



Scientia Agropecuaria

Website: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop>

Facultad de Ciencias
Agropecuarias

Universidad Nacional de
Trujillo

Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a microorganismos promotores de crecimiento vegetal

Phaseolus vulgaris response to plant growth promoting microorganisms

Violeta Edith Romero-García¹; Vanessa Ruby García-Ortiz¹; Jaime Jesús Hernández-Escareño²; Juan Manuel Sánchez-Yáñez^{1,*}

¹ Laboratorio de Microbiología Ambiental, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Ed-B3 C.U. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Francisco J. Mujica S/N, Col. Felicitas del Río C.P. 58000, Morelia, Mich., México.

² Microbiología y Micología Veterinaria. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nuevo León, Escobedo, N.L. México.

Received November 04, 2015. Accepted July 31, 2016.

Resumen

El objetivo de esta investigación fue analizar la respuesta de *P. vulgaris* a la inoculación individual y consorcio de MPCV a dosis reducida al 50% del FN. Para ello se inoculó *P. vulgaris* individualmente con: *B. cereus*, *R. etli* y *T. harzianum* y en consorcio de MPCV en jarras de Leonard tratada con NH_4NO_3 al 50 %, bajo un diseño experimental de bloques al azar; con variables respuestas: porcentaje y días a germinación, altura de planta y longitud radical, peso fresco/seco aéreo y radical (PFA/PSA/PFR/PSR) a plántula y floración; los datos experimentales se analizaron por Tukey, $p \leq 0,05$. Los resultados mostraron que *P. vulgaris* inoculado con *R. etli* y *T. harzianum* tuvo un 100 % y 95,8% de germinación o emergencia en 4,8 y 4,5 días, respectivamente, valores con diferencia estadística en comparación con el 91,7% en 7,17 días en *P. vulgaris* sin inocular con el 100% de FN o testigo fertilizado (TF). En la etapa de plántula de *P. vulgaris* con *T. harzianum* y *R. etli* fue de 1,12 g y 0,72 g PSA, así como de 0,31 g y 0,21 de PSR, respectivamente, superior a *P. vulgaris* (TF) de 0,52 g de PSA y 0,19 g de PSR. Lo anterior apoya el potencial de *R. etli* y *T. harzianum* para la producción de *P. vulgaris* a dosis reducida de FN, comparado con el efecto positivo individual de *B. cereus* y en consorcio en la misma leguminosa.

Palabras clave: *P. vulgaris*, consorcio microbiano, optimización, fertilizante nitrogenado.

Abstract

The aim of this study was to analyze the response of *P. vulgaris* to single inoculation or to PGPM of dose reduced to 50% of NF. In that sense seeds of *P. vulgaris* were inoculated individually with *B. cereus*, *R. etli* or *T. harzianum* and as a PGPM consortium in a hydroponic system Leonard jars, fed with NH_4NO_3 (ammonium nitrate) 50%, reduced dose. Under an experimental randomized block design; response variables measured were: percentage and days to germination, plant height and root length, weight fresh/ dry air and root weight (AFW/ADW/RFW/RDW) to seedling and flowering, experimental data were validated by Tukey, $p \leq 0.05$. Results showed that *P. vulgaris* inoculated with *R. etli* and *T. harzianum* had 100% and 95.8% germination in 4.8 and 4.5 days respectively and statistically different compared to 91.7% in 7.17 days of *P. vulgaris* not inoculated at 100% NF had as a Fertilizer Control (FC). At seedling stage of *P. vulgaris* with *T. harzianum* and *R. etli* had 1.12 g and 0.72 g of ADW and of 0.31 and 0.21 g RDW; while *P. vulgaris* response used as FC with 0.52 g and ADW and 0.19 g of RDW. This supports the positive potential of *R. etli* and *T. harzianum* for producing *P. vulgaris* reduced dose of NF, as well the positive effect of *B. cereus* and microbial consortium in the legume.

Keywords: *P. vulgaris*, microbial consortium, optimize, nitrogen fertilizer.

