



**Universidad Michoacana de
San Nicolás de Hidalgo**



Instituto de investigaciones de
Químico-Biológicas

Facultad de Químico Farmacobiología

Tesis

"Respuesta de *Phaseolus vulgaris* y *Triticum aestivum* a
Bacillus thuringiensis y *Micromonospora echinospora* al 70%
del NH_4NO_3 "

Para obtener el título de química farmacobiología lo presenta:

pQFB. Adilene Velázquez Medina

Asesor: D.C. Juan Manuel Sánchez-Yáñez

Laboratorio de Microbiología Ambiental
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Morelia Michoacán junio del 2021

Dedicatoria

A Dios gracias por cada detalle y momento durante la realización de mi tesis, gracias a él por la fuerza espiritual, por cada día en el que me permitió despertar, no solo con vida, sino que también con las fuerzas para cada avance durante mi vida, cada experiencia y momento.

A mis padres: Mauricio Velázquez Tapia y María de los Ángeles Medina Pérez que me han brindado su confianza, amor, cariño, valores, motivación, para seguir con mis metas de vida con su gran apoyo.

A mi hermano Neri Velázquez Medina por darme la motivación a superarme y a mi sobrino Leonel Velázquez Nava por dar alegría en la familia.

Agradecimientos

Con la gran admiración y estimación al Dr Juan Manuel Sánchez-Yáñez por el apoyo, tiempo, dedicación y consejos que me otorgo para poder ser una buena profesionista, por enseñarme la disciplina, valores y principios en todos los aspectos de la vida. Gracias por su gran ejemplo.

Al equipo de trabajo del laboratorio de microbiología ambiental del instituto de investigaciones de químico biológicas: MC Blanca Celeste Saucedo Martínez, José Alberto Castro Villaseñor, QFB Juan Luis Ignacio Cruz, Gladis Oliva González Naranjo, por la paciencia, darme su apoyo, tiempo, dedicación a cualquier duda que me surgía y por el compañerismo.

A mi amigo Yazid Ivan Zirate Ramírez por sus palabras de motivación y ánimos, sobre todo el apoyo en actividades de la experimentación.

A mis sinodales MC Lorena Cabrera Navarro, MC Diana Cecilia Maya Cortes y IQ Dionysos Castillo Valle, MFB. Daphne Vanessa García Chávez, y QFB Lillian Bribiesca Rodríguez, por sus observaciones, tiempo y esfuerzo que invirtieron en el análisis de la revisión del texto.

A BIONUTRA S. A. de C.V., Maravatío, Michoacán México y al Proyecto 2.7 (2021) CIC-UMSNH

Índice

Acrónimos y significados.....	8
I. Resumen.....	9
II. Introducción.....	12
III. Antecedentes.....	14
IV. Hipótesis.....	17
V. Objetivo general.....	17
V.1. Objetivos específicos.....	17
VI. Materiales y Métodos.....	18
VII. Resultados y discusiones.....	23
VIII. Conclusión.....	54
IX. Literatura citada.....	55

Índice de tablas

VI.2. Tabla 1. Diseño experimental para analizar la respuesta de <i>Phaseolus vulgaris</i> y <i>Triticum aestivum</i> a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> al 70% del NH_4NO_3	22
VII.1. Tabla 2. Parámetros Fisicoquímicos del suelo de origen del municipio de Salvador Escalante para la evaluación de la respuesta de <i>Phaseolus vulgaris</i> y <i>Triticum aestivum</i> a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> al 70% del NH_4NO_3	23
VII.2. Tabla 3. Efecto de <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> en la germinación y días de emergencia de <i>Phaseolus vulgaris</i> al 70% del NH_4NO_3	24

VII.4. Tabla 4. Efecto de <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> en la germinación y días de emergencia de <i>Triticum aestivum</i> al 70% del NH_4NO_3	26
VII.6 Tabla 5. Respuesta de <i>Phaseolus vulgaris</i> al nivel de plántula a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%.....	28
VII.8. Tabla 6. Respuesta de <i>Triticum aestivum</i> al nivel de plántula a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%.....	31
VII.10. Tabla 7. Respuesta de <i>Phaseolus vulgaris</i> al nivel de floración a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%.....	34
VII. 12. Tabla 8. Respuesta de <i>Triticum aestivum</i> al nivel de floración a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%.....	37
VII. 14. Tabla 9. Respuesta de <i>Phaseolus vulgaris</i> al nivel de madurez fisiológica a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%.....	40
VII.16. Tabla 10. Respuesta de <i>Triticum aestivum</i> al nivel de madurez fisiológica a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%.....	43
VII. 18. Tabla 11. Respuesta de <i>Phaseolus vulgaris</i> en la biomasa y rendimiento del fruto a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%.....	46
VII.20. Tabla 12. Respuesta de <i>Triticum aestivum</i> en la biomasa y rendimiento del fruto a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%.....	48
VII. 22. Tabla 13. Perfil de sensibilidad a antibióticos para demostrar el efecto <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> en tejidos de <i>Phaseolus vulgaris</i> y <i>Triticum aestivum</i>	50

VII. 24. Tabla 14. Actividad de fosfatasa de <i>Phaseolus vulgaris</i> y <i>Triticum aestivum</i> con <i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Micromonospora echinospora</i> y sin inocular.....	52
--	----

Índice de figuras

VI.1. Figura 1. Diseño de la jarra de Leonard.....	20
VI.2 Figura 2. Cristales de <i>Bacillus thuringiensis</i>	21
VII.3. Figura 3. Efecto de <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> en la germinación de <i>Phaseolus vulgaris</i> a los 5 días después de la siembra.....	25
VII.5. Figura 4. Efecto de <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> en la germinación de <i>Triticum aestivum</i> a los 5 días después de la siembra.....	27
VII. 7. Figura 5. Respuesta de <i>Phaseolus vulgaris</i> al nivel de plántula a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%.....	30
VII.9. Figura 6. Respuesta de <i>Triticum aestivum</i> al nivel de plántula a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%.....	33
VII. 11. Figura 7. Respuesta de <i>Phaseolus vulgaris</i> al nivel de floración a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%.....	36
VII. 13. Figura 8. Respuesta de <i>Triticum aestivum</i> al nivel de floración a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%.....	39
VII.15. Figura 9. Respuesta de <i>Phaseolus vulgaris</i> al nivel de madurez fisiológica a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%.....	42

