alta.

- a) Índice de alteración del suelo (IA3) calculado utilizando la relación de Puglisi et al. (2006) mediante la siguiente ecuación:

$$IA3 = 7,87 \beta\text{-GLU} - 8,22 \text{FOSF} - 0,49 \text{UR}$$

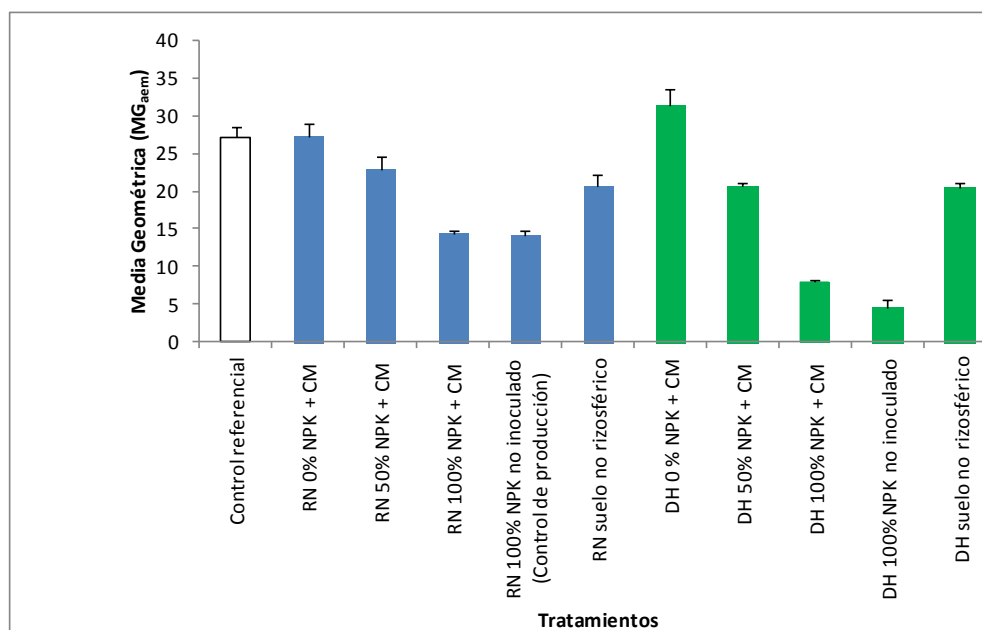
Donde $\beta\text{-GLU}$ ($\mu\text{mol pNF g}^{-1} \text{h}^{-1}$), FOSF ($\mu\text{mol pNF g}^{-1} \text{h}^{-1}$) y UR ($\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$) representan los valores de las actividades enzimáticas de β -glucosidasa, fosfomonoesterasa alcalina y ureasa respectivamente.



- b) Media geométrica de actividad enzimática y microbiana empleado por Hinojosa et al. (2004), García-Ruiz et al. (2008), Sharma et al. (2016).

$$MGaem = \sqrt[8]{\prod_{i=1}^n AEM} = \sqrt[8]{DAF * DSH * ARG * FAC * FAL * GLU * UR * Cmic}$$

Donde DAF, DSH, ARG, FAC, FAL, GLU, UR y Cmic representan los valores de las actividades enzimáticas: hidrólisis del diacetato de fluoresceína, deshidrogenasa, amonificación de la arginina, fosfomonoesterasa ácida, fosfomonoesterasa alcalina, β -glucosidasa, ureasa y biomasa microbiana, respectivamente.



- c) Índice de calidad del suelo por comparación del área a través del uso de gráficos de radar o estrella propuesto por Kuzyakov et al. (2020).

En el presente estudio la comparación se realizó entre los tratamientos aplicados y el suelo referencial (equivalente al suelo natural antes del disturbio). Cada parámetro individual por tratamiento se estandariza a la unidad (1.0) tomando como referencia o control el suelo natural con la ecuación: $\text{std } P_i = P_{\text{TRAT}}/P_{\text{REF}}$, donde P_{TRAT} es el valor de la actividad evaluada en cada tratamiento y P_{REF} el valor de esa misma actividad en el suelo referencial.

