

INFLUENCIA DE MICROORGANISMOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO Y FIJADORES DE NUTRIENTES, EN LA PRODUCCION DE FREJOL (*Phaseolus vulgaris* L. Var. INIAP 430-Portilla). TUMBACO, PICHINCHA

Jorge Caicedo Ch.¹ y Hugo Orellana A.¹

¹ Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas. Correo electrónico: jorgecaicedo_@hotmail.com.

RESUMEN

En el laboratorio e invernadero de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Central del Ecuador, ubicados en Tumbaco, Pichincha a 2460 msnm, se evaluó el efecto promotor para el crecimiento del cultivo de fréjol, utilizando once tratamientos, diez de los cuales estuvieron conformados por la acción sola y combinada de los microorganismos *Azotobacter chroococcum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium etli* y hongos endomicorrízicos. Las concentraciones utilizadas para los géneros bacterianos fueron las siguientes: *Azotobacter spp*= 52×10^6 ufc/ml; *Pseudomonas spp*= 111×10^6 ufc/ml; *Rhizobium etli*= 111×10^6 ufc/ml; mientras que, la concentración del inóculo micorrízico fue de 33 esporas/gramo de suelo seco. Para evaluar la influencia de los microorganismos en el crecimiento y rendimiento por planta, se estudiaron las siguientes variables: identificación microbiana, selección preliminar de cepas promisorias, altura de planta, días a la floración, número de vainas, peso de granos por planta y análisis de agrupamiento. Para analizar los datos estadísticamente, se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar con diez repeticiones. La identificación microbiana se efectuó en base a sus características fenotípicas y bioquímicas en medios de cultivos diferenciales, determinado la presencia de las enzimas: catalasa, triptofanasa, gelatinasa, oxidasa, ureasa y amilasa. Fisiológicamente se determinó la utilización del citrato como fuente de carbono, fermentación de la glucosa, motilidad, pigmentación y formación de quistes. En lo referente a los hongos endomicorrízicos, se logró identificar en base a sus características morfológicas al género *Glomus spp*. En cuanto al efecto promotor de crecimiento y rendimiento por planta, los microorganismos que sobresalieron estadísticamente en la mayoría de las variables evaluadas fueron en su respectivo orden: “t2” (*Pseudomonas spp*) y “t8” (*Pseudomonas spp* + *Rhizobium etli*), formando los mejores conglomerados, de acuerdo al análisis multivariado. El mayor incremento en el número de vainas y peso de granos, lo presentó el tratamiento “t2” (*Pseudomonas spp*), con 18.40 vainas y un peso de granos de 31.04 gramos por planta.

Palabras claves: *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Glomus*, Fitohormonas.

INTRODUCCION

En Ecuador se siembran aproximadamente 103 377 ha de fréjol con un rendimiento promedio de 0.58 t/ha (MAGAP, 2005). Estos bajos rendimientos se deben entre otras causas, a que la producción está sujeta a una serie de factores limitantes, entre los que se destacan, la pérdida de la fertilidad del suelo debido al uso indiscriminado de fertilizantes incorporados en forma masiva y sin sustentación técnica adecuada.

Para solucionar en parte este problema, la microbiología juega un papel trascendental, cuando investiga el rol que cumplen ciertas especies microbianas conocidas como PGPR, debido a su efecto estimulante para el desarrollo de ciertos cultivos. Entre estas especies, las más conocidas y analizadas en la presente investigación fueron: *Azotobacter spp*, *Pseudomonas spp*, *Rhizobium spp* y hongos endomicorrízicos, las bacterias promotoras para el crecimiento de las plantas (PGPR) y hongos endomicorrízicos, argumentos que sustentaron la realización de la presente investigación con la premisa de disminuir el uso de fertilizantes sintéticos.

De allí que se plantearon los siguientes objetivos: Determinar bajo condiciones de invernadero, la influencia de microorganismos simbiotes y promotores del crecimiento, en el cultivo de fréjol. Aislar, identificar, multiplicar e inocular cepas de *Azotobacter spp*, *Pseudomonas spp* y *Rhizobium etli*, en fréjol. Aislar, identificar a nivel de género, multiplicar e inocular cepas de hongos endomicorrízicos en fréjol. Evaluar la influencia de los microorganismos solos y combinados, en el rendimiento por planta del cultivo de fréjol.

MATERIALES Y METODOS

La investigación se condujo en el laboratorio e invernadero de Microbiología y Fitopatología del Campo Académico Docente Experimental “La Tola” (CADET), de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Central del Ecuador.