* Corresponding author

E-mail: syanez@umich.mx (J.M. Sánchez-Yáñez).

© 2016 All rights reserved.

DOI: 10.17268/sci.agropecu.2016.03.20

1. Introducción

La leguminosa *Phaseolus vulgaris* L responde favorablemente a la aplicación de fertilizante nitrogenado (FN) como NH_4NO_3 (nitrato de amonio); sin embargo, cuando este se aplica en exceso causa la degradación del suelo y disminución de su fertilidad (Armenta *et al.*, 2010). Una alternativa de solución para el problema de hiperfertilización en la producción de *P. vulgaris*, es la inoculación de sus semillas con *Trichoderma harzianum* individual y en consorcio con microbios promotores del crecimiento vegetal (MPCV) como *Bacillus cereus* y *Rhizobium etli* (Cubillos-Hinojosa *et al.*, 2009 Serna-Cock, *et al.*, 2011) que aceleran su germinación y permiten la reducción y optimización del FN con lo que conserva la fertilidad del suelo. Los microorganismos promotores de crecimiento vegetal (MPCV) de forma individual o en consorcio inoculados a la semilla de *P. vulgaris* inducen su germinación, colonizan su raíz y transforman los exudados radicales en sustancias promotoras del crecimiento vegetal (SPCV); con lo que estimula una mayor proliferación de pelos radicales que aumentan la absorción de NH_4NO_3 a pesar de disminuir la dosis de este FN hasta un 50% (García-González *et al.*, 2005; Armenta-Bojorquez *et al.*, 2010). Una novedad para facilitar la disminución de la dosis del FN sin afectar su sano crecimiento es el empleo de MPCV como *T. harzianum* que normalmente es útil en el control de enfermedades de raíz causadas por fitopatógenos (Altomare *et al.*, 1999); sin embargo, también Moreno-Sarmiento *et al.*, 2007 señalaron su capacidad de promover el crecimiento vegetal. En tanto que también se ha referido al género *Rhizobium* spp, así como algunas especies de *Bacillus* spp, que tienen la capacidad de sintetizar SPCV, para facilitar una producción sustentable de *P. vulgaris*; tal es el caso también del efecto benéfico de *B. cereus* en *Triticum aestivum* a dosis regulada de FN (García-González *et al.*, 2005). Con base a lo anterior se ha realizado extensiva

investigación sobre la inoculación de MPCV de forma individual o en consorcio, dado que se sabe que sus miembros trabajan sinérgicamente, para facilitar y optimizar la absorción de nutrientes minerales como el FN en el sistema radical de plantas domesticas; mediante acciones como la solubilización de PO_4 (fosfatos) o la síntesis de SPCV a partir de exudados de raíz. Por lo que el objetivo de este trabajo fue: analizar la respuesta de *P. vulgaris* a la inoculación individual con *B. cereus* *R etli* y *T. harzianum* y/o en consorcio a dosis reducida del FN al 50%.

2. Materiales y métodos

En la Tabla 1 se muestran los tratamientos en *P. vulgaris* sembrado en el sistema hidropónico de jarra de Leonard, sobre la base de un diseño de bloques al azar con 6 tratamientos y 6 repeticiones (García-González *et al.*, 2005); con las variables respuesta: porciento y días a germinación o emergencia; incluso la fenología: altura de la planta (AP) y longitud radical (LR); y su biomasa: peso fresco/seco aéreo y radical a nivel de plántula y floración.

2.1 Solarización del suelo

El suelo se solarizó para reducir plagas y enfermedades; posteriormente se tamizó con una malla del No. 20. Este suelo se clasificó como laterítico; de textura franco arenosa, pobre en materia orgánica de 1,5% y N orgánico de 39 $\text{Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ y un pH 6,7 ligeramente ácido (Sánchez-Yáñez, 2007).

