



Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a la inoculación de diferentes dosis de *Trichoderma harzianum* con el fertilizante nitrogenado reducido al 50%

Response of *Phaseolus vulgaris* to inoculation to different dose of *Trichoderma harzianum* with nitrogen fertilizer reduced at 50%

Márquez-Benavidez Liliana^{1,2}, Rizo-León Miguel Ángel¹, Montañón-Arias Noé Manuel³, Ruiz-Nájera Ramiro⁴, Sánchez-Yáñez Juan Manuel^{1*}

Datos del Artículo

¹Laboratorio Microbiología Ambiental. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich, México.

²Medio Ambiente y Residuos Sólidos, Instituto de Investigaciones Agrícolas Pecuarías y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich, México.

³Área Botánica, Unidad Iztapalapa, Universidad Autónoma Metropolitana, Cd de México, México.

⁴Facultad de Ciencias Agronómicas, Campus V, Apartado Postal 78, Universidad Autónoma de Chiapas, Villa flores, Chis, México.

*Dirección de contacto:

Laboratorio de Microbiología Ambiental, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Ed-B3 C.U. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich, México.

Juan Manuel Sánchez-Yáñez

E-mail address :
syanez@umich.mx

Palabras clave:

Phaseolus vulgaris,
dosis de inóculo,
Trichoderma harzianum,
fertilizante nitrogenado,
absorción radical.

Resumen

En México el cultivo de *Phaseolus vulgaris* (frijol) requiere de fertilizante nitrogenado (FN) para suplir su demanda nutricional una de los comunes es el NH_4NO_3 (nitrato de amonio), que en exceso, causa pérdida de productividad del suelo. En *P. vulgaris* una alternativa ecológica para optimizar la aplicación de FN reducido al 50 % es inocularlo con microorganismos promotores del crecimiento vegetal del tipo *Trichoderma harzianum*, que pueden mejorar la capacidad de absorción radical del FN. El objetivo de esta investigación fue analizar la respuesta de *P. vulgaris* a la inoculación con 3 dosis de *T. harzianum* con NH_4NO_3 reducido al 50%. El experimento se realizó en invernadero, bajo un diseño experimental de bloques al azar: con 5 tratamientos y 5 repeticiones, ahí 100 g de semillas de *P. vulgaris* se inocularon con: 10 g, 20 g, 30 g de *T. harzianum* respectivamente, las semillas se sembraron en jarras de Leonard con el FN al 50%: las variables respuesta utilizadas fueron: porcentaje (%) y días de germinación, fenología: altura de plántula (AP) y longitud radical (LR); biomasa: peso fresco/seco aéreo y radical (PFA/PFR) / (PSA/PSR) a plántula, floración y madurez fisiológica, los datos experimentales se analizaron por ANOVA/Tukey HSD $p < 0.01$ %. Los resultados indican que la inoculación de semillas de *P. vulgaris* con *T. harzianum* independientemente de la dosis decrecieron el tiempo de emergencia de las semillas, comparado con la semilla sin inocular irrigada solo agua y/o alimentada con una solución mineral, a plántula con la dosis 30 g de *T. harzianum*/100 g de semilla al 50% del FN registro un 0.14 g de PSR valor numérico comparado con los 0.08 g de PSR de *P. vulgaris* sin inocular con el FN al 100% o control relativo (CR), a floración con 20 g de *T. harzianum*/100 g de semilla con el FN al 50%, registro 3.2 g de PSR valor numérico estadísticamente diferente a los 1.4 g PSR de *P. vulgaris* o CR; a madurez fisiológica, con 30 g de *T. harzianum*/100 g de semilla con el FN al 50%, registro un PF de 4.2 g del grano, un PS de 1.2 g, ambos valores numéricos fueron estadísticamente diferentes a los 1.9 g de PF, 0.6 g de PS del grano en *P. vulgaris* (CR). Lo anterior sugiere que *T. harzianum* con el FN al 50%, ejercieron un efecto positivo sobre la fenología y biomasa de *P. vulgaris*, probablemente mediante la conversión de exudados de semillas y raíces en sustancias promotoras del crecimiento vegetal (SUPOCEVE), que optimizaron el FN al aumentar la cantidad de raíces y capacidad de absorción radical, de acuerdo con la dosis de inóculo de *T. harzianum*, empleado sin afectar su sano crecimiento y evitaron el excedente del FN que causa la pérdida de la productividad del suelo.