VII.17. Figura 10. Respuesta de <i>Triticum aestivum</i> al nivel de madurez fisiológica a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%.....	45
VII. 19. Figura 11. Respuesta de <i>Phaseolus vulgaris</i> en la biomasa y rendimiento del fruto a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%	47
VII.21. Figura 12. Respuesta de <i>Triticum aestivum</i> en la biomasa y rendimiento del fruto a <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> con el NH_4NO_3 al 70%.....	49
VII.23. Figura 13. Prueba cualitativa de actividad de las fosfatasas de <i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i>	51

Acrónimos y significado

Acrónimos	Significado
AN	Agar nutritivo
AP	Altura de la planta
BAPOCEVE	Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal
C	Carbono
CA	Control absoluto
CANO	Caldo nutritivo
CR	Control relativo
C:N	Carbono: Nitrógeno
FENI	Fertilizante Nitrogenado
LR	Longitud radical
PFA	Peso fresco aéreo
PFR	Peso fresco radical
PSA	Peso seco aéreo
PSR	Peso seco radical
SUPOCEVE	Sustancias promotoras de crecimiento vegetal

I. Resumen

El crecimiento sano de *Phaseolus vulgaris* (frijol) y *Triticum aestivum* (trigo) requiere de NH_4NO_3 ó fertilizante nitrogenado (FENI), que en exceso al suelo causa pérdida de productividad. Una alternativa para evitar la hiperfertilización es inocular las semillas de *P. vulgaris* y *T. aestivum* con *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora*; géneros y especies de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BAPOCEVE) que, aceleran la germinación y mejoran el crecimiento del sistema radical para optimizar la dosis del FENI. Por lo que la hipótesis de este trabajo fue que *P. vulgaris* y *T. aestivum* responden positivamente a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%. El objetivo de este trabajo fue analizar la respuesta de *P. vulgaris* y *T. aestivum* a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* al 70% de NH_4NO_3 . El experimento se realizó bajo un diseño de bloque al azar con 6 repeticiones, se evaluó las variables de respuesta: porcentaje de germinación; la fenología: altura de la planta (AP) y longitud radical (LR); la biomasa: peso fresco y seco aéreo/radical (PFA/PFR) (PSA/PSR), a plántula, floración y madurez fisiológica, los datos experimentales se validaron por ANOVA/Tukey HSD $P < 0.05$. Los resultados mostraron una respuesta positiva de *P. vulgaris* con *B. thuringiensis* que registró un 94% de germinación, valor porcentual estadísticamente diferente a 83% de *P. vulgaris* sin inocular con el 100% de NH_4NO_3 ó CR, mientras *T. aestivum* con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* registró un 85%, valor porcentual estadísticamente diferente con el 73% de germinación de *T. aestivum* sin inocular con el 100% de NH_4NO_3 ó CR. Esto apoya que *P. vulgaris* y *T. aestivum* con *B. thuringiensis* y *M. echinospora*, favorecieron la conversión de exudados de semillas en sustancias promotoras de crecimiento vegetal (SUPOCEVE).

Palabras clave: Suelo, FENI, BAPOCEVE, SUPOCEVE, leguminosa, gramínea

Abstact

The healthy growth of *Phaseolus vulgaris* (beans) and *Triticum aestivum* (wheat) requires NH_4NO_3 or nitrogen fertilizer (FENI), which in excess of the soil causes loss of productivity. An alternative to avoid hyperfertilization is to inoculate the seeds of *P. vulgaris* and *T. aestivum* with *Bacillus thuringiensis* and *Micromonospora echinospora*; genera and species of plant growth promoting bacteria (BAPOCEVE) that accelerate germination and improve the growth of the root system to optimize the dose of FENI. Therefore, the hypothesis of this work was that *P. vulgaris* and *T. aestivum* respond positively to *B. thuringiensis* and *M. echinospora* with 70% NH_4NO_3 . The objective of this work was to analyze the response of *P. vulgaris* and *T. aestivum* to *B. thuringiensis* and *M. echinospora* to 70% NH_4NO_3 . The experiment was carried out under a randomized block design with 6 repetitions, the response variables were evaluated: germination percentage; phenology: plant height (AP) and root length (LR); biomass: aerial / root fresh and dry weight (PFA / PFR) (PSA / PSR), at seedling, flowering and physiological maturity, the experimental data were validated by ANOVA / Tukey HSD $P < 0.05$. The results showed a positive response of *P. vulgaris* with *B. thuringiensis* that registered 94% germination, a statistically different percentage value than 83% of *P. vulgaris* without inoculation with 100% NH_4NO_3 or CR, while *T. aestivum* with *B. thuringiensis* and *M. echinospora* registered 85%, a statistically different percentage value with 73% germination of *T. aestivum* without inoculation with 100% NH_4NO_3 or CR. This supports that *P. vulgaris* and *T. aestivum* with *B. thuringiensis* and *M. echinospora*, favored the conversion of seed exudates into plant growth promoting substances (SUPOCEVE).

Keywords: Soil, FENI, BAPOCEVE, SUPOCEVE, legume, grass

Respuesta de *Phaseolus vulgaris* y *Triticum aestivum* a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora* al 70% del NH_4NO_3

I. Introducción

El sano crecimiento de *Phaseolus vulgaris* (Frijol) y *Triticum aestivum* (trigo) requiere de fertilizante nitrogenado (FENI), el que es aplicado como NH_4NO_3 , en exceso causa pérdida de productividad del suelo (Martínez-Viera *et al.*, 2010) al desequilibrar la relación Carbono:Nitrógeno (C:N) con la disminución de materia orgánica, al decrecer la reserva de carbono (C) con un descenso de la diversidad de microorganismos benéficos para el crecimiento de la planta (Martínez *et al.*, 2008, Zahid *et al.*, 2015). Una alternativa de solución para ese problema es la inoculación de *P. vulgaris* y *T. aestivum* con *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* que son géneros y especies de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BAPOCEVE) endófitas benéficas para las plantas para mejorar la absorción del FENI reducido (Pérez & Chamorro., 2013, Singh *et al.*, 2018, Azizoglu *et al.*, 2019), ya que a partir de los exudados de la semillas de *P. vulgaris* y *T. aestivum* fueron transformados en sustancias promotoras de crecimiento vegetal (SUPOCEVE) (Richardson *et al.*, 2009, Camelo *et al.*, 2011) como: giberelina que aceleran la germinación, así como la auxina estimula la cariocinesis para un aumento de pelos radicales que permitan que la raíz explore área del suelo (Moreno *et al.*, 2018) y mejorar la capacidad de absorción radical del NH_4NO_3 al 70% mientras la citoquinina estimula la generación de brotes axilares e induce a la elongación radical (Molina-Romero *et al.*, 2015, Cortes *et al.*, 2019).