2.2 Origen de *Bacillus cereus*, *Rhizobium etli* y *Trichoderma harzianum*

Los géneros y especies de *B. cereus* 1 y *R. etli* 2, se tomaron de la colección de bacterias promotoras de crecimiento vegetal ambas aisladas de raíces *Medicago sativa* (cepas 1 y 2 respectivamente) del Laboratorio de Microbiología Ambiental, mientras que se usó de un producto comercial denominado TRICHO-HIPER^{MR} en polvo a 5×10^9 esporas / g de *T. harzianum* para tratar el suelo de cultivo de *P. vulgaris*.

Tabla 1

Diseño experimental para evaluar la respuesta de *Phaseolus vulgaris* a la inoculación individual y en consorcio con *Bacillus cereus*, *Rhizobium etli* y *Trichoderma harzianum* a dosis 50% del fertilizante nitrogenado

Tratamiento	<i>Phaseolus vulgaris</i>			
	<i>T.</i> <i>harzianum</i>	<i>B.</i> <i>cereus</i>	<i>R.</i> <i>etli</i>	FN (NH ₄ NO ₃)
I. Irrigado solo con agua no inoculado (Control absoluto) o (CA).	–	–	–	–
II. Alimentado con fertilizante nitrogenado al 100% no inoculado (Testigo fertilizado) o (TF)	–	–	–	100% (1,5 g/L)
III. <i>Bacillus cereus</i>	–	–	+	50% (0,75 g/L)
IV. <i>Rhizobium etli</i>	–	+	–	50%
V. <i>Trichoderma harzianum</i>	+	–	–	50%
VI. <i>R. etli</i> + <i>B. cereus</i> + <i>T. harzianum</i>	+	+	+	50%

+ Aplicado; - No aplicado. FN: Fertilizante nitrogenado.

2.3 Activación del consorcio de microbios promotores de crecimiento vegetal e inoculación de *Trichoderma harzianum* en suelo

La cepa 1 *B. cereus* se activó en caldo nutritivo (CN) con la siguiente composición (g/L): peptona de caseína 5, extracto de levadura 3, agua destilada a pH 6,8 ± 0,2; con el anti fúngico Tecto 60^{MR} (Syngenta) 2% (p/v). Para cepa 2 *R. etli* en caldo extracto de levadura manitol y Rojo Congo (CELMRC) (g/L): Manitol 10,0 g; K₂HPO₄ 2,0; MgSO₄ 0,2; solución de Rojo Congo 1:400 10 ml; NaCl 0,1; extracto de levadura 10,0; solución de oligoelementos; agua destilada a pH 6,7; con anti fúngico Tecto 60^{MR} (Syngenta) 2% (p/v) 1,0 mL/L, ambas cepas 1 y 2 se incubaron por 30 °C / 24 - 48 h (Sánchez-Yañez, 2007). El inóculo de *T. harzianum* en agua (g/L): *T. harzianum*, agua destilada a pH 6,8 ± 0,2. *T. harzianum* se aplicó de forma directa sobre el suelo, 0,5 mL/kg de suelo previamente hidratado 24 h antes de la siembra de la semilla de *P. vulgaris*.

2.4 Inoculación de la semilla de *Phaseolus vulgaris* con *Bacillus cereus* y *Rhizobium etli*

Para ello las semillas de *P. vulgaris* se desinfectaron con hipoclorito de sodio (Clorox ®) 5% (p/v)/5 min, se enjuagaron 5 veces con agua potable estéril, se

sumergieron en alcohol 70% / 5 min, se enjuagaron 5 veces con agua potable estéril; entonces 30 semillas se depositaron en una bolsa de plástico de 250 g, ahí las 10 semillas se inocularon con 1,0 mL de cultivo con los MPCV de forma individual o en consorcio de acuerdo al cuadro 1 (Sánchez-Yañez, 2007); por cada tratamiento se emplearon 6 repeticiones.