© 2017. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

The production of *Phaseolus vulgaris* (bean) requires nitrogen fertilizer (NF) as a NH_4NO_3 (ammonium nitrate), NF in excess causes soil's lost productivity. An ecological alternative to optimize the use NF reduced at 50% in *P. vulgaris* is to inoculate it with a plant growth promoting microorganisms (PGPM) as well as *Trichoderma harzianum*. The objective of this research was to analyze *Phaseolus vulgaris*'s response to *T. harzianum* at of NH_4NO_3 doses reduced at 50%. In that way *P. vulgaris* was inoculated with *T. harzianum* at 3 different doses 10 g, 20 g and 30 g/ 100 g of *P. vulgaris*. In that sense bean was sowing in Leonard jars with 50% NF under an experimental

J. Selva Andina Res. Soc.
2017; 8(2):125-134.

Historial del artículo.

Recibido Diciembre, 2016.
Devuelto mayo 2017
Aceptado junio, 2017.
Disponible en línea, agosto, 2017.

Editado por:
Selva Andina
Research Society

Key words:

Phaseolus vulgaris,
doses of inoculant,
Trichoderma harzianum,
nitrogen fertilizer,
radical absorption,
phytohormones.

design of random blocks: 5 treatments and 4 replicates. While t variable-variables used were: percentage (%), days of germination, phenology: plant height (SH) and root length (RL), and biomass: aerial and root fresh weight as well as dry weight (AFW / ADW) / (RFW / RDW) at seedlings, flowering and physiological maturity stages, experimental data were analyzed by ANOVA / Tukey HSD $P < 0.01\%$. The results indicate that at the germination *T. harzianum* caused a positive effect on time of *P. vulgaris* seed were able to germinate. At seedling stage of *P. vulgaris* with 30 g of *T. harzianum*/100 g of seed at NH_4NO_3 at 50% was recorded 0.14 g of higher of RWF compared to 0.08 g RDW of *P. vulgaris* with NH_4NO_3 at 100% or relative control (RC) at flowering stage *P. vulgaris* with 20 g of *T. harzianum*/100 g of seed NH_4NO_3 at 50% recorded 3.2 g of RDW value was statistically different to 1.4 g RDW of *P. vulgaris* using as a RC, at physiological maturity, *P. vulgaris* with 30 g of *T. harzianum*/100 g of seed with NH_4NO_3 at 50% recorded a fresh weight seed (FWS) of 4.2 g per seed and a dry weight seed (DWS) of 1.2 g values higher 1.9 g of FWS and 0.6 g DWS/g of *P. vulgaris* or RC. Results showed by the phenology and biomass indicate a positive response in *P. vulgaris*, due a *T. harzianum* which transformed seed and root exudates in plant growth promoting substances or phytohormones, for optimizing NH_4NO_3 reduced at 50% by increasing the amount of roots which improved *P. vulgaris*'s absorption radical to keep plant health.

© 2017. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivia. All rights reserved.

Introducción

En México el cultivo *Phaseolus vulgaris* (frijol) es de importancia agronómica por su elevado consumo, para suplir su demanda nutricional básica, requiere fertilizante nitrogenado (FN); en forma de NH_4NO_3 (nitrato de amonio), que es uno de los estados minerales más simple de absorción radical (Yedia *et al.* 2001, Lara-Flores 2015), no obstante, cuando el FN se aplica en exceso, causa la pérdida de la productividad del suelo, en parte al acelerar la mineralización de la materia orgánica que es la reserva de C (carbono) en el suelo, lo que afecta su fertilidad, al mismo tiempo el NH_4NO_3 que no es absorbido es potencialmente un contaminante de agua superficial y acuíferos (Inbar *et al.* 1994, Palafox-Caballero *et al.* 2005, Armenta-Bojórquez *et al.* 2010). Una alternativa de solución ecológica, para una absorción eficaz del FN en el cultivo de *P. vulgaris* es reducir y optimizar esa dosis con microorganismos promotores del crecimiento vegetal, *Trichoderma harzianum* (Windham *et al.* 1985, Cubillos-Hinojosa *et al.* 2009, López *et al.* 2010, Chungata-Tacuri 2014), tiene la capacidad de convertir los exudados de raíz en sustancias promotoras del

crecimiento vegetal (SUPOCEVE) como el ácido 3-indol acético (AIA), que incrementa la cantidad de pelos radicales, que exploran el suelo y mejoran la absorción radical del NH_4NO_3 (Sánchez *et al.* 2005, Jiménez *et al.* 2011). Normalmente *T. harzianum* es bien conocido porque se recomienda, para el control de hongos y bacterias fitopatógenos, pero poco en relación como HOPOCEVE en especial el efecto de la densidad del inoculo en la respuesta de *P. vulgaris*, cuando la dosis del FN se reduce al 50% (Suárez Meza *et al.* 2008), sin afectar su sano crecimiento, además de que ello representa una opción distinta a la convencional basada en *Rhizobium etli*, que puede resolver la demanda nutricional de *P. vulgaris* por el N (nitrógeno), fundamental en el sano crecimiento de esta leguminosa, pero que ofrece ningún tipo de prevención de enfermedades causadas por bacterias y hongos fitopatógenos en *P. vulgaris*. Sin embargo dado que el conocimiento sobre el empleo de diferentes dosis de *T. harzianum* en la producción de *P. vulgaris* es limitada, en especial relacionado con la fertilización nitrogenada, se pretende que con esta investigación, dar un valor potencial a *T. harzianum*, como una interesante y prometedora opción para la optimización del FN

