Journal of Agriculture and Environmental Sciences
December 2021, Vol. 10, No. 2, pp. 29-34
ISSN: 2334-2404 (Print), 2334-2412 (Online)
Copyright © The Author(s). All Rights Reserved.
Published by American Research Institute for Policy Development
DOI: 10.15640/jaes.v10n2a4
URL: https://doi.org/10.15640/jaes.v10n2a4

Análisis del crecimiento y nutrición de las plantas y semillas de frijol *(Phaseolus vulgaris L.)*, inoculadas con BPCV

José Carlos Mendoza-Hernández[1*], Lucero García Mora[1], Janette Arriola Morales[1], Maribel Castillo Morales[1], Juana Deisy Santamaría Juárez[1], Gabriela Pérez-Osorio[1].

ABSTRACT

The search for alternatives to improve the quality of agricultural crops favors the trend of the use of biofertilizers, such as plant growth-promoting bacteria, which directly and indirectly favor plant growth and resistance to pests. In this work, the bacteria *Serratia k120, Serratia Mc119, Pantoea 113 and Pantoea 133* were used, which increased seed germination and improved plant height, root length and, with respect to production, improved the number of seeds. per plant, in turn increased the nutritional quality in terms of protein and nutrients of Phaseolus vulgaris seeds, which establishes that these bacteria could be used as biofertilizers for these plants.

PALABRAS CLAVE

Phaseolus vulgaris, Bacterias promotoras de crecimiento vegetal, calidad nutricional, biofertilizantes

INTRODUCCIÓN

La agricultura es uno de los sectores fundamentales en el crecimiento de la economía de los países en desarrollo, entre ellos está considerado México. Debido al incremento poblacional, al incremento de la demanda de los productos agrícolas y el uso indiscriminado de fertilizantes se contempla en la actualidad enfrentar nuevos desafíos, integrando los enfoques ecológicos y moleculares para lograr un incremento en el rendimiento de los cultivos y reducir considerablemente el impacto que se genera en el medio ambiente (Moreno *et. al.* 2018; Torriente 2010). Una de las alternativas que se propone usar son las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) las cuales pueden favorecer el crecimiento de las plantas de manera directa (producción de fitohormonas, regulación de producción de hormonas por las plantas, disponibilidad de los nutrientes por la intervención directa en los ciclos biogeoquímicos, fijación biológica de nitrógeno, solubilidad del fósforo, producción de ACC-desaminasa) o indirecta (inducción de la resistencia sistémica a fitopatógenos, control biológico de enfermedades, producción de antibióticos, producción de sideróforos) y disminuir el estrés generado por diversos factores químicos y ambientales como la presencia de metales pesados, plaguicidas, cambios climáticos etc. (Moreno et. al. 2018).

El frijol (*Phaseolus vulgaris)* es una de las leguminosas más importantes en la nutrición humana ya que aporta energía y proteína, por lo que se busca mejorar los cultivos de este que son susceptibles al ataque de varias plagas y el control químico cada día se vuelve más costosos y menos amigable con el medio ambiente (Kumar et. al., 2016). La alternativa que se busca es el uso de biofertilizantes como las BPCV entre las que se han empleado bacterias de los géneros *Rhizobium, Azospirillum, Azotobacter, Bacillus, Enterobacter y Pseudomonas* (Kumar et. al., 2016; Tapia-García et. al. 2020; Martínez et. al., 2020). Esto implica investigar cómo pueden favorecer las BPCV a la producción de semillas y su calidad nutricional.

METODOLOGÍA

Cepas bacterianas. Las cepas *Serratia K120*, *Serratia MC119*, *Pantoea 113*, *Pantoea 133*, se aislaron de la rizosfera de jales de minas de Zimapán, Hidalgo México y fueron caracterizadas como promotoras de crecimiento vegetal (Mendoza *et al.*, 2016).

[1] Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ingeniería Química, DIRECCIÓN
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 4 sur 104 Puebla, México, C.P. 72000
E-mail autor de correspondencia: josecarlos.mendozahdez@gmail.com

Ensayo en macetas

Inóculo bacteriano. Las cepas bacterianas fueron crecidas en caldo Luria Bertani (LB) a 30°C, durante 48 h a 80 rpm, posteriormente se centrifugaron a 8000 rpm y resuspendieron en buffer de fosfatos 0.1M pH 7.4 para obtener una absorbancia de 0.5, que corresponde aproximadamente a $1x10^9$ UFC/mL.