2.5 Preparación del sistema hidropónico de jarras de Leonard y siembra e inoculación de *Phaseolus vulgaris* con *Trichoderma harzianum* y el consorcio microbiano

El experimento se realizó en invernadero del Laboratorio de Microbiología Ambiental del IIQB-UMSNH en jarras de Leonard que consiste en un sistema semi-hidropónico) para evaluar la respuesta de *P. vulgaris* a la inoculación individual con *B. cereus*, *R. etli* y *T. harzianum* y consorcio con los MPCV. En la base de la jarra se colocó 250 mL de solución con NH₄NO₃ preparado a partir de fertilizante comercial ULTRASOL® en concentración de 1,5 y 0,75 g/L a pH 6,8 - 7,0 mientras que en la parte inferior de la jarra se unió con algodón que permitió el paso de la solución desde la base hasta la parte superior que contiene aproximadamente 1 kg de suelo. El suelo de cada jarra se hidrató con agua potable antes de sembrar

4 semillas de *P. vulgaris*, luego las jarras se llevaron al solárium donde permanecieron en oscuridad hasta su germinación o emergencia, con las primeras dos hojas verdaderas de *P. vulgaris* se trasladaron al invernadero para completar su ciclo vegetativo (García-González *et al.*, 2005).

2.6 Variables usadas para la respuesta de *Phaseolus vulgaris* a la inoculación individual y en consorcio con *Bacillus cereus*, *Rhizobium etli* y *Trichoderma harzianum*

Se consideró el porcentaje (%) de germinación o emergencia de las semillas de *P. vulgaris* a los 8 días después de la siembra, luego se realizó el raleo de plantas jóvenes, que consistió en dejar 2 por jarra de Leonard. El primer muestreo de plántula fue hecho a 20 días después de la siembra; mientras que el de floración a los 54 días posteriores. En *P. vulgaris* se midió la fenología aérea y radical; la altura de la planta (AP) y longitud radical (LR). Además de la biomasa; el peso fresco aéreo (PFA) y radical (PFR), se determinó el peso seco aéreo (PSA), y el radical (PSR) ambas se deshidrataron en horno por 48 / 70 °C según Sánchez-Yáñez (2007). Los datos experimentales se analizaron por ANOVA y comparativa de Tukey HSD, $p < 0,05\%$ (Walpole *et al.*, 2007).

3. Resultados y discusión

En la Tabla 2 se muestra la germinación de las semillas de *P. vulgaris* inoculadas individualmente con *B. cereus*, *R. etli* y *T. harzianum* y donde se observó un 91%, 100% y 95% de germinación en 6, 4,83 y 4,5 días, respectivamente. Estos valores fueron estadísticamente diferentes en comparación con el porcentaje de germinación o emergencia en *P. vulgaris* (TF) con 91,7% en 7,17 días. Los valores del porcentaje de germinación en las semillas inoculadas sugieren que *B. cereus*, *R. etli*, y *T. harzianum* al sintetizar SPCV y degradar la capa que recubre el endospermo de la semilla de *P. vulgaris* aceleraron su emergencia (Cupull *et al.*, 2000).

Tabla 2

Por ciento de germinación de semillas de *Phaseolus vulgaris* inoculadas individualmente y consorcio con *Bacillus cereus*, *Rhizobium etli* o *Trichoderma harzianum*

Tratamiento	<i>Phaseolus vulgaris</i> *	
	Días a germinación o emergencia	Porcentaje de germinación (%)
I	7,5±0 ^f	62,5±13,69 ^e
II	7,17±0 ^e	91,7±12,90 ^c
III	6,00±0 ^d	91,66±12,90 ^c
IV	4,83±0 ^b	100±0 ^a
V	4,50±0 ^a	95,83±10,20 ^b
VI	5,33±0 ^c	83,33±20,40 ^d

* Letras distintas indican diferencia estadística al 0,05% según Tukey. Tratamientos de acuerdo a la Tabla 1.