En la literatura se reporta un efecto benéfico del género *Bacillus* sp en semillas de gramíneas y leguminosas de manera individual o en mezcla con otros géneros y especies de BAPOCEVE (Araujo *et al.*, 2012, García *et al.*, 2016) como lo mencionan las investigaciones de Tejera-Hernández *et al.*, 2011 & Rojas-Solís *et al.*, 2013 sobre *Bacillus* sp que produce SUPOCEVE

y solubiliza fosfatos así mismo apoyan a la planta para la mejor absorción y optimización del NH_4NO_3 en especial con la dosis del FENI se decrece sin afectar el sano crecimiento de vegetal (Palaniyandi *et al.*, 2013)

En relación a *M. echinospora* es mínima la información sobre la inoculación en semillas, aunque algunos actinomicetos reconocidos por ser benéficos para leguminosas y gramíneas (Trujillo *et al.*, 2015), algunas de las características descritas por Shimizu., 2011 & Bhatti *et al.*, 2017 sobre *Micromonospora* sp son: la producción de fitohormonas ó SUPOCEVE, solubilización de fosfatos por la producción de la enzima fosfatasa alcalina y ácida. Por lo tanto, la información sobre la respuesta de *P. vulgaris* y *T. aestivum* a *Bacillus* y *Micromonospora* sp a dosis del FENI al 70% que se generó en este trabajo aporta el conocimiento de utilidad de esas BAPOCEVE para una agricultura sustentable que se basa en mantener la productividad por largo tiempo.

III. Antecedentes

Araujo *et al.*, 2012 analizaron la respuesta de *Z. mays* a *Bacillus* sp en suelo pobre en NH_4NO_3 , en invernadero, mediante las variables respuesta: PSR y PSA, bajo un diseño experimental de bloques al azar; validaron los datos con el análisis estadístico ANOVA Tukey $P < 0,05$. Los resultados mostraron una respuesta positiva de *Z. mays* a *Bacillus* sp con 9 g de PSA y 6 g de PSR, valores numéricos estadísticamente distintos comparados con los 5.8 g de PSA y 4.2 g de PSR de *Z. mays* sin inocular con el FENI al 100%.

Junges *et al.*, 2013 reportaron en *Z. mays* un mejor crecimiento con *B. subtilis* en suelo pobre en NH_4NO_3 , en invernadero, mediante las variables respuesta: LR y PSR, bajo un diseño experimental de bloques al azar; validaron los datos con el análisis estadístico Scott-Knott 5 %. Los resultados señalaron una respuesta benéfica de *Z. mays* a *B. subtilis*; con 7.42 cm de LR y 1.81 mg de PSR, valores numéricos con diferencia estadística comparados con los 4.68 cm de LR y 1.07 mg de PSR de *Z. mays* sin inocular con el NH_4NO_3 al 100%.

García-Radillo *et al.*, 2019 estudiaron en *Z. mays* a *Bacillus cereus* y *M. echinospora* en suelo pobre en NH_4NO_3 , en invernadero, mediante las variables respuesta: AP y PSR. Bajo un diseño experimental de bloques al azar, validaron los datos con el análisis estadístico ANOVA Tukey $P < 0,05$. Los resultados mostraron una respuesta positiva de *Z. mays* a *B. cereus* y *M. echinospora* con la dosis reducida del NH_4NO_3 al 50%, el cual registró un 37.7 cm de AP y 0.10 g de PSR, valores numéricos estadísticamente diferentes comparados con los 18.6 cm de AP y 0.07g de PSR de *Z. mays* sin inocular alimentado con la dosis del FENI al 100%.

Matsumura *et al.*, 2015 demostraron un mejor crecimiento de *Z. mays* a *Azospirillum brasilense* endófito con suelo pobre de NH_4NO_3 , en invernadero, mediante la variable respuesta AP, bajo

un diseño experimental completamente al azar, validaron los datos con la prueba de Scott-Knott $p < 0.05$. Los resultados señalaron mejoría en *Z. mays* a *A. brasilense* que registró un 89.46 cm de AP, valor numérico estadísticamente diferente comparado con el 42.76 cm de AP de *Z. mays* sin inocular con el NH_4NO_3 al 100%.

Custódio *et al.*, 2013 encontraron crecimiento sano de *P. vulgaris* a *B. subtilis* en suelo pobre en NH_4NO_3 , en invernadero, mediante la variable respuesta: peso seco, bajo el diseño experimental de bloques al azar, validaron los datos con el análisis estadístico SISVAR Tukey. Donde los resultados mostraron una respuesta positiva de *P. vulgaris* a *B. subtilis*; que registró 2.35 g de peso seco, valor numérico estadísticamente diferente comparado con el 1.62 g de peso seco de *P. vulgaris* sin inocular con el FENI al 100%.

Pérez-Fernández & Alexander., 2017 analizaron la respuesta de *Cicer arietinum* a *Bacillus megaterium* en suelo pobre de NH_4NO_3 , en invernadero, mediante la variable respuesta PSR, bajo un diseño experimental al azar, valoraron los datos con el análisis estadístico ANOVA Tukey $P < 0.05$. Los resultados demostraron mejoría de *C. arietinum* a *B. megaterium* que registró 2.3 g de PSR, valor numérico estadísticamente diferente comparado con el 1.2 g de PSR de *C. arietinum* sin inocular con el NH_4NO_3 al 100%.