El cálculo del área del octágono se calcula como la sumatoria de los ocho triángulos escalenos individuales, en los que uno de los vértices está en el centro del gráfico y los otros dos vértices están constituidos por las magnitudes de dos radios consecutivos o adyacentes, y uno de los ángulos corresponde al ángulo central del polígono (octógono; 45°); se aplica la fórmula del área de un triángulo conociendo el valor de dos lados y el seno del ángulo formado por dichos lados así: $\text{Área} = 0,5 * P_i * P_j * \text{sen } 45^\circ$ donde P_i y P_j son los valores de dos variables estandarizadas adyacentes y el área para cada polígono generado será la suma de los ocho triángulos:

$$\text{Área} = 0,5 * \text{sen } 45^\circ * (\text{std}_{\text{DSH}} * \text{std}_{\text{ARG}} + \text{std}_{\text{ARG}} * \text{std}_{\text{DAF}} + \text{std}_{\text{DAF}} * \text{std}_{\text{FosfAlc}} + \text{std}_{\text{FosfAlc}} * \text{std}_{\text{GLU}} + \text{std}_{\text{GLU}} * \text{std}_{\text{Ur}} + \text{std}_{\text{Ur}} * \text{std}_{\text{Cmic}} + \text{std}_{\text{Cmic}} * \text{std}_{\text{qMic}} + \text{std}_{\text{qMic}} * \text{std}_{\text{DSH}})$$

Donde las variables estandarizadas DSH, ARG, DAF, FosfAlc, GLU, Ur, Cmic, qMic, corresponden a la actividad deshidrogenasa, amonificación de arginina, hidrólisis del

diacetato de fluoresceína, fosfatasa alcalina, β -glucosidasa, ureasa, contenido de carbono microbiano o biomasa microbiana, y cociente microbiano, respectivamente.

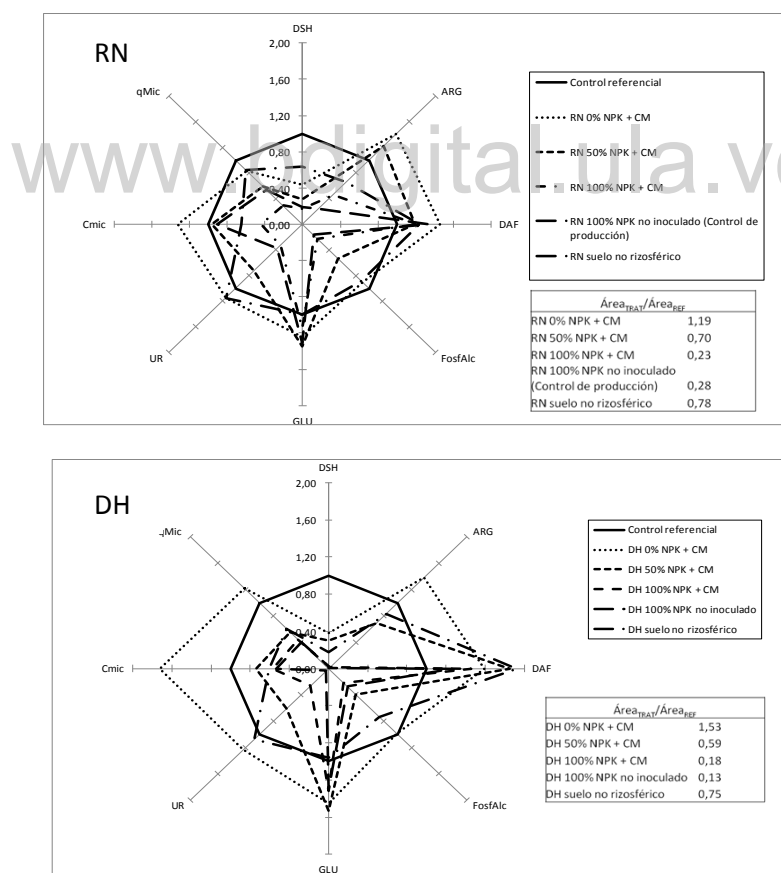
La fórmula se puede generalizar para cualquier número de parámetros usados en el gráfico radar:

$$\text{Area} = 0,5 * \sum_{i=1}^n \text{stdPi} * \text{stdPj} * \text{sen} \left(\frac{2\pi}{n} \right)$$

Donde std P_i ; std P_j es el parámetro i estandarizado, n número de parámetros utilizados y π (3,14).