La variedad de fréjol utilizada en esta investigación fue INIAP 430-Portilla; además, se trabajó con cepas provenientes de zonas frejoleras de importancia en el país, tales como: Pimampiro (Imbabura), Pallatanga (Chimborazo) y Amaluza (Loja).

Los tratamientos estuvieron constituidos por la intervención de los microorganismos solos y combinados, tal como se muestra en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Tratamientos evaluados en el estudio de la influencia de microorganismos promotores del crecimiento y fijadores de nutrientes, en el cultivo de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L. Var. INIAP 430-Portilla). Tumbaco, Pichincha 2010.

Codificación	Descripción	Acción
t1	<i>Azotobacter spp</i>	Promoción de crecimiento.
t2	<i>Pseudomonas spp</i>	Promoción de crecimiento.
t3	<i>Rhizobium etli</i>	Fijación de N ₂
t4	Hongos endomicorrízicos	Solubilización de fósforo.
t5	<i>Azotobacter spp</i> + <i>Pseudomonas spp</i>	Fijación de N ₂ , promoción de crecimiento.
t6	<i>Azotobacter spp</i> + <i>Rhizobium etli</i>	Promoción de crecimiento, fijación de N ₂ .
t7	<i>Azotobacter spp</i> + hongos endomicorrízicos	Promoción de crecimiento, solubilización de fósforo.
t8	<i>Pseudomonas spp</i> + <i>Rhizobium etli</i>	Promoción de crecimiento, fijación de N ₂ .
t9	<i>Pseudomonas spp</i> + hongos endomicorrízicos	Promoción de crecimiento, solubilización de fósforo.
t10	<i>Rhizobium etli</i> + hongos endomicorrízicos	Fijación de N ₂ , solubilización de fósforo.
t11	Testigo absoluto	-----

Para realizar el asilamiento de los microorganismos se procedió de la siguiente manera:

Para *Azotobacter spp*, se utilizó el medio de cultivo Ashby, en el cual se depositaron gránulos de suelo equidistantes, tal como lo recomiendan Aquilanti *et al.*, (2004). Para *Pseudomonas spp*, se utilizó el medio de cultivo Agar B'King, y el aislamiento se realizó mediante la técnica propuesta para *Azospirillum* por Döbereiner (1992), que consistió en utilizar raíces de plántulas élites de fréjol en lugar de suelo rizosférico. Para *Rhizobium etli*, se efectuó siguiendo la técnica de maceración de nódulos, tal como lo recomienda Vincent (1975), la misma que consistió en estriar la suspensión bacteriana producto de la maceración en el medio de cultivo Levadura-Manitol-Agar + Rojo Congo. En lo referente a los hongos endomicorrízicos, se seleccionaron raicillas de plántulas élites de fréjol con un diámetro no mayor a 3 milímetros, y se las lavó con abundante agua. Inmediatamente, se tomó una alícuota de raicillas para clarificarlas y teñirlas con Trypan Blue al 0.05%, de acuerdo a la metodología de cuantificación de la micomasa arbuscular y vesicular propuesta por Herrera (1993).

Una vez aisladas las cepas de cada género bacteriano, se seleccionó a una de ellas en base a sus características morfológicas, inducción en la germinación de la semilla y promoción del crecimiento; para el efecto, se realizó ensayos preliminares tanto de laboratorio como de invernadero. Los resultados obtenidos en los ensayos preliminares de laboratorio e invernadero, fueron analizados estadísticamente a través de un Test de Rangos Múltiples de Duncan ($p \leq 0.05$). La cepa promisoría de *Azotobacter spp* se cultivó en el medio "Ashby" con 3 días de anticipación. La cepa de *Pseudomonas spp* en el medio "Agar-B'King" con 24 horas de anticipación y la de *Rhizobium etli* en medio "Levadura-Manitol-Agar" + Rojo Congo con 3 días de anticipación. Para las inoculaciones, las cepas se suspendieron en agua destilada esterilizada. Cuando se inoculó la semilla, ésta se sumergió en una solución azucarada al 25%, con el objeto de que las bacterias queden adheridas al pericarpio.

La segunda y tercera inoculaciones se realizaron a los 15 y 45 días respectivamente después de la siembra, vertiendo 10 ml de inóculo bacteriano por unidad experimental y procurando que contacte al sistema radical. Las concentraciones bacterianas óptimas a inocularse obtenidas mediante la escala de McFarland y espectrofotometría, fueron las siguientes: *Azotobacter spp*: 52×10^6 ufc/ml; *Pseudomonas spp*: 111×10^6 ufc/ml; *Rhizobium etli*: 111×10^6 ufc/ml.