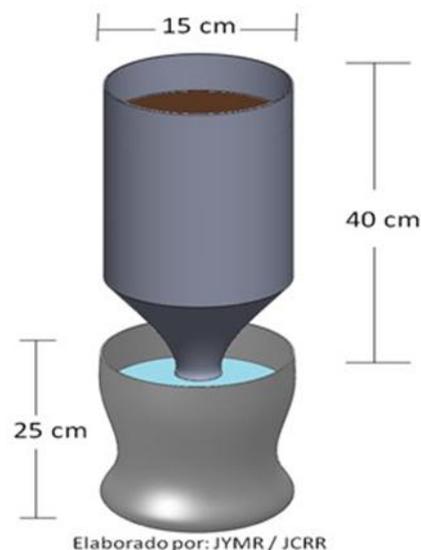
reducido a un nivel crítico, pues el N es uno de los insumos de mayor valor económica requeridos para su cultivo. Por lo anterior el objetivo del trabajo fue analizar la respuesta de *P. vulgaris* a la inoculación a 3 dosis de *T. harzianum* con el FN reducido al 50%.

Materiales y métodos

El ensayo se realizó en el invernadero del Laboratorio de Microbiología Ambiental del IIQB-UMSNH en jarras de Leonard (Fig. 1), las condiciones microclimáticas promedio en este invernadero fueron: temperatura de 23.2 °C, luminosidad de 450 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y humedad relativa de 67%. *P. vulgaris* se sembró para analizar su respuesta a *T. harzianum* a dosis de 10 g, 20 g y 30 g/100 g de semilla con el 50% del FN. Para ello en la base de la jarra se colocó 500 mL del FN en forma de NH_4NO_3 , en concentración 1.0 g/L o 100% y 0.5 g/L o 50% (de la dosis del FN recomendada para esta región del país) (Lara-Flores 2005) a pH 6.8-7.0. La base de la jarra se unió con algodón al recipiente con el FN (García-González *et al.* 2005) que permitió el paso desde la base hasta la parte superior que contenía un 1 kg de suelo: previamente el suelo se solarizó para reducir plagas y enfermedades (Banks *et al.* 2003), posteriormente se tamizó con una malla del N° 20. Este suelo se clasificó como arcilloso con pH moderadamente ácido de 6.02, bajo contenido de materia orgánica de 3.58%, alta capacidad de intercambio catiónico de 26.64 C mol (+) Kg^{-1} , con una textura: arcilla 50%, limo 7% y arena 43% (Basumatary *et al.* 2012). En la Tabla 1 se muestran el diseño experimental de bloques al azar con 5 tratamientos y 3 repeticiones (García-González *et al.* 2005). El suelo de cada jarra se irriego con agua potable antes de

sembrar 4 semillas de *P. vulgaris* por inoculado con *T. harzianum*.

Figura 1 Jarra de Leonard (García-González *et al.* 2005)



Origen de la cepa de Trichoderma harzianum. Se utilizó una cepa de *T. harzianum* liofilizada, originalmente aislada de materia orgánica en descomposición (Romero-García *et al.* 2016), proporcionada por el Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Inoculación de la semilla de Phaseolus vulgaris con Trichoderma harzianum. Las semillas de *P. vulgaris* se desinfectaron con hipoclorito de sodio (Clorox®) al 0.6% /5 min, luego se enjuagaron 5 veces con agua potable estéril, se desinfectaron con alcohol 70%/5 min, se enjuagaron 5 veces con agua potable estéril, entonces 64 semillas se depositaron en una bolsa de plástico 100 g para cada tratamiento como se señala en la Tabla 1, Para ello se emplearon con 10 g, 20 g y 30 g de *T. harzianum*/100 g de semilla de *P. vulgaris*.

Para determinar la densidad del inóculo del hongo se empleó la técnica de cuenta viable en placa en

agar papa dextrosa, mediante diluciones seriadas en NaCl 0.85% (solución salina) y detergente al 0.1% (la Corona^{MR}), inicialmente había 4×10^6 unidades formadores de propagulos o UFP/g de inoculo (Sánchez-Yáñez 2007, Romero-García et al. 2017).