Preparación de las macetas. Las semillas de plantas de frijol *(Phaseolusvulgaris)*, fueron sembradas en macetas conteniendo 250 g de sustrato Miracle Gro® sin esterilizar. Fue usado un diseño experimental al azar, esto para evaluar el efecto del crecimiento de las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV), donde el factor de tratamiento fue la inoculación bacteriana (4 tratamientos correspondientes al número de cepas utilizadas). Un tratamiento adicional correspondiente al testigo, el cual consistió en agregar sustrato sin inocular a cada unidad experimental. Cada tratamiento se realizó por quintuplicado.

Se sembraron 3 semillas las cuales fueron inoculadas con 25 mL de la suspensión bacteriana. Al tratamiento testigo se le agregó 25 mL de buffer de fosfatos 0.1M pH 7.4. Se evaluó el número de días de germinación, porcentaje de germinación. Posteriormente se mantuvieron en invernadero durante 21 días, regándolas diariamente con 30 mL de agua destilada. Durante el experimento se midió la altura de las plantas, número de hojas, número de flores, número de vainas, peso de las semillas.

Evaluación de crecimiento. Al final del ensayo, se evalúo el crecimiento del tallo y de la raíz de las plantas mediante, procesadas mediante el software ImageTool 3.0.

Determinación de nutrientes en las plantas. Los nutrientes en el fruto fueron determinados mediante Absorción Atómica usando el método EPA 3052(EPA, 1996).

Análisis estadístico. Se realizó un análisis de varianza a los datos obtenidos experimentalmente, para determinar las diferencias entre los tratamientos, mediante la comparación de las medias usando HSD de Tukey con un nivel de significancia del 95% ($\alpha = 0.05$). Los análisis fueron determinados mediante el software SPSS versión 15.

RESULTADOS

En el análisis del porcentaje de germinación de las semillas de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con las BPCV *Serratia k120, Serratia Mc119, Pantoea 113, Pantoea 134*, se encontró que disminuyen significativamente los días de germinación y se incrementa de manera significativa el porcentaje de germinación de las semillas inoculadas con BPCV, con respecto al testigo como se puede ver en la tabla 1.

Phaseolusvulgaris		
Tratamiento	Días de Germinación o emergencia	Porcentaje de germinación
Control	8	62 5 ± 2.5
Serratia k120	5 [a]	95.6 ± 3.2 [a]
Serratia Mc119	6 [a]	94.3 ± 2.8 [a]
Pantoea 113	5 [a]	93.6±3.1 [a]
Pantoea 133	5 [a]	94.8±2.8 [a]
[a] Muestras con diferencia significativa $p<0.05$		

Tabla1. Porcentaje de germinación de semillas de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con bacterias promotoras de crecimiento vegetal

Los cambios en la fenología y la biomasa de las semillas de *Phaseolus vulgaris* en las plantas inoculadas con las bacterias promotoras del crecimiento vegetal fueron significativamente mayores en todas las cepas probadas en los parámetros de la longitud de la raíz, la altura de la planta, el número de hojas, el número de flores, el número de vainas y el peso seco de las semillas, lo que indica que las BPCV ya sea de manera directa o indirecta están promoviendo el crecimiento vegetal y la captación de nutrientes favoreciendo a las plantas y a la producción de semillas como se puede observar en la tabla 2.

Phaseolus vulgaris						
Tratamiento	**Longitud Raíz (cm)**	**Altura de la planta (cm)**	**Número de hojas**	**Número de flores**	**Número de vainas**	**Peso semillas (g)**
Control	16.45 ±1.36	18.67 ± 1.26	8 ± 2.12	8 ± 1.23	5 ± 1.35	0.07
Serratia k120	35.56±2.14 [a]	25.83 ± 1.58 [a]	14 ± 3.25 [a]	12 ±1.05 [a]	11 ± 1.28 [a]	0.12 [a]
Serratia Mc119	34.21±1.45 [a]	24.35 ± 1.45 [a]	12 ± 1.25 [a]	11 ± 1.14 [a]	10 ± 1.32 [a]	0.11 [a]
Pantoea 113	31.45±2.68 [a]	19.56 ± 1.56	13 ± 1.26 [a]	12 ± 1.28 [a]	9 ± 1.26 [a]	0.10 [a]
Pantoea 133	33.89±3.12 [a]	26.24 ± 2.14 [a]	14 ± 2.35 [a]	11 ± 1.24 [a]	10 ± 1.18 [a]	0.09 [a]
[a] Muestras con diferencia significativa $p<0.05$						

Tabla2. Efecto en las plantas de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con bacterias promotoras de crecimiento vegetal

El análisis de algunos nutrientes esenciales en las semillas de *Phaseolus vulgaris* indican que hay una diferencia significativa($p<0.05$) en el Ca, P, Fe, Zn y proteínas en las plantas inoculadas con la BPCV mientras que en el Mg no se presentó ninguna diferencia significativa, lo que establece que las semillas con las plantas inoculadas tienen un valor nutritivo más elevado con respecto al control como se muestra en la tabla 3.