El inóculo micorrízico, se multiplicó en plantas trampa de maíz; para el efecto, en una maceta plástica conteniendo 2000 cm^3 de rizósfera micorrizada proveniente de Imbabura (Pimampiro) y Chimborazo (Pallatanga), se sembraron dos semillas de maíz. Una vez desarrolladas las plantas, siete días antes de la inoculación, se cortaron los respectivos tallos por la mitad y se suspendió el riego para propiciar la esporulación del hongo hacia el rizoplaneo. Posteriormente se mezclaron las raicillas obtenidas en las plantas trampas, se homogenizaron y se obtuvieron porciones de inóculo de 50 gramos, para ser mezcladas con el sustrato de cada unidad experimental. La concentración del inóculo fue de 33 esporas/gramo de suelo seco.

Para determinar la influencia de los microorganismos en el crecimiento y rendimiento del cultivo, se estudiaron las siguientes variables: identificación microbiana, selección preliminar de cepas promisorias, altura de planta, días a la floración, número de vainas, peso de granos por planta y análisis de agrupamiento. Los datos fueron analizados en el software estadístico (Infostat/E, versión estudiantil 2009), en un arreglo de bloques completos al azar. Por otro lado, para comparar las medias de los tratamientos del ensayo, se utilizó un Test de Tukey calculado a un nivel de probabilidad ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSION

Identificación microbiana

Se identificaron bacterias de los géneros y especies: *Azotobacter chroococcum*, *Pseudomonas fluorescens*, y *Rhizobium etli*, de acuerdo a ciertas características bioquímicas, fisiológicas, morfológicas y celulares, tal como se observa en las **Tablas 2 y 3**.

Tabla 2. Características bioquímicas y fisiológicas de cepas promisorias de los géneros bacterianos estudiados. Tumbaco, Pichincha 2010.

Microorganismo	A	C ₁	C ₂	E	G ₁	G ₂	G ₃	I	M	O	P	U
<i>Azotobacter chroococcum</i>	+	+	+	-	-	-	+	++	+	+		+
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	+	+	+	-	-	++ _F	-	-	++	++	+	+
<i>Rhizobium etli</i>				-	-	++ _F	-		++			

A= Amilasa; C₁= Catalasa; C₂= Citrato; E= Endósporas; G₁= Gelatinasa; G₂= Glucosa; G₃= Gram; I= Indol; M= Motilidad; O= Oxidasa; P= Pigmentación; U= Ureasa; + (Reacción positiva); - (Reacción negativa); ++ (Reacción fuerte); F (Fermentación).

Tabla 3. Características morfológicas y celulares de las cepas promisorias de los géneros bacterianos estudiados. Tumbaco, Pichincha 2010.

Microorganismo	Coloración de la colonia	Tamaño de colonia	Consistencia de la colonia	Forma celular
<i>Azotobacter chroococcum</i>	Marrón-oscuro	4 mm	Mucilaginosa	Pleomórfica
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Verde-amarillo	1.9 mm	Seca-brillante	Bacilar
<i>Rhizobium etli</i>	Rosada-cremosa	5 mm	Mucilaginosa	Bacilar

En el proceso de cuantificación radicular de la micomasa arbuscular y vesicular, únicamente se determinó la presencia de hongos endomicorrízicos en las provincias de Imbabura (Pimampiro) y Chimborazo (Pallatanga), en las cuales se identificó la presencia en un 70% de esporas del género *Glomus spp.*

Selección preliminar de cepas promisorias

Se evaluaron ocho cepas de los géneros *Azotobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*, y *Rhizobium spp.*, provenientes de las siguientes provincias y ciudades: Amaluza-Loja, Chota-Imbabura, Pimampiro-Imbabura, Mira-Carchi, Latacunga-Cotopaxi, Tumbaco-Pichincha y Pallatanga-Chimborazo. De ellas, mediante ensayos preliminares de laboratorio e invernadero, se eligieron a las cepas procedentes de Amaluza-Loja (*Azotobacter spp.* y *Pseudomonas spp.*) y Pallatanga-Chimborazo (*Rhizobium etli*), debido a sus habilidades promotoras de crecimiento y agresividad de nodulación, respectivamente.