Variables respuesta de Phaseolus vulgaris a la inoculación con tres dosis Trichoderma harzianum. Para esta etapa se tomaron en cuenta las variables-respuesta: porcentaje (%) de germinación y días a emergencia de las semillas de *P. vulgaris* a los 8 días después de la siembra. El primer muestreo se realizó a plántula aproximadamente 20 días posteriores de la siembra, la floración a los 57 días y la madurez fisiológica a los 90 días después de la siembra.

El diseño experimental consistió en 5 tratamientos fueron: *T. harzianum* 3 dosis (10, 20 y 30 g/ 100 g de *P. vulgaris* con NH_4NO_3 al 50%, *P. vulgaris* sin inocular con NH_4NO_3 al 100% o control relativo (CR), *P. vulgaris* irrigado solo con agua o control absoluto (CA): las variables-respuesta de *P. vulgaris* a *T. harzianum* fueron la fenología altura de planta (AP) y longitud radical (LR), y la biomasa, el peso fresco aéreo (PFA) y peso fresco radical (PFR), el peso seco aéreo (PSA) y el peso seco radical (PSR, todos los datos experimentales se analizaron por ANOVA / Tukey HSD, $p < 0.01\%$ (Walpole et al. 2007).

Tabla 1 Diseño experimental para evaluar la respuesta de *Phaseolus vulgaris* a la inoculación a 3 dosis de *Trichoderma harzianum* con el NH_4NO_3 al 50%

Tratamiento (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	H ₂ O (agua)	NH ₄ NO ₃ al 50%	NH ₄ NO ₃ al 100%	<i>Trichoderma harzianum</i>
Control absoluto (CA)	+	-	-	-
Control relativo (CR)	-	-	+	-
Tratamiento 1 (T1)	-	+	-	10 g/100 g de <i>Phaseolus vulgaris</i>
Tratamiento 2 (T2)	-	+	-	20 g/100 g de <i>Phaseolus vulgaris</i>
Tratamiento 3 (T3)	-	+	-	30 g/100 g de <i>Phaseolus vulgaris</i>

(+)= aplicado; (-) = si aplicar

Resultados

En la Tabla 2 se muestra el porcentaje (%) de germinación y los días a emergencia de *P. vulgaris* inoculado con *T. harzianum*, el NH_4NO_3 al 50%; y la dosis de 30g de *T. harzianum*/100 g de semilla, se registró un 93.8 % de germinación en 4.5 días de emergencia, *P. vulgaris* con 20 g de *T. harzianum*/100 g se registró un 90.6 % de germinación en 4.5 días de emergencia, estos valores numéricos fueron estadísticamente diferentes comparados con los 93.8 % de germinación en 7.3 días de emergencia en *P. vulgaris* alimentado con el NH_4NO_3 al 100 % o CR.

En la Tabla 3, se muestra la fenología a nivel plántula de *P. vulgaris*, en donde la dosis 30 g de *T. harzianum*/100 g de semilla con el NH_4NO_3 al 50% registro una AP de 12.7 cm y una LR de 18.4 cm, mientras que *P. vulgaris* a la dosis 20 g de *T. harzianum*/100 g de semilla con el NH_4NO_3 al 50%, alcanzo una AP de 14.4 cm y una LR de 18.1 cm; estos valores numéricos fueron estadísticamente distintos comparados con la AP de 19.6 cm y LR de 17.5 cm en *P. vulgaris* alimentado con el NH_4NO_3 al 100% o CR.

Tabla 2 Porcentaje de germinación y días a emergencia de semillas de *Phaseolus vulgaris* a tres dosis de *Trichoderma harzianum* con el NH₄NO₃ al 50%

<i>Phaseolus vulgaris</i>	Porcentaje de germinación (%)	Días de emergencia
Sin inocular NH ₄ NO ₃ al 100 % control relativo (CR)	93.8 *a ± 0.94	7.3 *c ± 0.07
<i>Trichoderma harzianum</i> 10 g/100 g semilla (T1)**	70.3 *c ± 0.70	5.8 *b ± 0.06
<i>Trichoderma harzianum</i> 20 g/100 g semilla (T2)	90.6 *b ± 0.90	4.5 *a ± 0.05
<i>Trichoderma harzianum</i> 30 g/100 g semilla (T3)	93.8 *a ± 0.94	4.5 *a ± 0.05

*=Valores con letras distintas tienen diferencia estadística según Tukey < 0.01%. ± =Error estándar. **=NH₄NO₃ al 50%.