En la Tabla 3 se muestra la respuesta positiva de *P. vulgaris* a la inoculación con *T. harzianum* a nivel de plántula donde el hongo indujo una AP de 36,25 cm con 5,5 hojas y 22 cm de LR, en tanto que en *P. vulgaris* inoculado sólo con *R. etli*, registró una AP de 36,5 cm con 4,75 hojas y 20 cm; ambos valores a dosis reducida de FN o NH_4NO_3 al 50%. Estos valores tuvieron diferencia estadística en comparación a lo observado en *P. vulgaris* (TF) tratado con el FN al 100%; en el que valores registrados en la AP de fue de 29,75 cm, con 4,75 hojas. Lo anterior sugiere que tanto *R. etli* como *T. harzianum* mediante SPCV favorecieron una respuesta positiva de *P. vulgaris* (Sutton y Peng, 1993).

Tabla 3

Efecto de la inoculación de *Phaseolus vulgaris* a plántula con *Bacillus cereus*, *Rhizobium etli* y *Trichoderma harzianum* individual y consorcio microbiano

Tratamiento	<i>Phaseolus vulgaris</i> *		
	Altura de planta (AP) (cm)	Longitud radical (LR) (cm)	Número de hojas
I	21,75±3,09 ^e	15,75±2,06 ^c	3,75±0,5 ^d
II	29,75±7,71 ^d	18,25±0,5 ^b	4,75±0,95 ^b
III	30±6,37 ^c	18,0±1,82 ^b	4,0±0 ^c
IV	36,5±6,45 ^a	20±1,29 ^a	4,75±0,95 ^b
V	36,25±7,36 ^a	22,5±5,0 ^a	5,5±1,0 ^a
VI	36,5±7,50 ^a	20,5±1,29 ^a	4,5±0,5 ^b

* Letras distintas indican diferencia significativa al 0,05% Tukey. Tratamientos de acuerdo a la Tabla 1.

Esto mejoró la capacidad de absorción radical de la leguminosa para optimizar la dosis del FN al 50% (Altomare *et al.*, 1999). Mientras que en lo referente a la LR no se observó diferencia estadística entre la inoculación de los MPCV, de manera individual o en consorcio, en comparación con las mismas variables en el *P. vulgaris* (TF). Lo que indica que algunas de las SPCV producidas en la raíz por los MPCV individualmente o en consorcio ejercen un efecto positivo independientemente de que provengan de un hongo o bacteria y que algunas funcionan sinérgicamente; como fue el caso del consorcio microbiano, excepto cuando la misma leguminosa sin aplicar la dosis del FN o inocular con MPCV (Börkman *et al.*, 1998; Armenta-Bojorquez *et al.*, 2010).

En la Tabla 4 se muestra la respuesta positiva de *P. vulgaris* a la inoculación con *T. harzianum* en función de la biomasa; con 4,72 g de PFA 1,12 g de PSA y 0,80 g de PFR con 0,31 g de PSR, en tanto que *R. etli* mostró un PFA de 4,70 g con 0,72 g de PSA y un PFR de 0,67 g, con 0,21 g de PSR a dosis de NH_4NO_3 al 50%, el valor de 0,21 g de PFR fue superior en comparación con *P. vulgaris* al 100% del FN; con un PFA de 3,66 y 0,52 de PSA en tanto que el PFR fue 0,46 g y de 0,19 g de PSR.

Tabla 4

Respuesta de *Phaseolus vulgaris* en su biomasa a plantúla a la inoculación con *Bacillus cereus*, *Rhizobium etli* o *Trichoderma harzianum*, individual y en consorcio microbiano

Tratamiento	<i>Phaseolus vulgaris</i>			
	Gramos (g) *			
	Peso fresco aéreo	Peso seco aéreo	Peso fresco radical	Peso Seco radical
I	2,74±0,11 ^d	0,14±0,01 ^f	0,25±0,05 ^d	0,16±0,04 ^e
II	3,66±0,63 ^c	0,52±0,09 ^e	0,46±0,07 ^c	0,19±0,06 ^d
III	4,32±0,47 ^a	0,82±0,21 ^b	0,44±0,09 ^c	0,24±0,09 ^b
IV	4,70±1,13 ^a	0,72±0,14 ^c	0,67±0,17 ^b	0,21±0,05 ^c
V	4,72±0,67 ^a	1,12±0,03 ^a	0,80±0,29 ^a	0,31±0,11 ^a
VI	3,71±0,96 ^b	0,65±0,21 ^d	0,46±0,05 ^c	0,19±0,04 ^d

* Letras distintas indican diferencia estadística al 0,05% Tukey. Tratamientos de acuerdo a la Tabla 1.