Altura de planta

De manera general, las alturas de las plantas mostraron tamaños ligeramente homogéneos. Cuando se analizaron los datos, hasta los 42 días de edad (fin del ciclo vegetativo), se encontró un ligero incremento aritmético entre los tratamientos con los microorganismos versus el Testigo absoluto (Cuadro 4). Estos datos coinciden con los resultados obtenidos por Avendaño *et al.*, (2006), en los que se demuestra una relación no significativa entre la bacterias promotoras para el crecimiento y la diferenciación celular en la planta.

Al contrastar las medias de los tratamientos de las alturas se encontraron diferencias matemáticas entre ellas (Cuadro 5); habiéndose destacado el tratamiento “t2” (*Pseudomonas spp.*) con una altura promedio de 67.85 cm, lo cual representó un incremento del 12.52% frente al “t11” (Testigo absoluto), que se ubicó en el penúltimo lugar. Este resultado pudo haberse debido, a la acción hormonal (auxinas) inducida por parte de *Pseudomonas spp.*, tal como lo manifiestan Patten *et al.*, (2002), quienes obtuvieron resultados similares en el cultivo de soja. De igual manera, el tratamiento “t6” (*Azotobacter spp.* + *Rhizobium etli*) superó en altura en un 10.45% frente al tratamiento “t11” (Testigo absoluto). Este comportamiento posiblemente se debió, a la mayor fijación de nitrógeno inducida por la asociación entre las dos bacterias diazotróficas, tal como lo manifiesta Garassini (1967).

Días a la floración

Los bioinoculantes microbianos influyeron de manera positiva en la generación precoz de flores y en el desarrollo del fuste del follaje, diferenciándose estadísticamente al nivel del 1%, puesto que, en el tratamiento Testigo absoluto, la floración ocurrió aproximadamente dos días después. Esto pudo deberse, a la secreción de sustancias promotoras de crecimiento (citoquininas) por parte de los microorganismos utilizados; y a su vez, a la biosíntesis de nutrientes como el nitrógeno, que promovieron una respuesta favorable en las etapas de desarrollo vegetativo y floración de las plantas (Tabla 4).

De acuerdo al análisis de diferenciación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$), el tratamiento “t8” (*Pseudomonas spp* + *Rhizobium etli*), fue el más destacado, debido a que floreció a los 45.50 días después de la siembra (Cuadro 5). Este efecto pudo haberse debido, a la actividad promotora para el crecimiento por parte de *Pseudomonas spp*, y a la vez, a la mayor absorción de fósforo para la planta una vez solubilizadas las sales de este elemento, por parte de la acción enzimática de la misma bacteria.

Es bien conocido al respecto, la acción estimuladora del fósforo para la ocurrencia de la floración (Hammett, 1985). Patten (2002) por su lado menciona que, la bacteria *Pseudomonas spp*, tiene la capacidad de sintetizar de mejor manera las sustancias flavonoides emitidas por las raíces de las plantas de fréjol, transformándolas eficientemente en fitohormonas de crecimiento (citoquininas), que son utilizadas por la planta para favorecer la floración. Adicionalmente, en este tratamiento se produjo una mayor cantidad de follaje, quizás debido a la fijación de nitrógeno por parte de *Rhizobium etli*, lo cual probablemente influyó en la brotación de yemas y en la precocidad para la floración, tal como lo manifiestan Gianinazzi *et al.*, (1991).

Número de vainas

Los microorganismos promotores influyeron positivamente en la formación de vainas, de tal modo que, estadísticamente, se diferenciaron al nivel del 1% en comparación con el tratamiento Testigo absoluto (Cuadro 4). Este efecto sobre todo parece estar ligado a una mayor absorción y síntesis de nutrientes, específicamente de sales de fósforo y potasio, los mismos que están estrechamente relacionados con la floración y fructificación. Al respecto, Martínez (1998), menciona que, estos macroelementos son necesarios para el metabolismo de carbohidratos y proteínas esenciales para el crecimiento vegetativo y para la formación de las vainas, reduciendo al mínimo el número de vainas encogidas, vanas y apergaminadas.

De acuerdo al test de Tukey ($p \leq 0.05$) para tratamientos (Tabla 5), el tratamiento “t2” (*Pseudomonas spp*), se destacó, alcanzando un promedio de 18.40 vainas por planta, que correspondió a un 19.48% mayor que el “t11” (Testigo absoluto). Este hecho, probablemente se debió a la inducción de la brotación de flores y formación de vainas, por parte de las fitohormonas (giberelinas y citoquininas) secretadas por esta bacteria.