Tabla 3 Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a tres dosis de *Trichoderma harzianum* con el NH₄NO₃ al 50% en su fenología a nivel de plántula

<i>Phaseolus vulgaris</i>	Fenología	
	Altura de planta (cm)	Longitud radical (cm)
Sin inocular irrigado con agua, o control absoluto (CA)	20.3 *a ± 0.2	14.7 *d ± 0.14
Sin inocular NH ₄ NO ₃ al 100% o control relativo (CR)	19.6 *b ± 0.19	17.5 *b ± 0.18
<i>Trichoderma harzianum</i> 10 g/100 g semilla (T1)**	16.4 *c ± 0.16	16.6 *c ± 0.17
<i>Trichoderma harzianum</i> 20 g/100 g semilla (T2)	14.4 *d ± 0.14	18.1 *a ± 0.18
<i>Trichoderma harzianum</i> 30 g/100 g semilla (T3)	12.7 *e ± 0.12	18.4 *a ± 0.18

*=Valores con letras distintas tienen diferencia estadística según Tukey < 0.01%. ± Error estándar. **=NH₄NO₃ al 50%.

Tabla 4 Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a tres dosis de *Trichoderma harzianum* con el NH₄NO₃ al 50% sobre su biomasa a nivel de plántula

<i>Phaseolus vulgaris</i>	Biomasa			
	Peso fresco aéreo (g)	Peso fresco radical (g)	Peso seco aéreo (g)	Peso seco radical (g)
Sin inocular irrigado con agua o control absoluto	3.08b* ± 0.03	0.84e ± 0.01	0.23d ± 0.002	0.06e ± 0.001
Sin inocular con el NH ₄ NO ₃ al 100% o control relativo (CR)	3.64a ± 0.04	1.33d ± 0.01	0.28a ± 0.003	0.08d ± 0.001
<i>Trichoderma harzianum</i> 10 g / 100 g semilla (T1)**	2.45d ± 0.02	1.4c ± 0.01	0.22e ± 0.002	0.12b ± 0.001
<i>Trichoderma harzianum</i> 20 g / 100 g semilla (T2)	3.11b ± 0.03	1.65a ± 0.02	0.27b ± 0.003	0.11c ± 0.001
<i>Trichoderma harzianum</i> 30 g / 100 g semilla (T3)	2.51c ± 0.03	1.56b ± 0.02	0.25c ± 0.002	0.14a ± 0.001

*=Valores con letras distintas tienen diferencia estadística según Tukey < 0.01%. ± =Error estándar. **=NH₄NO₃ al 50%.

Tabla 5 Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a tres dosis de *Trichoderma harzianum* con el NH₄NO₃ al 50% en su biomasa, a nivel de floración

<i>Phaseolus vulgaris</i>	Biomasa			
	Peso fresco aéreo (g)	Peso fresco radical (g)	Peso seco aéreo (g)	Peso seco radical (g)
Sin inocular irrigado con agua o control absoluto	12.9e* ± 0.13	5.8d ± 0.06	1.9e ± 0.02	0.6e ± 0.01
Sin inocular con NH ₄ NO ₃ al 100% o control relativo	35.4d ± 0.35	13.6c ± 0.14	5.1b ± 0.05	1.4d ± 0.01
<i>Trichoderma harzianum</i> 10 g / 100 g semilla**	34.3c ± 0.34	21.2b ± 0.21	5.4d ± 0.05	2.2b ± 0.02
<i>Trichoderma harzianum</i> 20 g / 100 g semilla	42.5a ± 0.45	23.9a ± 0.24	7.0a ± 0.07	3.2a ± 0.03
<i>Trichoderma harzianum</i> 30 g / 100 g semilla	33.5d ± 0.34	13.6c ± 0.14	5.0c ± 0.05	2.1 *c ± 0.02

*=Valores con letras distintas tienen diferencia estadística según Tukey < 0.01%. ± =Error estándar. **=NH₄NO₃ al 50%.

Tabla 6 Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a tres dosis de *Trichoderma harzianum* con el NH_4NO_3 al 50% sobre el peso fresco y seco de elementos del rendimiento a nivel de madurez fisiológica

<i>Phaseolus vulgaris</i>	Numero vaina/planta	Numero granos/vaina	Peso fresco promedio (g)	Peso seco promedio (g)
Sin inocular irrigado con agua (control absoluto)	4.8 ^c ± 0.05	3.1b ± 0.03	1.9e ± 0.02	0.6d ± 0.01
Sin inocular con NH_4NO_3 al 100% (control relativo)	3.8 d ± 0.04	2.7d ± 0.03	3.1c ± 0.03	0.8c ± 0.01
<i>Trichoderma harzianum</i> 10 g/100 g semilla (T1)**	3.5e ± 0.04	4.2a ± 0.04	2.8d ± 0.03	0.8c ± 0.01
<i>Trichoderma harzianum</i> 20 g/100 g semilla (T2)	5.0b ± 0.05	3.1b ± 0.03	3.3b ± 0.03	0.9b ± 0.01
<i>Trichoderma harzianum</i> 30 g/100 g semilla (T3)	7.8a ± 0.08	3.0c ± 0.03	4.2a ± 0.04	1.2a ± 0.01

* Valores con letras distintas tienen diferencia estadística según Tukey < 0.01%. ± Error estándar. **= NH_4NO_3 al 50%.