Jog *et al.*, 2012 reportaron un crecimiento mejor de *T. aestivum* a *Streptomyces thermolilacinus*, en suelo pobre de NH_4NO_3 , en invernadero, mediante la variable respuesta: PFA, bajo un diseño experimental de bloques al azar, validaron los datos con el análisis estadístico ANOVA Tukey $P < 0.05$. Los resultados indicaron un aumento en el follaje de *T. aestivum* a *S. thermolilacinus*; que registró 0.450 g de PFA un valor numérico estadísticamente diferente comparado con el 0.195 g de PSA de *T. aestivum* sin inocular con el NH_4NO_3 al 100%.

Gopalakrishnan *et al.*, 2015 evaluaron en *C. arietinum* a *Streptomyces* sp en suelo pobre de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, en invernadero, mediante las variables respuestas: AP y PFA, bajo un diseño experimental de bloques al azar, validaron los datos con el análisis estadístico ANOVA Tukey $P < 0,05$. Los resultados reportaron una respuesta positiva de *C. arietinum* a *Streptomyces* sp; que registró; 55 cm de AP y 5.63 g de PFA, valores numéricos estadísticamente diferentes comparados con 50 cm de AP y 3.36 g de PFA de *C. arietinum* sin inocular con el $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ al 100%.

Anwar *et al.*, 2016 estudiaron en *T. aestivum* a *Streptomyces nobilis* en suelo pobre de NH_4NO_3 , en invernadero, mediante la variable respuesta peso seco total de las plántulas de *T. aestivum*. Bajo un diseño experimental de bloques al azar, los datos se validaron con el análisis estadístico ANOVA Tukey $p < 0,005$. Los resultados señalaron mejoría de *T. aestivum* a *S. nobilis* que registró 4.33 g de peso seco total, valor numérico estadísticamente diferente comparado con los 2.81 g de peso seco total de *T. aestivum* sin inocular con el NH_4NO_3 al 100%

Flores *et al.*, 2020 evidenciaron en *Cucumis sativus* a *Bacillus thuringiensis* en suelo pobre en NH_4NO_3 , en campo, mediante las variables respuesta PSA y PFR, bajo un diseño experimental de bloques al azar, validaron los datos con el análisis estadístico de la prueba test de Student ($p \leq 0.05$). Los resultados mostraron un crecimiento sano de *C. sativus* a *B. thuringiensis* que registró 138.66 g de PFA y 24.66 g de PFR, valores numéricos estadísticamente diferentes comparados con los 84.66 g de PFA y 21 g de PFR de *C. sativus* sin inocular con el NH_4NO_3 al 100%.

IV. Hipótesis

Por lo anterior la hipótesis del trabajo fue que *Phaseolus vulgaris* y *Triticum aestivum* responden positivamente a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%.

V. Objetivo general

El objetivo fue analizar la respuesta de *Phaseolus vulgaris* y *Triticum aestivum* a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* al 70% de NH_4NO_3 .

V.1. Objetivos específicos

Evaluar la respuesta de *P. vulgaris* y *T. aestivum* en fenología, biomasa y rendimiento con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* al 70% del NH_4NO_3 .

VI. Materiales y Métodos

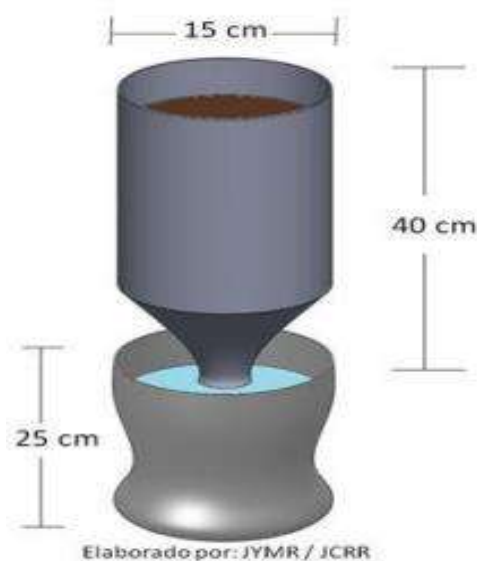
Esta investigación se realizó en el invernadero del laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH. Con las condiciones microclimáticas promedio como: temperatura de 23.2 °C, luminosidad de 450 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y humedad relativa de 67 %, el suelo se tamizó con una malla del No. 20, se solarizó a 70 °C / 48 h para minimizar plagas y enfermedades, posteriormente un 1.0 kg de suelo se colocó en el contenedor superior de la jarra de Leonard (Figura 1), las semillas de *P. vulgaris* y *T. aestivum* se desinfectaron con NaClO (hipoclorito de sodio) al 5% por 5 minutos, después se enjuagaron 5 veces con agua potable estéril, se desinfectaron en alcohol al 70 % por 5 minutos, se lavaron 5 veces con agua potable estéril. *B. thuringiensis* se activó en caldo nutritivo (CANO) con la siguiente composición química (g/L): peptona de caseína 5; extracto de levadura 3; agua destilada, ajustado el medio de cultivo a pH $6,8 \pm 0,2$; con el anti-fúngico Tecto®60 (Syngenta) se incubó a 30°C/ 36 h, posteriormente se observaron los cristales (Figura 2), mientras *M. echinospora* se reprodujo en agar hueso de aguacate (AHA) con la siguiente composición química (g/L): hueso de aguacate 10.0, peptona de caseína 5.0, extracto de levadura 1.3, K_2HPO_4 0.17, KH_2PO_4 2.61, MgSO_4 1.5, NaCl 0.9, CuSO_4 0.05, azul de bromotimol 10% (p/v) 10 ppm, solución de oligoelementos 1.0 mL, solución detergente 2.5 mL al 10%, antifúngico Tecto®60 1.0 mL al 10%, 1.0 mL, agar bacteriológico 18.0, a un pH de 7.5, se incubó a 30 °C/72 h. Entonces por cada 10 semillas de *P. vulgaris* y *T. aestivum* usó 1.0 mL de *B. thuringiensis* a densidad de 4.6×10^6 UFC/mL y *M. echinospora* a densidad de 3.5×10^6 unidades formadoras de propágulos/mL, el agua o FENI con la siguiente composición química g/L: NH_4Cl ó NH_4NO_3 10.0, K_2HPO_4 2.5, KH_2PO_4 2.0, MgSO_4 1.0, NaCl 0.1, CaCl_2 0.1, trazas de FeSO_4 , solución de oligoelementos 10.0 mL, ajustado a pH de 6.5-6.8 (Sánchez-Yáñez