Phaseolusvulgaris						
Tratamiento	**Ca**	**Mg**	**P**	**Fe**	**Zn**	**Proteína**
Control	267.5 ± 15.65	162.7 ± 25.45	10200 ± 78.89	39.9 ± 2.14	24.4± 1.25	36
Serratia k120	580.3 ± 14.32 [a]	182.8 ± 21.48	35700 ± 98.56 [a]	75.8 ± 3.15 [a]	33.1 ± 2.08 [a]	55 [a]
Serratia Mc119	628.6 ± 21.56 [a]	181.1 ± 14.89	40800 ± 89.45 [a]	61.6 ± 2.48 [a]	36.2 ± 1.09 [a]	52 [a]
Pantoea 113	635.8 ± 18.89 [a]	181.2 ± 18.89	38250 ± 78.45 [a]	53.4 ± 3.14 [a]	31.8 ± 2.18 [a]	51 [a]
Pantoea 133	687.9 ± 24.78 [a]	182.7 ± 21.48	45900 ± 67.48 [a]	56.4 ± 2.98 [a]	19.4 ± 1.78 [a]	56 [a]
[a] Muestras con diferencia significativa $p<0.05$						

Tabla 3. Calidad nutricional de las semillas de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con bacterias promotoras de crecimiento vegetal

En las plantas de *Phaseolus vulgaris* el comportamiento del Mn indica que se presentó una diferencia significativa ($p<0.05$) en las plantas inoculadas con las bacterias *Serratia k120, Serratia Mc119 y Pantoea 133,* con respecto al control, mientras que las inoculadas con la bacteria *Pantoea113*no se encontró diferencia significativa. En el Cu se obtuvo una diferencia significativa ($p<0.05$) en todas las plantas inoculadas con las BPCV usadas con respecto al control; sin embargo, en el Ni no se presentó ninguna diferencia significativa en las plantas inoculadas con las cepas bacterianas con respecto al control. Para el Zn solamente se presentó una diferencia significativa ($p<0.05$) entre las plantas inoculadas con las bacterias del género *Pantoea 133* con respecto al testigo. En el caso del Fe todas las plantas inoculadas con diferentes cepas de BPCV presentaron una diferencia significativa ($p<0.05$) con respecto al testigo. Pare el Na y K no se presentaron diferencias significativas entre las plantas inoculadas con las BPCV y el control y finalmente el P presentó una diferencia significativa ($p<0.05$) entre las plantas inoculadas con las BPCV con respecto al control como se muestra en la tabla 4.

Phaseolus vulgaris								
Bacteria	**Mn**	**Cu**	**Ni**	**Zn**	**Fe**	**Na**	**K**	**P**
Control	48.01 ± 3.73	8.90 ±3.79	19.31 ±3.12	45.19±3.02	218.11 ± 3.20	1,078.42 ±3.11	247.27 ±3.23	35,244.89 ± 112.00
Serratia k120	97.31 ±2.77[a]	24.35 ±3.89[a]	21.39 ±2.56	51.00 ±2.50	374.17 ±6.28[a]	1,126.16 ±2.35	289.79 ±3.63	65,322.88 ± 118.00[a]
Serratia Mc119	67.66 ±2.24[a]	32.46 ±2.98[a]	19.74 ±3.25	49.44 ±3.36	368.89±4.41[a]	1,178.28 ±2.80	258.79 ±4.60	72,871.57 ± 125.00[a]
Panto ea 113	56.57 ± 4.56	38.57 ±2.97[a]	22.62 ±3.69	44.61 ±2.82	384.38 ±2.99[a]	1,370.42 ±4.55	279.04 ±5.85	78,461.74 ±191.00[a]
Panto ea 133	82.15 ±4.15[a]	58.35 ±4.12[a]	21.70 ±3.04	64.18 ±3.50[a]	369.45±4.10[a]	1,379.98 ±2.98	276.40 ±3.23	118,624.25±217.00[a]
[a] Muestras con diferencia significativa $p<0.05$								

Tabla 4. Calidad nutricional de las plantas de *Phaseolusvulgaris*inoculadas con bacterias promotoras de crecimiento vegetal