En la Tabla 4, se muestra la respuesta de *P. vulgaris* a la dosis 20 g de *T. harzianum*/100 g de semilla con el NH_4NO_3 en función de la biomasa, que registro valores en el PFA con 3.11 g, un PSA de 0.27 g, con un PFR de 1.65 g, un PSR de 0.11 g. Mientras que *P. vulgaris* con la dosis 30 g de *T. harzianum*/100 g de semilla con el NH_4NO_3 al 50%, que registro un PFA de 2.51 g, un PSA de 0.25 g, un PFR de 1.56 g, un PSR de 0.14 g, estos valores fueron estadísticamente diferentes comparados con el PFA de 3.64 g, el PSA de 0.28 g, el PFR de 1.33 g y el PSR de 0.08 g en *P. vulgaris* alimentado con el NH_4NO_3 al 100% o CR.

Los valores numéricos registrados en la Tabla 5, muestran la respuesta de *P. vulgaris* a *T. harzianum* en función de la biomasa, en donde con la dosis 20 g de *T. harzianum*/100 g de semilla con NH_4NO_3 al 50%, genero un PFA de 42.5g, un PSA de 7 g, un PFR de 23.9 g y un PSR de 3.2 g, estos valores numéricos estadísticamente diferentes comparados con el PFA de 35.4 g y PSA de 5.1 g con un PFR de 13.6 g y PSR de 1.4 g en *P. vulgaris* con el NH_4NO_3 al 100% o CR.

En la Tabla 6 se muestra la respuesta de *P. vulgaris* a tres dosis de *T. harzianum* con el NH_4NO_3 al 50% a madurez fisiológica, con la dosis de 30 g de *T. harzianum*/100 g semilla con el NH_4NO_3 al 50% registro un PF de grano de 4.2 g, un PS de grano de 1.2 g, ambos valores numéricos fueron estadísticamente diferentes al PF del grano con 1.9 g, el PS del

grano con 0.6 g en *P. vulgaris* no inoculado con el NH_4NO_3 al 100% o CR.

Discusión

En la Tabla 2 se muestra el porcentaje (%) de germinación y los días a emergencia de *P. vulgaris* con la dosis de 30 g de *T. harzianum*/100 g semilla con el NH_4NO_3 al 50 %, sugieren que la inoculación del hongo en *P. vulgaris*; indujo mediante un mecanismo dependiente de SUPOCEVE, derivadas del conocido efecto espermatofera, en el cual cuando la semilla embebe agua, se activa el metabolismo del almidón en el cotiledón, en consecuencia se generan compuestos orgánicos (ácidos orgánicos, aminoácidos y vitaminas), relacionados con la degradación del endospermo de la semilla, pues de acuerdo con la literatura, se inducen enzimas que facilitan el rompimiento de la cubierta, con lo que se acorta el tiempo de germinación de la semilla (Windham et al. 1985), la primer acción benéfica de *T. harzianum* durante la colonización del primordio de raíz, que causara que el efecto positivo se mantenga durante todas las etapas del crecimiento de *P. vulgaris* (Chungata-Tacuri 2014, Romero-García et al. 2016). Mientras que los valores numéricos en esta fase, fueron estadísticamente diferentes comparados con los mismas variables en *P. vulgaris* alimentado solo con el NH_4NO_3 al 100 % o CR.

En la Tabla 3 se presenta la respuesta de *P. vulgaris* en su fenología a nivel de plántula, con la dosis de 30 g de *T. harzianum*, ahí los valores numéricos relacionados con la AP y la LR, sugieren indirectamente una posible conversión de los exudados radicales en SUPOCEVE del tipo del ácido indol acético (AIA), que induce a una mayor cantidad de pelos radicales, los que aumentan la capacidad de exploración del sistema radical en el suelo (Cubillos-Hinojosa *et al.* 2009) para optimizar el FN reducido al 50%, lo anterior apoya que *T. harzianum*, en *P. vulgaris* podría ser una opción en su producción sustentable, que evite la hiperfertilización nitrogenada, que causa pérdidas de N (nitrógeno) por lixiviación o volatilización, cuando las raíces de la *P. vulgaris* son incapaces de absorber tal cantidad del FN, además de que el exceso de N, derivado del FN que no se absorbe, causa la degradación de la materia orgánica asociada con la fertilidad del suelo (Chungata, 2014). Los valores numéricos registrados de la LR del *P. vulgaris* mostraron una diferencia estadística comparada con la misma variable respuesta en *P. vulgaris* alimentada con el NH_4NO_3 al 100% o CR.