El efecto de *B. cereus*, *R. etli* y *T. harzianum* en *P. vulgaris* fue análoga a lo

señalado Börkman *et al.* (1998) cuando *Z. mays* se inoculó con este hongo el cual estimulo positivamente su crecimiento, y se reflejó en su fenología y biomasa en comparación con el *Z. mays* (TF) tratado con el FN al 100%: con valores en estas variables respuesta estadísticamente diferentes, e inferiores a las que causaron *B. cereus*, *R. etli* y *T. harzianum*, individualmente e incluso en consorcio (Zapata *et al.*, 2012; Neyra *et al.*, 2013).

En Tabla 5 se muestra la respuesta positiva de *P. vulgaris* inoculado con *B. cereus* *T. harzianum* en su fenología a nivel de floración con AP de 127,5 cm y 128,5 cm, de 10,5 cm y 17,2 hojas y 5,0 y 5,25 flores, estos valores fueron superiores en comparación con los análogos de *P. vulgaris* inoculado con el consorcio microbiano con 110,5 cm de AP 15,5 hojas y 9,75 flores, en tanto que para la LR fue de 43,5 cm fue un valor estadísticamente diferente a los 31,5 cm de *P. vulgaris* inoculado sólo con *T. harzianum*,, estos valores fueron estadísticamente distintos en comparación con las misma variables en *P. vulgaris* (TF) con una AP de 113 cm, 12,5 hojas con 4,75 flores y 32 cm de LR a la dosis del 100% de FN.

Tabla 5

Respuesta de *P. vulgaris* en su fenología a floración a la inoculación con *B. cereus*, *R. etli*, *T. harzianum* individual y en consorcio microbiano

Tratamiento	<i>Phaseolus vulgaris</i> *			
	Centímetros (cm) Altura de la planta	Longitud Radical	Número de hojas	Número de flores
II	113±12,35 ^c	32±2,82 ^b	12,5±2,08 ^d	4,75±0,95 ^d
I	53,75±19,36 ^e	24,7±3,94 ^e	4,0±0,81 ^f	2,25±1,25 ^e
V	128,5±15,11 ^a	32,5±3,10 ^b	17,2±2,36 ^a	5,25±3,30 ^b
IV	116,5±26,04 ^b	31,5±2,64 ^c	14,0±2,94 ^c	4,75±0,95 ^d
III	127,5±36,27 ^a	26,2±3,5 ^d	10,5±6,65 ^e	5,0±4,0 ^c
VI	110,5±12,76 ^d	43,5±4,5 ^a	15,5±7,41 ^b	9,75±3,68 ^a

* Letras distintas indican diferencia significativa al 0.05% Tukey. Tratamientos de acuerdo a la Tabla 1.

Lo anterior indica que el efecto promotor de crecimiento vegetal de *T. harzianum* en *P. vulgaris* coincide con lo reportado por Cupull *et al.* (2000) que usaron *T. harzianum* a en *Solanum lycopersicum* y

observaron un incremento en su altura, en el diámetro del tallo, y en el número de hojas, debido a que tanto *B. cereus* como *T. harzianum* tienen en común la capacidad para convertir exudados de raíz en SPCV y explica porque es posible emplearlas como MPCV (Cubillos-Hinojosa *et al.*, 2009; Caicedo *et al.*, 2010; Camelo *et al.*, 2011 Zapata *et al.*, 2012).