2007), se colocó en la parte inferior de la jarra de Leonard cada tercer día durante 2 meses a base con la capacidad de retención del agua en el suelo se usaron 250 ml en la parte superior, se conectó con una tira de algodón de 20 cm de largo para el movimiento del líquido por capilaridad en la parte superior de la jarra de Leonard; las variables de respuesta de este ensayo fueron: porcentaje % de germinación, días de emergencia; la fenología: AP, LR; en biomasa: PFA/ PFR, PSA/PSR a plántula, floración y madurez fisiológica y rendimiento del fruto, los datos experimentales se validaron con el programa estadístico ANOVA/Tukey HSD $P < 0.05\%$ con Statgraphics Centurion . En la Tabla 1 se describe el diseño experimental con 2 controles y 6 tratamientos con 6 repeticiones: *P. vulgaris* ó *T. aestivum* irrigado con agua o control absoluto (CA); *P. vulgaris*/*T. aestivum* alimentado con FENI al 100% o control relativo (CR); *P. vulgaris* ó *T. aestivum* con *B. thuringiensis* y/o *M. echinospora* al 70% de NH_4NO_3 . Para comprobar que tanto *B. thuringiensis* como *M. echinospora* se encontraban en *P. vulgaris* y *T. aestivum* al nivel de floración se tomaron la raíz, el tallo y las hojas de ambas plantas las cuales se desinfectaron con cloro 1% agitado 3 min, se lavaron 5 veces con agua estéril, después se desinfectaron con alcohol al 70% por 3 min se lavaron 7 veces con agua estéril, cada tejido vegetal se colocó en morteros estériles donde se maceraron con 10 mL de solución salina detergente estéril, para la técnica de Kirby Bauer el líquido de los macerados de raíz, de tallo y de hojas, se sembró en: agar nutritivo (AN) y AHA en los que se colocaron los sensidiscos para la prueba de sensibilidad de antibióticos, las cajas se incubaron a 30 °C/72 h, para obtener el patrón de sensibilidad o resistencia (Tabla 11).

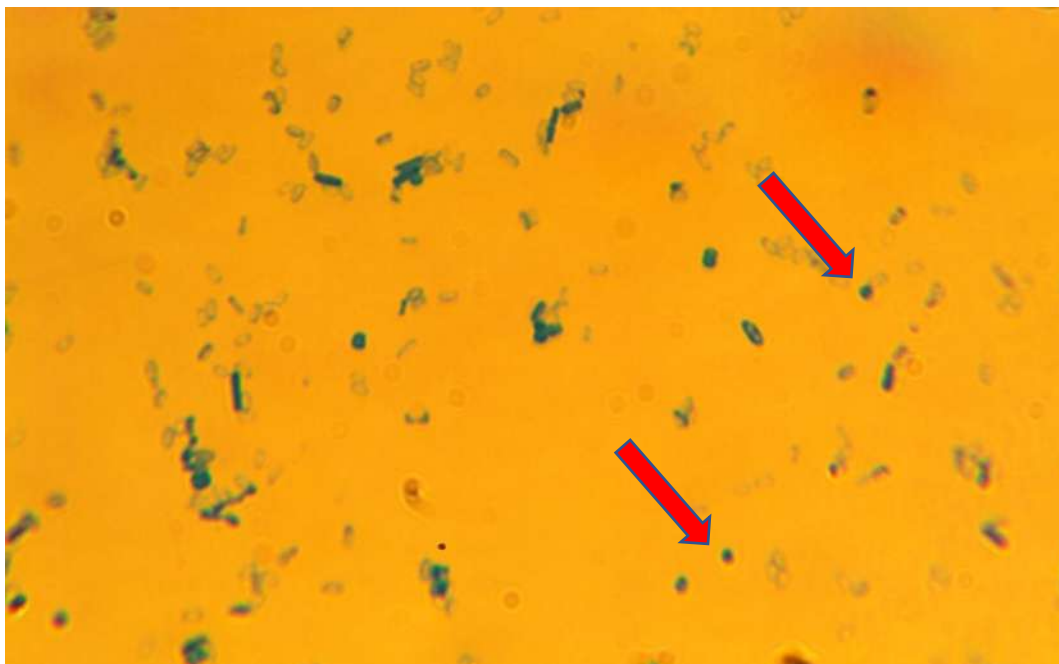
Además, se analizó la solubilización de fosfatos por *B. thuringiensis* y *M. echinospora* por lo que cada uno se sembró en agar fosfato de calcio, con la siguiente composición química (g/L): 10.0 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$; 5.0 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; 5.0 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0.025 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.2 KCl; 0.1 $(\text{NH}_4) \text{SO}_4$;

0.05 azul de bromotimol y 20.0 agar bacteriológico, con pH de 7, se incubó, a 28 °C / 48 y se observó la solubilización de fosfatos por la formación de un halo transparente en la colonia. Por la técnica de Gómez-Guiñán, 2004, para la determinación de la actividad de las fosfatasas ácidas y alcalinas de *P. vulgaris* y *T. aestivum* de los macerados raíz y tallo de *P. vulgaris* y *T. aestivum* con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* a floración con el NH_4NO_3 al 70%, de cada uno, se tomaron 5mL más 45mL de agua destilada estéril, se transfirió con 20mL de amortiguador universal ajustado a pH de 5.5 y 9.0 para la determinación de fosfatasas ácidas y alcalinas respectivamente. Los preparados con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* se homogeneizaron a 800rpm/30segundos, se recuperó 3mL de la suspensión y se añadió 1mL de p-nitrofenilfosfato (PNF) (0.025M), se incubaron por 3h/37°C, se centrifugaron a 2000rpm/10min, se tomó 0.5mL del sobrenadante con 4.5mL de NaOH (0.5M). El p-nitrofenol liberado, se midió en espectrofotómetro a 410nm. Los datos se validaron por el análisis estadístico ANOVA Tukey $P < 0.05$.