DISCUSIÓN

El crecimiento poblacional actual implica que se estudie la manera de llegar a una agricultura sustentable, considerando que esta debe ser un sistema integrado de producción para satisfacer las demandas del ser humano abarcando las dimensiones social, económica y ambiental (Osorio 2008; Salgado 2014). Para lograr la agricultura sustentable es necesario pensar en la aplicación de tecnologías que sean amigables con el ser humano y con el medio ambiente por lo que uno de estos sistemas comprende el uso de BPCV entre las que se encuentran los géneros *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Rhizobium*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Bradyrhizobium*, *Serratia*, *Escherichia, Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Derxia*, *Azospirillum* y *Stenotrophomonas*(Cota O., 2012;Vargas *et al.*, 2001; Martínez *et. al.,* 2020).

La inoculación de las BPCV a las plantas de *Phaseolus vulgaris* favoreció la germinación, esto sugiere que las bacterias se pudieron adherir al endospermo de la semilla y aceleraron su emergencia (Romero-García *et. al.,* 2016). Por otra parte, las bacterias de *Serratia y Pantoea* contribuyeron significativamente al aumento de la longitud de la raíz lo que favorecería un incremento en la nutrición de la planta (Marquez-Benavides *et.al.*, 2017; Lara-Capistran *et. al.*, 2019; Romero-García *et. al.,* 2016), la altura de la planta y el número de hojas que podría mejorar el proceso de fotosíntesis (Lastochkina*et. al.,* 2021), así como el incremento en el número de flores por ende en la proliferación del número de vainas y el peso de las semillas, lo que establece un incremento en la capacidad de producción de *Phaseolusvulgaris* (Tamayo-Aguilar *et. al.,* 2020; El attar*et. al.,* 2021; AdelAlAli*et al.,* 2021).

Los macro y micronutrientes se incrementaron considerablemente en las plantas que se inocularon con las BPCV, mejorando de esta manera la calidad de las plantas y lo que pudiera favorecer la producción de las semillas por las plantas concordando con lo reportado por Márquez-Benavides *et. al.,* 2017; Ruíz-Santiago *et al.,* 2020; Moreno *et. al.,* 2018; Lastochkina*et al.,* 2021.

En cuanto al análisis de la calidad nutricional de las semillas de *Phaseolus vulgaris* encontramos que las BPCV favorecen significativamente el incremento de Ca, Mg, P, Fe, Zn y proteína comparado con el control sin inocular lo que coincide con lo reportados por Fiori et. al 2021; Kumar *et. al.*, 2016; Fernandezy Sánchez. 2017; El Attar*et. al.,* 2019.

Las BPCV usadas ayudarían a mejorar la producción de las semillas de *Phaseolus vulgaris* con una mejor calidad nutricional lo que establece su posible uso en campo como biofertilizantes y de esta manera ayudar a disminuir la presencia de plagas que afectan considerablemente la producción y calidad nutricional de las semillas, así como también modificar el uso de fertilizantes químicos que alteran las características fisicoquímicas del suelo y la biodiversidad microbiana de éste, lo que también puede llegar a modificar el medio ambiente.

CONCLUSIÓN

Las BPCV *Serratia k120, Serratia Mc119, Pantoea 113, Pantoea 133*, mejoran la producción, y la calidad nutricional de las semillas de *Phaseolus vulgaris* por lo que pueden ser usadas como biofertilizantes en los cultivos de esta planta y contribuir a la mejora en la producción de estas.

BIBLIOGRAFÍA

AdelAlAli H., Khalifa A., Almalki M.(2021). Plant growth-promoting rhizobacteria from Ocimumbasilicum improvegrowth of Phaseolus vulgaris and Abelmoschus esculentus.South AfricanJournalofBotany 139:200-209.

Cota Ochoa, K. (2012). Selección de bacterias con capacidad promotora del crecimiento en frijol a partir del banco de microorganismos de la rizósfera CIIDIR 003. Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa, Guasave, Sinaloa.

El Attar I., Taha K., El Bekkay B., El Khadir M., ThamiAlami I., Aurag J. (2019). Screening of stress tolerant bacterial strains possessing interesting multiplantgrowth promoting traits isolated from root nodules of Phaseolusvulgaris L.Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 20:101225.

EPA (Environmental Protection Agency), 1996. METHOD 3052. Microwave Assisted Acid Digestion of Siliceous and Organically Based Matrices. EPA (EnvironmentalProtection Agency).

Fiori A.K., Gutuzzo G.O., Wilson dos Santos Sanzovo A., Diva de Souza A.., LuizMartinez de Oliveira A. PainsRodrigues E. (2021). Effects of Rhizobium tropiciazide-resistant mutants on growth, nitrogennutrition and nodulation of common bean (Phaseolus vulgaris L.). Rhizosphere 18:100355.