Peso de granos por planta

De manera general, los bioinoculantes promovieron una respuesta positiva sobre el peso de granos cosechados por planta. En este sentido, al analizar los resultados obtenidos por los tratamientos, se encontraron diferencias al nivel del 1% (Cuadro 4). Este resultado puede deberse a la compensación nutricional por parte de los microbios entre los componentes del rendimiento, tanto fisiológicos (biomasa aérea) como físicos (número de granos por unidad de superficie y peso de los granos), tal como opinan al respecto Frommel *et al.*, (1991).

Al analizar las medias de los tratamientos a través del Test de Tukey ($p \leq 0.05$), los tratamientos más destacados fueron “t2” (*Pseudomonas spp*) y “t6” (*Azotobacter spp* + *Rhizobium etli*), con un incremento de un 21% y 20% respectivamente sobre el Testigo absoluto (Tabla 5, Figura 1). El incremento probablemente se debió, tanto a la mayor absorción y síntesis de nitrógeno, fósforo y potasio por parte de las plantas tratadas, como al efecto de las fitohormonas producidas por las bacterias, lo cual indujo a que la planta desarrolle gran parte de su potencial genético, tal como lo manifiesta Patten *et al.*, (2002). Al respecto, según (Barea y Brown, 1974), (González *et al.*, 1986) y (Martínez y Dibut, 1998), el incremento en la producción por planta puede deberse a la mayor capacidad de las bacterias para sintetizar sustancias biológicamente activas, las cuales proporcionan un mayor estímulo en el desarrollo vegetal; Elmerich *et al.*, (1992), reportan por su lado, que estas sustancias no sólo incrementan el desarrollo de las plantas, sino que aseguran el establecimiento competitivo de una especie de bacteria particular en la rizósfera. Sin embargo, los mecanismos

involucrados en esta repuesta no se conocen plenamente, ya que pueden estar involucrados otros muy importantes, como la capacidad de colonización de la bacteria en los sitios de crecimiento en la raíz y pelos radicales.

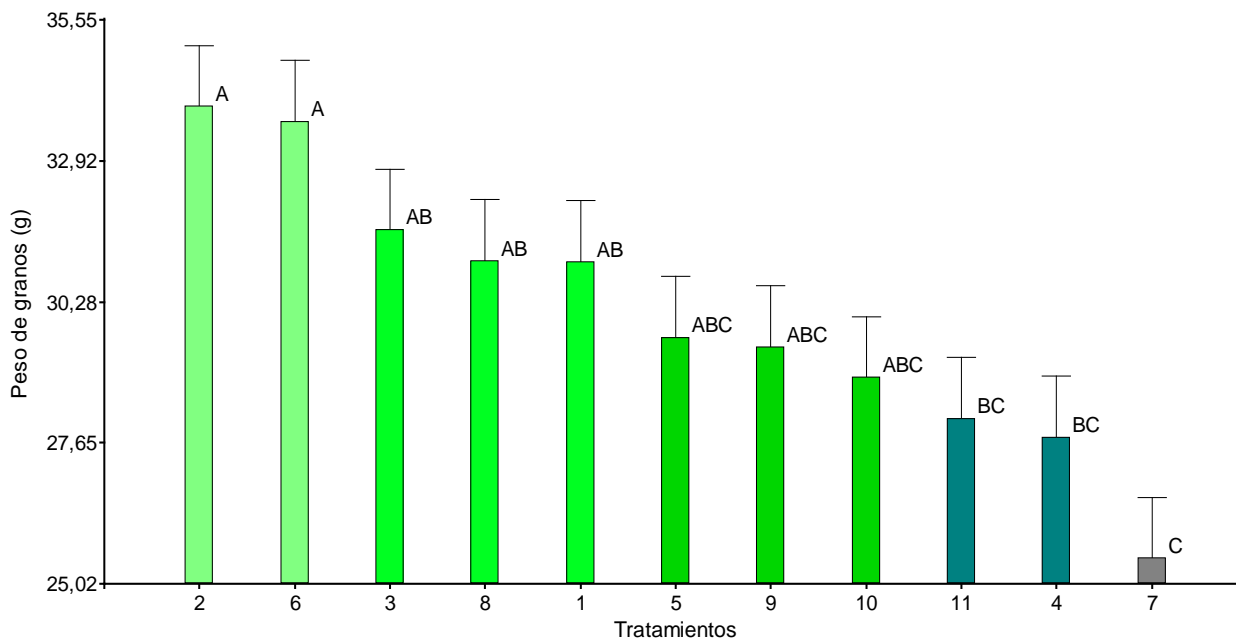


Figura 1. Medias para la variable peso de granos por planta, en el estudio de la influencia de microorganismos promotores de crecimiento y fijadores de nutrientes, en la producción de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L. Var. INIAP 430-Portilla). Tumbaco, Pichincha 2010.