En Tabla 6 se muestra la respuesta positiva de *P. vulgaris* a la inoculación individual con *T. harzianum* y en consorcio con *B. cereus* y *R. etli* en función de su biomasa; con un PFA de 13,43 g, 4,81 g de PSA; con un PFR de 2,95 g y 1,88 g de PSR a dosis reducida de NH_4NO_3 al 50%; *P. vulgaris* tuvo una respuesta positiva de *R. etli* en su PFR con 2,88 g y 1,72 g de PSR, a dosis de 50% de NH_4NO_3 , los valores de la biomasa superaron las mismas variables respuesta en *P. vulgaris* (TF), con 11,13 g con de PFA, 3,57 g de PSA y 2,4 g de PFR y con 1,55 de PSR. Lo anterior sugiere que *T. harzianum* mediante la síntesis de SPCV indujo la proliferación de raíces laterales y aumento de la absorción de minerales *P. vulgaris* a pesar de reducir el FN al 50% (Mohammed, 2004; Caicedo, *et al.* 2010; Prakash *et al.*, 2013).

Tabla 6

Respuesta de *P. vulgaris* en su biomasa a floración a la inoculación con *B. cereus*, *R. etli* y *T. harzianum*: individual y en consorcio microbiano

Tratamiento	<i>Phaseolus vulgaris</i>			
	Gramos (g)			
	Peso fresco aéreo	Peso seco aéreo	Peso fresco radical	Peso seco radical
I	5,19±0,73 ^d	1,01±0,24 ^f	2,04±0,17 ^d	0,71±0,14 ^d
II	11,13±0,86 ^{ab}	3,57±0,67 ^d	2,41±0,33 ^c	1,55±0,20 ^c
III	7,03±1,55 ^c	3,17±0,93 ^e	1,95±0,64 ^c	1,55±0,29 ^c
IV	11,15±2,23 ^b	3,88±0,62 ^c	2,88±0,26 ^b	1,72±0,13 ^b
V	13,43±0,37 ^a	4,81±0,50 ^b	2,95±0,33 ^a	1,88±0,32 ^a
VI	13,44±4,18 ^a	6,19±1,37 ^a	2,39±1,07 ^c	1,51±0,25 ^c

*Letras distintas indican diferencia significativa al 0.05% Tukey. Tratamientos de acuerdo a la Tabla 1.

La respuesta positiva de *P. vulgaris* inoculado con *R. etli* en su raíz, apoya la transformación de exudados en SPCV lo cual estimuló la proliferación de raíces secundarias (Hernández *et al.*, 2004;

García-González *et al.*, 2005; Criollo, *et al.*, 2012), las que aumentaron la capacidad de absorción del sistema de raíces para evitar que la reducción del 50% FN pudiese causar un problema nutricional en la planta, esta acción fue más evidente cuando tanto *R. etli* como *T. harzianum* se aplicaron como consorcio microbiano lo que además es una forma de prevenir enfermedades de la raíz por bacterias y hongos fitopatógenos (Börkman *et al.*, 1998; Bécquer *et al.*, 2011).

4. Conclusiones

Por lo anterior se concluye que *R. etli* como *T. harzianum* tienen afinidad por los exudados de semillas y raíces de *P. vulgaris* para transformarlos en sustancias promotoras del crecimiento vegetal, lo anterior explica su efecto positivo en la fenología y biomasa de esta leguminosa: tanto de manera individual como en consorcio, lo cual puede considerarse como una ventaja para evitar el uso de fungicidas químicos, al mismo tiempo que se permite regular y optimizar la dosis 50% del FN en *P. vulgaris*.

Agradecimientos

Al proyecto 2.7 (2016) de la Coordinación de Investigación Científica de la UMSNH, Morelia Michoacán, México.

Referencias bibliográficas

- Armenta-Bojorquez, A.; García-Gutiérrez, C.; Camacho-Báez, R.; Apodaca-Sánchez, M.; Montoya, L.; Nava-Pérez, E. 2010. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Ra Ximbi* 6: 51-56.
- Altomare, C.; Norvell, W.A.; Björkman, T.; Harman, G.E. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied and environmental microbiology* 65: 2926-2933.
- Börkman, T.; Blanchard, L.; Harman, G. 1998. Growth enhancement of shrunken-sweet corn by *Trichoderma harzianum*: effect of environmental stress. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 23: 295-322.
- Bécquer, C.; Salas, Á.; Palmero, L.; Nápoles, J. 2011. Efecto de la inoculación con rizobios procedentes de Alberta, Canadá, en sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), en condiciones de campo. *Pastos y forrajes* 34: 303-311.
- Caicedo, J.; Orellana, H.; Arahana, V. 2010. Influencia de microorganismos promotores de crecimiento y fijadores de nutrientes, en la producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Tumbaco, Pichincha. Rumipamba* 14:141-149.