En la Tabla 4, se presenta que en específico con la dosis 30 g de *T. harzianum*/100 g semilla de *P. vulgaris* con el NH_4NO_3 al 50 % donde se registró, el mayor valor de PSR, dado que este hongo al colonizar la raíces, de acuerdo con la literatura, provoca cambios en la biomasa que son evidentes, el incremento en el PSR, sugiere que podría convertir los exudados radicales ricos en compuestos de C (carbono) del tipo ácido y aminoácidos, en SUPOCEVE, las que según la literatura y los valores numéricos de PSR, indujeron una mayor mitosis y cariocinesis que en consecuencia permite el incremento en el peso de la raíz (Yedidia *et al.* 2001, López *et al.* 2010), este hecho

indica que la inoculación de *T. harzianum* tiene potencial para emplearse en más de una especie vegetal, para una agricultura con tendencia a la sustentabilidad, pues se ha demostrado que la transformación de los exudados radicales de *P. vulgaris*, son similares a aquellos descritos en otras plantas domesticas (Jiménez *et al.* 2011), en relación el valor numérico del PSR del *P. vulgaris* fue estadísticamente diferente comparado con el misma variable en *P. vulgaris* usado como CR, lo que apoya que la inoculación con *T. harzianum* puede ejercer un efecto nutricional similar al registrado cuando le leguminosa se alimenta con dosis recomendada para un sano crecimiento (Lara-Flores 2015).

En la tabla 5, se muestra el efecto positivo de 20g de *T. harzianum* /100 g *P. vulgaris* con el NH_4NO_3 al 50% donde se registró un PSA de 7 g un PSR de 3.2 g, datos que indirectamente indican la posible conversión de los exudados de la raíz de los exudados de raíz en SUPOCEVE, sintetizados por *T. harzianum* en zona de la planta asociada con la absorción del FN que de acuerdo con la literatura al respecto, tales sustancias reguladores estimularon la mitosis y cariocinesis (Yedidia *et al.* 2001) simultáneamente una proliferación de raíces secundarias que mejoraron la absorción y la optimización del FN (Inbar *et al.* 1994), disponible en el suelo, López *et al.* 2010), a pesar de reducirlo al 50%. En relación a los valores numéricos de la biomasa de *P. vulgaris* inoculado con *T. harzianum* fueron estadísticamente diferentes a los 5.4 g de PSA y 2.2 g de PSR de *P. vulgaris* alimentado con el NH_4NO_3 al 100% o CR. Además de que se registró un efecto positivo de las dosis 20 g y 30 g de *T. harzianum*/100 g semilla de *P. vulgaris* con el NH_4NO_3 , al 50%, sin que se haya detectado un problema

nutricional en la demanda nutricional de la leguminosa, lo cual indirectamente demuestra la optimización del FN, cuando sus raíces fueron colonizadas por *T. harzianum*, en principio tanto por las esporas como por el micelio (Sánchez *et al.* 2005), pues está demostrado que este hongo utiliza los exudados de la raíz como fuente de carbono (C) y energía (Caicedo *et al.* 2010, Camargo-Cepeda *et al.* 2013), finalmente dado que *T. harzianum* también posee la capacidad para la generación de antimicrobianos, en las raíces vegetales contra bacterias y hongos fitopatógenos (Suárez-Meza *et al.* 2008), es posible que la colonización de la semilla y raíces también prevengan o reduzca considerablemente problema de enfermedades vegetales por agente biológicos (Windham *et al.* 1985, Jiménez *et al.* 2011). Con base en los resultados anteriores se concluye que es conveniente seleccionar la dosis de *T. harzianum* suficiente para alcanzar los mejores resultados en *P. vulgaris* en especial cuando, como primer acción optimizar el FN, bajo la consideración de que los propagulos de este hongo tienen una limitada supervivencia en el suelo. Mientras que la respuesta positiva de *P. vulgaris* a *T. harzianum*, se constituye con otra opción interesante para la producción sustentable de *P. vulgaris* en comparación con *Rhizobium etli*, puesto que *T. harzianum* tiene la ventaja de que además de su actividad como promotor de crecimiento vegetal, además previene el ataque de bacterias y hongos fitopatógenos, en el sistema radical de la leguminosa, de esta forma la inoculación de *T. harzianum* en *P. vulgaris* podría resolver dos problemas: uno de orden nutricional y el otro fitosanitario.

Conflictos de intereses

Los autores de este artículo, declaran que en la planeación, ejecución y redacción no existe conflicto de intereses, tampoco con las instituciones relacionadas y con aquellas que apoyaron económicamente su realización.