Ahora bien, se define como ICS por área el cociente entre el área del suelo de cada tratamiento y el área del suelo referencial o control; $\text{ICS}_{\text{Área}} = \text{Área}_{\text{TRAT}} / \text{Área}_{\text{REF}}$.

Los ICS y gráficos de radar se determinaron con la hoja de cálculo de Microsoft Office Excel versión 2007. Los resultados de los ICS y la evaluación del área de los cambios en las variables del agroecosistema, se analizaron mediante un ANOVA de dos vías y la prueba de medias LSD ($p < 0,05$) con el programa Statgraphics (Statistical Graphics Corporation, 2002), y se comprobó el supuesto de homogeneidad de varianza con el test de Bartlett.



Anexo 2. Cálculo de los índices de calidad del suelo (ICS).

Análisis Gráfico

Finalmente, para evaluar los cambios relativos en las propiedades del agroecosistema se realizó una comparación entre nueve parámetros representativos de acuerdo con las correlaciones obtenidas, utilizando el enfoque comparativo por área y el uso de gráficos de radar para visualizar el efecto de los tratamientos. Los valores de las variables se estandarizaron a la unidad tomando como control el tratamiento RN 100 % NPK no inoculado (control de producción), mediante la ecuación $\text{std } P_i = P_{\text{TRAT}} / P_{\text{TRATctr}}$, donde P_{TRAT} es el valor de una variable por cada tratamiento, y P_{TRATctr} es el valor de dicha variable en el tratamiento control de producción.

El área del nonágono se calculó mediante la fórmula:

$$\begin{aligned} \text{Área} = 0,5 * \text{sen } 40^\circ * (\text{std}_{\text{Rend}} * \text{std}_{\text{MG}} + \text{std}_{\text{MG}} * \text{std}_{\text{EUA}_r} + \text{std}_{\text{EUA}} * \text{std}_{\text{Nfoliar}} + \\ \text{std}_{\text{Nfoliar}} * \text{std}_{\text{IAF}} + \text{std}_{\text{IAF}} * \text{std}_{\text{ExtN}} + \text{std}_{\text{ExtN}} * \text{std}_{\text{DiámBulb}} + \text{std}_{\text{DiámBulb}} * \text{std}_{\text{PSbulb}} + \\ \text{std}_{\text{PSbulb}} * \text{std}_A + \text{std}_A * \text{std}_{\text{Rend}}) \end{aligned}$$

Donde las variables estandarizadas: Rend, MG, EUA_r , Nf, IAF, ExtN, Diám, PSb, A, corresponden al rendimiento, ICS por media geométrica de actividad enzimática y microbiológica (MG_{aem}), eficiencia en el uso del agua de riego, % N foliar a los 35 ddt, índice de área foliar a los 35 ddt, extracción de N en bulbos a los 69 ddt, diámetro del bulbo a los 69 ddt, peso seco del bulbo a los 69 ddt, y tasa de asimilación de CO_2 a los 35 ddt a primeras horas de la mañana, respectivamente.

Los cambios relativos en las variables del agroecosistema se calcularon con la relación:

$$\text{Cambios en las variables del agroecosistema} = \text{Área}_{\text{TRAT}} / \text{Área}_{\text{TRATctr}}$$

Los gráficos de radar y el cálculo del área se determinaron con la hoja de cálculo de Microsoft Office Excel versión 2007. Los resultados se analizaron mediante un ANOVA de dos vías y la prueba de medias LSD ($p < 0,05$) con el programa Statgraphics (Statistical Graphics Corporation, 2002).

Anexo 3. Cálculo para el análisis multivariado del agroecosistema por área empleando gráficos de radar.