Análisis de agrupamiento

Con el objeto de agrupar a los tratamientos en base a su comportamiento estadístico en todas las variables agronómicas del ensayo, se realizó un análisis multivariado de conglomerados (cluster). Como resultado de este análisis se determinó, que al nivel del 95% de confiabilidad, el tratamiento “t2” (*Pseudomonas spp*) formó el mejor conglomerado multivariante (**Figura 2**), ya que este registró los mejores promedios en la mayoría de las variables evaluadas. Continuando con el análisis del **Figura 2**, se observa que el tratamiento “t8” (*Pseudomonas spp* + *Rhizobium etli*), formó un solo conglomerado, resultado que demuestra un comportamiento singular de este tratamiento en todas las variables evaluadas a lo largo del ensayo. De la misma manera, los tratamientos “t10” (*Rhizobium etli* + Hongos endomicorrízicos), “t6” (*Azotobacter spp* + *Rhizobium etli*), “t9” (*Pseudomonas spp* + hongos endomicorrízicos), “t4” (Hongos endomicorrízicos), “t5” (*Azotobacter spp* + *Pseudomonas spp*), “t3” (*Rhizobium etli*) y “t1” (*Azotobacter spp*), estadísticamente formaron un solo conglomerado, es decir, que estos tratamientos se comportaron de un modo homogéneo al agruparse en un solo cluster. Por otro lado, los tratamientos “t7” (*Azotobacter spp* + hongos endomicorrízicos) y “t11” (Testigo absoluto) (**Figura 2**), formaron un solo conglomerado, debido a que estos tratamientos a lo largo de todo el ensayo, fueron los que registraron los menores promedios en las variables evaluadas en el ensayo.