Agradecimientos

Al proyecto 2.7 (2017) “Aislamiento y selección de microorganismos promotores de crecimiento vegetal de desierto y bosque”; de la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich, México.

BIONUTRA, S.A de C.V, Maravatío, Micho, México A CONACYT-FORDECYT-SICDET del Gobierno del Estado de Michoacán por beca para el segundo autor.

Literatura citada

- Armenta-Bojórquez AD, García-Gutiérrez C, Camacho-Báez JR, Apodaca-Sánchez MA, Gerardo-Montoya L, Nava-Pérez E. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Ra Ximbi* 2010; 6(1):51-6.
- Banks MK, Kulakow P, Schwab AP, Chen Z, Rathbone K. Degradation of crude oil in the rhizosphere of *Sorghum bicolor*. *Int J Phytoremediation* 2003; 5(3):225-34.
- Basumatary B, Bordoloi S, Sarma HP. Crude oil-contaminated soil phytoremediation by using *Cyperus brevifolius* (Rottb.) Hassk. *Water Air Soil Pollut* 2012; 223(6):3373-83.
- Caicedo J, Orellana H, Arahana V. Influencia de microorganismos promotores de crecimiento y

- fijadores de nutrientes, en la producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tumbaco, Pichincha. Rumipamba 2010; 14:141-9.
- Camargo-Cepeda D, Ávila ER. Efectos del *Trichoderma* sp. sobre el crecimiento y desarrollo de la arveja (*Pisum sativum* L.). Ciencia y Agricultura 2013; 91-100.
- Chungata-Tacuri LB. Determinar la compatibilidad y el tiempo de sobrevivencia de cuatro microorganismos benéficos de uso agrícola: *Trichoderma harzianum*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces lilacinus* en Bioles. [Tesis de Maestría] Universidad Técnica de Ambato. Ecuador. 2014; p. 85. (Inédita).
- Cubillos-Hinojosa J, Valero N, Mejía L. *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa* Degener). Agron Colomb 2009; 27(1):81-6.
- García-González MM, Farías-Rodríguez R, Peña-Cabrales JJ, Sánchez-Yáñez JM. Inoculación del trigo var. Pavón con *Azospirillum* spp. y *Azotobacter beijerinckii*. Terra Latinoam 2005; 23(1):65-72.
- Inbar J, Abramsky M, Cohen D, Chet I. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. European Journal of Plant Pathology 1994; 100:337-46.
- Jiménez C, Sanabria de Albarracín N, Altuna G, Alcano M. Efecto de *T. harzianum* (Rifai) sobre el crecimiento de *Lycopersicon esculentum* (Tomate). Rev Fac Agron (Luz) 2011; 28(1): 1-10.
- Lara-Flores M. El cultivo de frijol en México. Rev Digit Univ 2015; 16(2):1-11.
- López Y, Pineda J, Hernández A, Ulacio D. Efecto del crecimiento de seis tratamientos de *Trichoderma* sobre la severidad de *Rhizoctonia solani*, desarrollo radical y crecimiento en las plantas de maíz. Bioagro 2010; 22(1):37-42.
- Palafox-Caballero A, Tosquy-Valle OH, Sierra-Macías M, Turrent-Fernández A, Espinosa-Calderón A. Respuesta de híbridos de maíz normales y de alta calidad de proteína a la fertilización química. Terra Latinoam 2005; 23(1):129-35.
- Romero-García VE, García-Ortiz VR, Hernández-Escañero JJ, Sánchez-Yáñez JM. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a microorganismos promotores de crecimiento vegetal. Scientia Agropecuaria 2016; 7(3):313-19.
- Sánchez J, Valencia H, Valero NO. Producción de ácido indolacético por microorganismos solubilizadores de fosfatos presentes en la rizósfera de *Espeletia grandiflora* y *Calamagrotis effusa* del páramo El Granizo. En: Bonilla MA, Editor. Estrategias adaptativas de plantas del páramo y del bosque altoandino en la cordillera oriental de Colombia. Unibiblos. Bogotá, Colombia, 2005; p. 177-93. (Inédita).
- Sánchez-Yáñez JM. 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. 978-970-954-241-7 Morelia, Michoacán, México; 2007.
- Suárez-Meza CL, Fernández-Barbosa RJ, Valero NO, Gámez-Carrillo RM, Páez-Redondo AR. Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá. Rev Colomb Biotecnol 2008; 10(2):35-43.

Walpole RE, Myers RH, Myers SL, Ye K. Probabilidad y Estadística para Ingeniería y Ciencia. 8va Ed. Editorial Pearson. México; 2007.

Windham M, Elad Y, Baker R. A Mechanism for Increased Plant Growth by *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 1985; 76:518-21.

Yedidia I, Srivastva A, Kapulnik Y, Chet I. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and soil* 2001; 235:235-42.