VI.1 Figura 2. Diseño de la jarra de Leonard (García- González *et al.*, 2005)



VI.2 Figura 2. Cristales de *Bacillus thuringiensis*



En la Figura 2 se mostro con una flecha roja los cristales de *Bacillus thuringiensis*, se puso observar el cristal con forma de rombo y cuadrado con lo cual se comprueba que se inoculó *B. thuringiensis* (García-Ramírez *et al.*, 2018)

VI.3. Tabla 1. Diseño experimental para analizar la respuesta de *Phaseolus vulgaris* y *Triticum aestivum* a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* al 70% del NH_4NO_3

<i>*Phaseolus vulgaris</i> <i>/Triticum aestivum</i>	Agua	Fertilizante nitrogenado	<i>Bacillus</i> <i>thuringiensis</i>	<i>Micromonospora</i> <i>echinospora</i>
Control absoluto (CA)	+	-	-	-
Control Relativo (CR)	-	100%	-	-
Tratamiento 1	-	70%	+	-
Tratamiento 2	-	70%	-	+
Tratamiento 3	-	70%	+	+

*n= 6; (+) agregado; (-) no agregado

VII. Resultados y discusión

VII.1. Tabla 2. Parámetros Fisicoquímicos del suelo de origen del municipio de Salvador Escalante para la evaluación de la respuesta de *Phaseolus vulgaris* y *Triticum aestivum* a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* al 70% de NH_4NO_3

Parámetros físicos	Resultados	Interpretación
pH 1:2 (H_2O)	5.75	Moderadamente ácido
Conductividad Eléctrica 1:2 (H_2O) (ms/cm)	0.91	Efectos despreciables de salinidad
Densidad aparente (s/mL)	0.72	Fina
Materia Orgánica (%), Método de Walkley-Black	10.44	Alto
Textura (Triángulo de Texturas)	Franco arcilloso	
Arcilla (%)	31.8	
Arena (%)	26.92	Limo arcilloso
Limo (%)	42.00	
Nitrógeno total (%) (Método Kjeldahl)	0.32	Medio
Nitrógeno Nitrato (ppm) (como nitratos UV)	244.16	Alto
Aniones	pmm	Niveles
Carbonatos CO_3^{2-} (Titulación)	0.00	Bajo
Bicarbonatos HCO_3^- (Titulación)	183.03	Medio
Cloruros Cl^- (Mohr)	141.80	Débilmente agresivo
Fósforo de Fosfatos P- PO_4^{3-} (Bray)	29.34	Alto
**		

NOM-021.RECNAT-2000

En la Tabla 2 se muestran los parámetros fisicoquímicos del suelo, de acuerdo a la NOM-021.RECNAT-2000, se determinó un pH de 5.75, lo cual la norma establece que es moderadamente ácido, contiene un alto nivel de materia orgánica, la textura se clasifica en franco arcilloso limoso, mientras que la conductividad Eléctrica 1:2 es de un suelo no salino (H_2O) (mS/cm): 0.91, indica efectos desperdiciables de la salinidad, determino nivel bajo de carbonatos CO_3 .

VII.2. Tabla 3. Efecto de *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* en la germinación de *Phaseolus vulgaris* al 70% del NH_4NO_3 .

Tratamientos* <i>P. vulgaris</i>	Días de emergencia	Porcentaje % de germinación
Irrigado con agua o Control absoluto (CA)	*5 ^b	77 ^e
Alimentado con el 100% de NH_4NO_3 o Control relativo (CR)	5 ^b	83 ^b
<i>Bacillus thuringiensis</i> a dosis del 70% de NH_4NO_3	3 ^a	94 ^a
<i>Micromonospora echinospora</i> a dosis del 70% de NH_4NO_3	3 ^a	91 ^a
<i>B. thuringiensis</i> y <i>M.</i> <i>echinospora</i> a dosis del 70% de NH_4NO_3	3 ^a	94 ^a

*n=6, **Letras distintas indican diferencia estadística por ANOVA Tukey $P>0,05\%$

En la Tabla 3, se demostró el efecto positivo de *B. thuringiensis* y *M. echinospora* en la semilla de *P. vulgaris* con el NH_4NO_3 al 70%, que registro el 94% de germinación, en tanto que en la emergencia fue al 3 día, estos hechos apoyan que la semilla de *P. vulgaris* al embeber el agua activaron la α -amilasa que hidrolizó la amilosa del almidón, con la liberación de glucosa y maltosa como fuentes de carbono, energía y otros compuestos como aminoácidos y ácidos orgánicos que *B. thuringiensis* y *M. echinospora* transformaron en SUPOCEVE del tipo giberelina la que acelero el rompimiento de la latencia de la semilla de *P. vulgaris* (Gonzáles & Fuentes., 2017), el efecto de *B. thuringiensis* y *M. echinospora* en el porcentaje de germinación con los días de emergencia de *P. vulgaris* fueron estadísticamente diferentes comparados con el 83% de la emergencia el 5 día de *P. vulgaris* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% ó control relativo (CR) sin una eficaz absorción del FENI.

VII.3. Figura 3. Efecto de *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* en la germinación de *Phaseolus vulgaris* a los 5 días después de siembra NH_4NO_3



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Instituto de Químico biológicas
Laboratorio de microbiología ambiental

Control relativo

Germinación de la semilla de *Phaseolus vulgaris* a los 5 días después de la siembra sin inocular alimentada con el 100% de NH_4NO_3

Responsable: Adilene Velazquez Medina



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Instituto de Químico biológicas
Laboratorio de microbiología ambiental

Tratamiento 3

Germinación de la semilla de *Phaseolus vulgaris* a los 5 días después de la siembra inoculada con *B. thuringiensis* / *M. echinospora* a dosis del 70% de NH_4NO_3

Responsable: Adilene Velazquez Medina

En la Figura 3 se presentó el efecto positivo de *B. thuringiensis* y *M. echinospora* en la semilla de *P. vulgaris* el 5º día, después de la siembra ahí se observó que el primordio de tallo y raíz alcanzó el mayor tamaño con un aumento de la longitud de la raíz, en comparación con la semilla de *P. vulgaris* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% ó CR.

VII.4. Tabla 4. Efecto de *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* en la germinación y días de emergencia de *Triticum aestivum* al 70% del NH_4NO_3 .