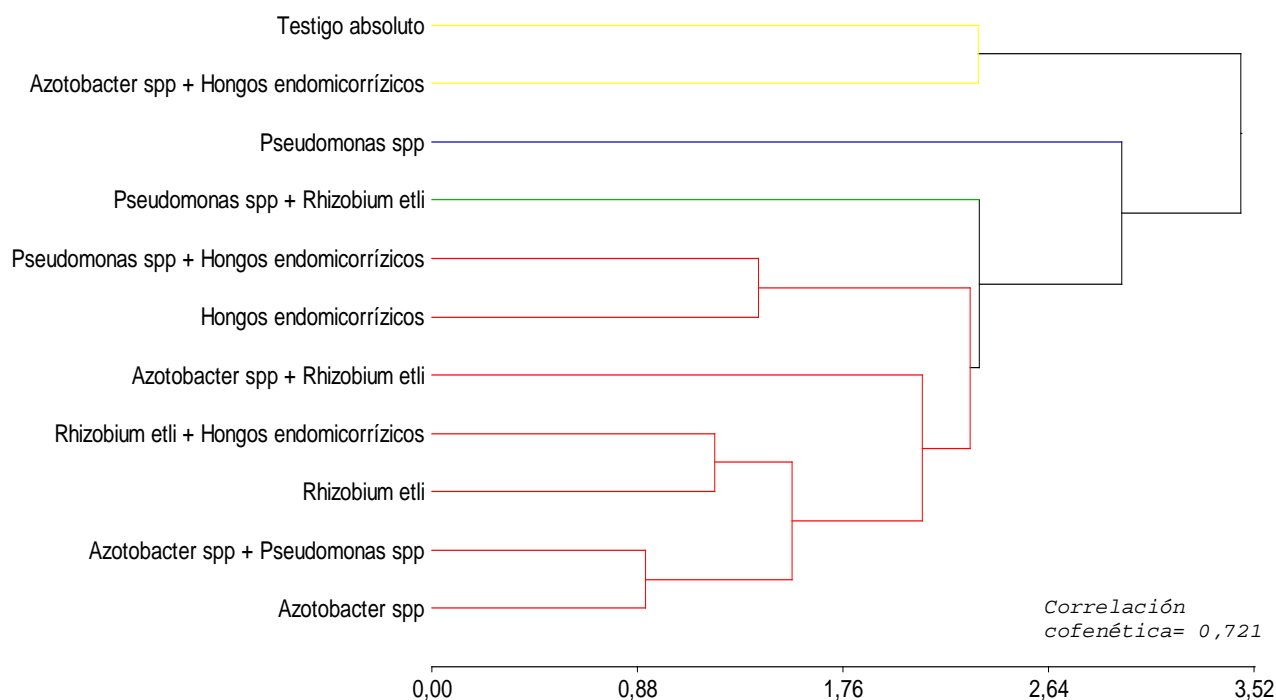


Figura 2. Dendrograma del análisis de agrupamiento (usando un ligamiento promedio y distanciamiento Euclideo), en la evaluación de la influencia de microorganismos promotores de crecimiento y fijadores de nutrientes, en el cultivo de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L. Var. INIAP 430-Portilla). Tumbaco, Pichincha 2010.

Tabla 4. ANOVA para cuatro variables, en el estudio de la influencia de microorganismos promotores de crecimiento y fijadores de nutrientes, en el cultivo de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L. Var. INIAP 430-Portilla). Tumbaco, Pichincha 2010.

Fuentes de Variación	GL	CUADRADOS MEDIOS			
		Altura de planta (cm)	Días a la floración	Número de vainas	Peso de granos/planta (g)
Total	109				
Tratamientos	10	64.06 ns	5.78**	13.52**	64.15**
Repeticiones	9	169.33**	3.87**	8.04ns	23.93ns
Error experimental	90	41.17	1.46	4.58	12.98
Promedio		63.98 cm	46.72 días	16.38 vainas	30.05 gramos
Coefficiente de variación (%)		10.03	2.59	13.07	11.99

** Altamente significativo ($p \leq 0.01$) "Test de Fisher"
 ns No significativo "Test de Fisher"

Tabla 5. Promedios y test de Tukey al 5% para cuatro variables, en el estudio de la influencia de microorganismos promotores de crecimiento y fijadores de nutrientes, en el cultivo de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L. Var. INIAP 430-Portilla). Tumbaco, Pichincha 2010.

Tratamientos	Altura de planta (cm)**	Días a la floración*	Número de vainas*	Peso de granos /planta (g)*
t1: <i>Azotobacter spp</i>	63.70	47.30 bc §	17.20 ab §	31.04 ab §
t2: <i>Pseudomonas spp</i>	67.85	47.20 abc	18.40 a	33.93 a
t3: <i>Rhizobium etli</i>	64.38	46.70 abc	16.70 ab	31.62 ab
t4: Hongos endomicorrízicos	64.38	45.70 ab	15.90 ab	27.76 bc
t5: <i>Azotobacter spp</i> + <i>Pseudomonas spp</i>	62.47	47.70 c	17.10 ab	29.62 abc
t6: <i>Azotobacter spp</i> + <i>Rhizobium etli</i>	66.60	46.50 abc	16.00 ab	33.65 a
t7: <i>Azotobacter spp</i> + hongos endomicorrízicos	59.25	46.40 abc	14.70 b	25.50 c
t8: <i>Pseudomonas spp</i> + <i>Rhizobium etli</i>	64.93	45.50 a	17.60 ab	31.05 ab
t9: <i>Pseudomonas spp</i> + hongos endomicorrízicos	64.40	46.30 abc	14.80 b	29.44 abc
t10: <i>Rhizobium etli</i> + hongos endomicorrízicos	65.58	46.70 abc	16.40 ab	28.87 abc
t11: Testigo absoluto	60.30	47.90 c	15.40 ab	28.11 bc

* Test de medias de Tukey ($p \leq 0.05$)

** Cuadro de promedios

§ Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

CONCLUSIONES

- ✓ En el laboratorio se aislaron e identificaron a los géneros bacterianos: *Azotobacter spp* (Loja-Amaluza), *Pseudomonas spp* (Loja-Amaluza), y *Rhizobium spp* (Chimborazo-Pallatanga).
- ✓ También en el laboratorio se registró la presencia del hongo micorrízico *Glomus spp*, en las provincias de Imbabura (Pimampiro) y Chimborazo (Pallatanga).
- ✓ Los tratamientos microbianos demostraron su efecto promotor para el crecimiento en todas las variables evaluadas: altura de planta, días a la floración, número de vainas y peso de granos por planta.
- ✓ Los tratamientos más sobresalientes en las variables evaluadas, de acuerdo al análisis multivariado, fueron en su respectivo orden: “t2” (*Pseudomonas spp*) y “t8” (*Pseudomonas spp* + *Rhizobium etli*), los mismos que formaron los mejores conglomerados, en dicho análisis.