- Camelo, R.; Vera, S.; Bonilla, R. 2011. Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Ciencia y tecnología agropecuaria* 12: 159-166.
- Criollo, P.; Obando, M.; Sánchez, M.; Bonill, R. 2012. Efecto de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) asociadas a *Pennisetum clandestinum* en el altiplano cundiboyacense. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 13: 189-195.
- Cubillos-Hinojosa, J.; Valero, N.; Mejía, L. 2009. *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener). *Agronomía Colombiana* 27: 81-86.
- Cupull, S.R.; Sánchez, C.C.; Andreu, C.; Cupull, M.D.C.; Pérez, N.C. 2000. Efecto de *Trichoderma* y *Azotobacter* en el control de *Rhizoctonia solani* y la estimulación del crecimiento de posturas de cafetos. *Centro agrícola* 1: 21-25.
- García-González, M.M.; Farías-Rodríguez, R.; Peña-Cabriales, J.J.; Sánchez-Yáñez, J.M. 2005. Inoculación del trigo var. Pavón con *Azospirillum* spp y *Azotobacter beijerinckii*. *Terra Latinoamericana* 23: 65-72.
- Hernández, A.; Rives, N.; Caballero, A.; Hernández, A.; Heydrich, M. 2004. Caracterización de rizobacterias asociadas al cultivo de maíz en la producción de metabolitos del tipo AIA, sideroforos y ácido salicílico. *Revista Colombiana de biotecnología* 6: 6-13.
- Moreno-Sarmiento, N.; Moreno-Rodríguez, L.; Uribe-Vélez, D. 2007. Biofertilizantes para la agricultura en Colombia. pp. 38-45. En: Izaguirre-Mayoral, M.L.; C. Labandera; J. Sanjuán (eds.). *Biofertilizantes en Iberoamérica: una visión técnica, científica y empresarial*. Imprenta Denad Internacional, Montevideo Colombia.
- Mohammed E. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). *Anales de biología* 26: 35-45.
- Prakash, J.; Yadav, J.; Nath, K.; Kumar, A. 2013. Effect of indigenous *Mesorhizobium* spp and plant growth promoting rhizobacteria on yields and nutrients uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under sustainable agriculture. *Ecological Engineering* 51: 282-286.
- Serna-Cock, L.; Arias-García, C.; Valencia-Hernández, L. 2011. Biofertilización, una alternativa al uso de fertilizantes químicos en caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). *Alimentos Hoy* 20: 69-82.
- Sánchez-Yáñez, J.M. 2007. Breve Tratado de Microbiología Agrícola, teoría y práctica, Ed. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. COSUSTENTA, SA de CV, CIDEM, SEDAGRO. Morelia, Michoacán, México.
- Neyra, S.; Terrones, R.; Toro, C.; Zárate, G.; Soriano, B. 2013. Efecto de la inoculación de *Rhizobium etli* y *Trichoderma viride* sobre el crecimiento aéreo y radicular de *Capsicum annum* var. *longum*. *REBIOLEST* 1:11-71.
- Walpole, R.; Myers, R.; Myers, S.; Keying, Y. 2007. *Probabilidad y Estadística para Ingeniería y Ciencia*. Editorial Pearson. México.
- Zapata, R.; Quiroga, M.; Murillo, B.; Agüero, D.; Lisi, B.; Mena, P. 2012. *Trichoderma* spp biocontrolador y promotor de crecimiento: una alternativa al uso de agroquímicos en cultivos intensivos. *Avances en energías renovables y medio ambiente* 16: 47-55.