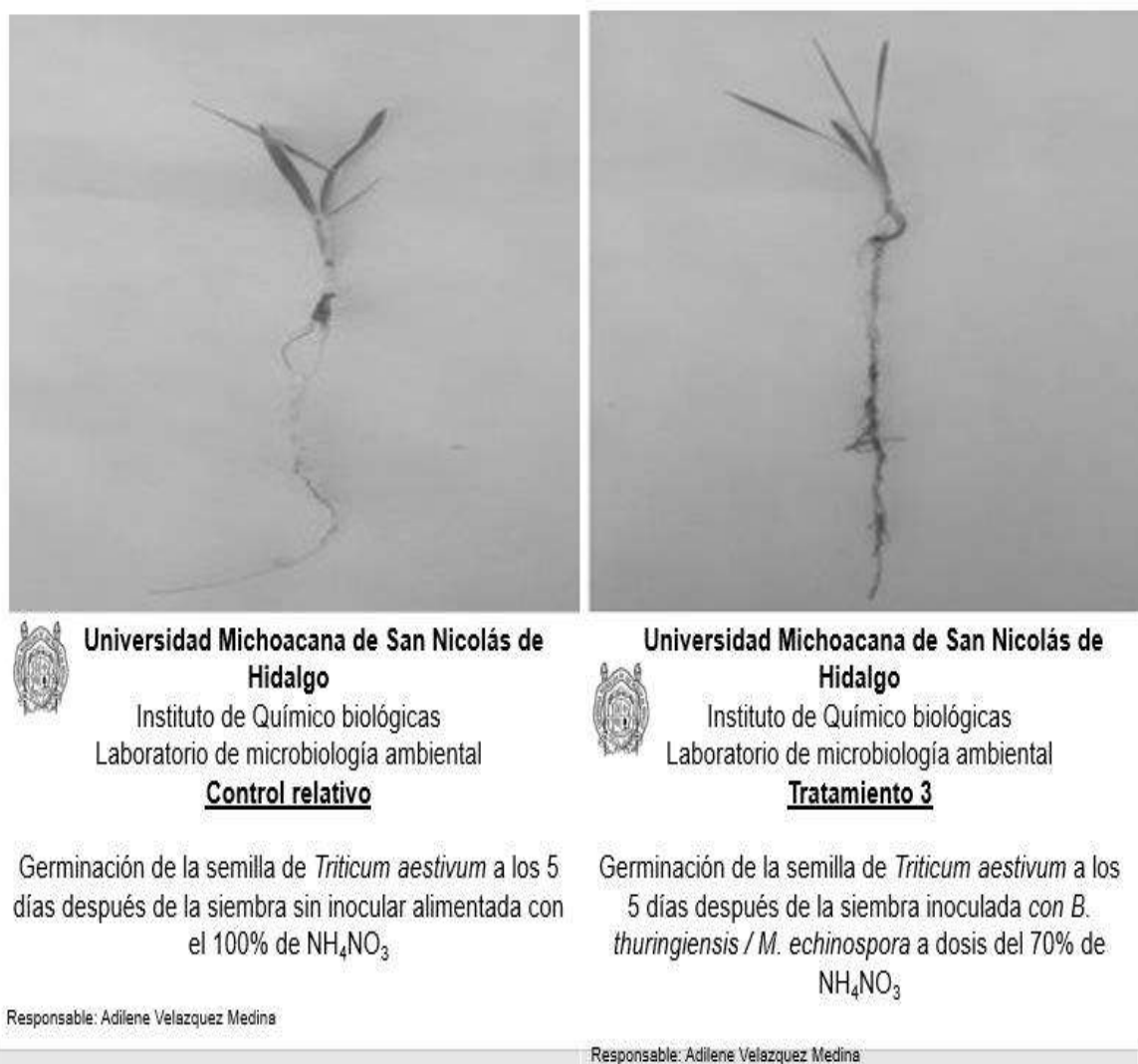
Tratamientos * <i>Triticum aestivum</i>	Días de emergencia	Porcentaje % de germinación
Irigado con agua Control absoluto ó (CA)	5 ^{b**}	66 ^d
Alimentado con el 100% de NH_4NO_3 ó Control relativo (CR)	5 ^b	73 ^c
<i>Bacillus thuringiensis</i> a dosis del 70% de NH_4NO_3	3 ^a	80 ^b
<i>Micromonospora echinospora</i> a dosis del 70% de NH_4NO_3	3 ^a	85 ^b
<i>B. thuringiensis</i> y <i>M.</i> <i>echinospora</i> a dosis del 70% de NH_4NO_3	3 ^a	90 ^a

*n=6, **Letras distintas indican diferencia estadística por ANOVA Tukey $P>0,05\%$

En la Tabla 4 se presentó el efecto positivo de *B. thuringiensis* y *M. echinospora* en la semilla de *T. aestivum* con el NH_4NO_3 al 70%; que registró un 90% de germinación con una emergencia de 3 días, estos hechos apoyaron que debido al llamado efecto espermosfera de la semilla de *T. aestivum* tanto *B. thuringiensis* como *M. echinospora* convirtieron exudados de la semilla como glucosa, maltosa, aminoácidos y ácidos orgánicos en SUPOCEVE como la giberelina, que induce la mayor síntesis de α -amilasa para acelerar la degradación del almidón de *T. aestivum*; esta giberelina debilitó el endospermo para el reducir el tiempo de latencia de la semilla para la rápida formación de primordio de tallo y de la raíz (Loredo-Osti *et al.*, 2004, Balaguera-López *et al.*, 2009). El efecto positivo de *B. thuringiensis* y *M. echinospora* en el porcentaje de germinación con días de emergencia de *T. aestivum* fueron estadísticamente diferentes en comparación con el 73% de germinación de la emergencia con 5 días de *T.*

aestivum sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% ó CR donde la dosis del FENI no es absorbida de manera eficiente.

VII.5. Figura 4. Efecto de *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* en la germinación de *Triticum aestivum* a los 5 días después de siembra



En la Figura 4 se mostró a la semilla de *T. aestivum* con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* que al 5° día después de la siembra; alcanzo un mayor crecimiento de la raíz comparado con la semilla de *T. aestivum* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% ó CR que tiene una raíz menos densa.