Fernández Valenciano A. F. ySánchez Chávez E. (2017).Estudio de las propiedades fisicoquímicas y calidad nutricional en distintas variedades de frijol consumidas en México.RevistaElectrónica Nova Scientia.18(9):133-148.

Kumar P., Pandey P., Chandra Dubeya R., Kumar Maheshwari D.(2016). Bacteria consortium optimization improves nutrient uptake, nodulation,disease suppression and growth of the common bean (*Phaseolus vulgaris*)in both pot and field studies. Rhizosphere 2: 13–23.

Lara-Capistrán L., Hernández-Montiel L.G., Reyes-Pérez J.J., Preciado Rangel P., Zulueta-Rodríguez R. (2019). Respuesta agronómica de Phaseolusvulgaris a la biofertilización en campo. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 10(5):1035-1046.

Lastochkina O., Aliniaeifard S., Garshina D., Garipova S., Pusenkova L., Allagulova C., Fedorova K., Baymiev A., Koryakov I., Sobhani M. (2021). Seed priming with endophytic Bacillus subtilis strain-specifically improvesgrowth of Phaseolus vulgaris plants under normal and salinity conditionsand exerts anti-stress effect through induced lignin deposition in roots anddecreased oxidative and osmotic damages. Journal of Plant Physiology 263:153462.

Márquez-Benavidez L., Rizo-León M. A., Montaño-Arias N. M., Ruiz-Nájera R., Sánchez-Yáñez J. M.(2017). Respuesta de *Phaseolusvulgaris* a la inoculación de diferentes dosis de *Trichodermaharzianum* con el fertilizante nitrogenado reducido al 50%.Journal Selva Andina Research. Society. 8(2):135-144.

Martínez Blanco B., Antonio Vejar V., Bello-Martínez J., Alberto Palemón F., Romero Ramírez Y., Orbe Díaz D., Toribio Jiménez J. (2020). Bacterias promotoras de crecimiento vegetal para incrementar la producción de Lactuca sativa L. en campo. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas .11(2):449-452.

Mendoza Hernández, J. C., Perea Vélez, Y. S., Arriola Morales, J., Martínez Simón, S. M., & Pérez Osorio, G. (J de 2016). Assessing the effects of heavy metals in ACC deaminase and IAA production on plant growth promoting bacteria. MicrobiologicalResearch, 188-189, 53-61.

Moreno Resendez A., García Mendoza V., Reyes CarriloJ.L:,Vazquez Arroyo J., Cano Ríos P.(2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. Revista Colombiana de Biotecnología. XX(1):68-83.

Ruiz-Santiago R. R., Ballina-GómezH. S, Ruiz-Sánchez E., Cristóbal-Alejo J.(2020). EFECTO DE LA ASOCIACIÓN DE Rhizobiumetli – Phaseolusvulgaris L. SOBRE EL CRECIMIENTO VEGETAL Y LA PREFERENCIA DE Bemisia tabaco. Tropical and Subtropical Agroecosystems 23:1-9.

Tamayo-Aguilar, Y., P. Juárez-López, W. Capdevila-Bueno, J. Lescaille-Acosta y E. Terry-Alfonso. 2020. Bioproductos en el crecimiento y rendimiento de Phaseolusvulgaris L. var. Delicia 364. Terra Latinoamericana Número Especial 38-3: 667-678.

Tapia-García E.Y., Hernández-Trejo V., Guevara-Luna J, Rojas-Rojas F.U., Arroyo-Herrera I., Meza-Radilla G.,Vásquez-Murrieta M.S., Estrada-de los SantosP.(2020).Plant growth-promoting bacteria isolated from wild legume nodules andnodules of *Phaseolus vulgaris* L. trap plants in central and southern Mexico. Microbiological Research 239:126522.

TorrienteD.(2010).Aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de caña de azúcar. Perspectivas de su uso en cuba. Cultivos tropicales. 31(1):19-26.

Romero-García V.E.; García-Ortiz V.R., Hernández-Escareño J.J., Sánchez-Yáñez J.M. (2016). Respuesta de Phaseolusvulgaris a microorganismos promotores de crecimiento vegetal. Scientia Agropecuaria 7 (3): 313 – 319.

Vargas, P., Ferrera-Cerrato, R., Almaraz-Suárez, J. J., & Alcántar, G. (2001). Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. Terra, 19(4), 327-335. Página web https://chapingo.mx/terra/contenido/19/4/art327-335.pdf.