RECOMENDACIONES

- ✓ Corroborar la identificación microbiana de los géneros bacterianos estudiados con análisis molecular.
- ✓ Seleccionar los tratamientos “t2” (*Pseudomonas spp*) y “t8” (*Pseudomonas spp* + *Rhizobium etli*), para replicarlos aplicándolos en diversas dosis y épocas y para compararlos versus fertilización química.
- ✓ Validar los tratamientos “t2” (*Pseudomonas spp*) y “t8” (*Pseudomonas spp* + *Rhizobium etli*), bajo condiciones de campo.
- ✓ Evaluar el efecto promotor y fijador de los microorganismos estudiados, en diferentes cultivos de ciclo corto.
- ✓ Identificar las moléculas inductivas de crecimiento producidas por los microorganismos PGPR, estudiados en esta investigación.

BIBLIOGRAFIA

- Avendaño, C., G. Arbeláez, y G. Rondón. 2006. Control biológico del marchitamiento vascular causado por *Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli* en frijol *Phaseolus vulgaris* L., mediante la acción combinada de *Entrophospora colombiana*, *Trichoderma sp.* y *Pseudomonas fluorescens*. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. p. 12.
- Aquilanti, L., F. Favilli, and F. Clementi. 2004. Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of *Azotobacter* from soil samples. *Soil Biology and Biochemistry*. Vol. 36. 45: 1475-1483.
- Barea, J., and E. Brown. 1974. Effect on plant growth produced by *Azotobacter paspali* related to synthesis of plant growth regulating substances. *Applied Bacteriology*. 37: 583-593.
- Döbereiner, J. 1992. The genera *Azospirillum* and *Herbaspirillum*. En A. Balows, H. G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder and K.-H. Schleifer (ed.), *The prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications*. Springer-Verlag. 25. 2236-2253.
- Elmerich, C., W. Zimmer, and C. Vieille, C. 1992. Associative nitrogen-fixing bacteria. *Biological Nitrogen Fixation*. Chapman and Hall. New York, USA. p. 212-258

- Frommel, M., J. Nowak, and G. Lazarovits. 1991. Growth enhancement and development modifications of in vitro grown potato (*Solanum tuberosum ssp. tuberosum*) as affected by a nonfluorescent *Pseudomonas spp.* Plant Physiology. 15: 928-936.
- Garassini, L. 1967. Microbiología Agraria. Universidad Central de Venezuela. Paraninto. Maracay, Venezuela.
- Gianinazzi, V., y C. Azcón. 1991. Fisiología de las micorrizas vesículo-arbusculares. En: Fijación y movilización biológica de nutrientes. Planeta Mexicana. Chiapas, México.
- González, J., V. Salmerón, O. Martínez, F. Ballesteros, and A. Ramos. 1986. Production of auxins gibberelins and cytokinins by *Azotobacter vinelandii* ATCC 12837 in chemically defined media and dialysed soil media. Soil Biology. 25: 119-120
- Hammett, H. 1985. *Impomoea batatas*. CRC Hand book of flowerig. Press Boca Ratón. Vol. 3. Florida, USA. p. 52
- Herrera, R. 1993. General methodology to analyze rootlets, raw humus and VA mycorrhizal (VAM) components. Artecubano. La Habana, Cuba. p. 1-8
- MAGAP. 2005. Principales granos andinos en el Ecuador. Consultado 21 de Junio. 2010. Disponible <http://www.agroecuador.com/HTML/angendaInter/.../Bibliografia.pdf>
- Martínez, V., y B. Dibut. 1998. Los biofertilizantes como factores de economía y productividad en la agricultura tropical. Artecubano. La Habana, Cuba. p. 26-41
- Patten, L., and B. Glick. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indolacetic and in development of the host plant root system. Environment Microbiology. 98: 4
- Penia, J. 2005. Efecto de la coinoculación de *Pseudomonas putida* y *Glomus spp* sobre la absorción de ¹⁵N-urea en trigo sembrado en suelo calcáreo. Agronomy Journal. 3: 12-13
- Vincent, J. 1975. Manual práctico de Rhizobiología. Hemisferio Sur. Córdoba, Argentina. p. 5-9, 55-66