VII.6 Tabla 5. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* al nivel de plántula a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%

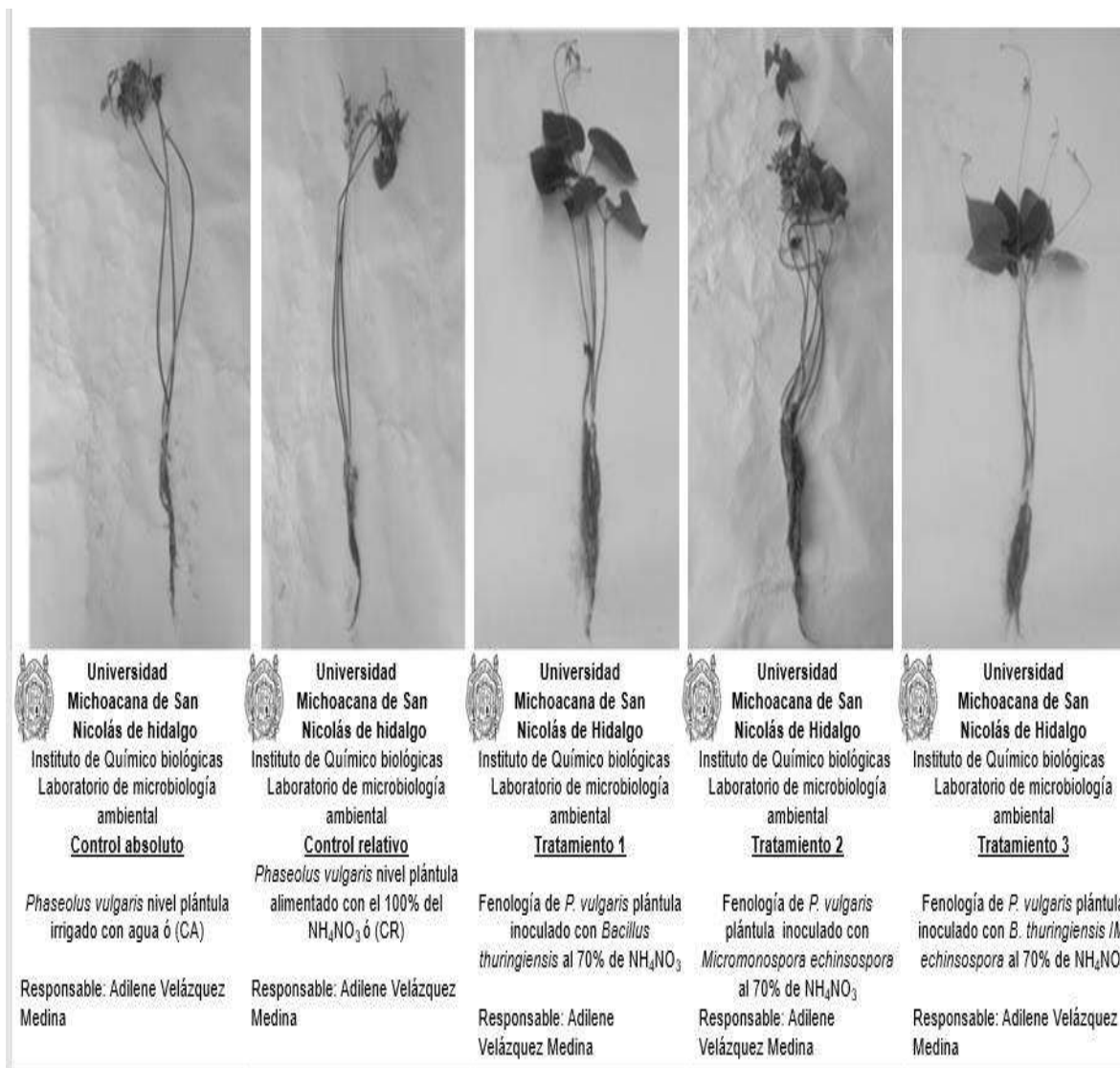
Tratamientos * <i>P. vulgaris</i>	Altura de la planta (AP) cm	Longitud radical (LR) cm	Peso fresco aéreo (PFA)	Peso fresco radical (PFR) g	Peso Seco aéreo (PSA) g	Peso seco radical (PSR) g
Irrigado con agua Control absoluto (CA)	18.5 ^{c**}	9.16 ^b	0.85 ^b	0.43 ^b	0.08 ^c	0.02 ^b
Alimentado con el 100% FENI Control relativo (CR)	30.83 ^b	14.33 ^a	1.08 ^b	0.76 ^b	0.15 ^b	0.04 ^b
<i>B. thuringiensis</i> a dosis del 70% de FENI	36.5 ^{ab}	16.16 ^a	2.69 ^a	2.26 ^a	0.22 ^{ab}	0.08 ^a
<i>M. echinospora</i> a dosis del 70% de FENI	42.33 ^a	16.16 ^a	2.82 ^a	2.35 ^a	0.31 ^a	0.11 ^a
<i>B. thuringiensis</i> y <i>M. echinospora</i> a dosis del 70% de FENI	37.33 ^a	15.66 ^a	2.13 ^a	2.05 ^a	0.25 ^a	0.11 ^a

*n=6 **Letras distintas indican diferencia estadística por ANOVA Tukey $P>0,05\%$.

En la Tabla 5, se indicó la respuesta de *P. vulgaris* al nivel de plántula a *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%, que registró 42.33 cm de AP, 16.16 cm de LR, así como 2.82 g de PFA 2.53 g de PFR, 0.31 g de PSA y 0.11 g de PSR, estos resultados apoyan que *M. echinospora* endófito convirtió a partir de los compuestos de la fotosíntesis C3 y C4 de *P. vulgaris* en SUPOCEVE: la auxina que aumentó la cariocinesis para generar un incremento en la densidad de pelos radicales, que ganaron más área de exploración en el suelo (Noumayo *et al.*, 2016, Trujillo *et al.*, 2015) para la máxima absorción del NH_4NO_3 al 70%. Esta auxina fue probablemente sintetizada a mayor concentración por *M. echinospora*, que aceleró la elongación de tallos y raíces de *P. vulgaris*; este resultado fue similar a lo reportado por Gopalakrishnan *et al.*, 2015 que analizaron la respuesta de *Cicer arietinum* a *Streptomyces* sp con suelo pobre en FENI, este

hecho apoyo que *M. echinospora* tuvo la capacidad de sintetizar SUPOCEVE como la auxina que con la citoquinina contribuyeron al aumento de diámetro del tallo y densidad de raíces de *P. vulgaris*, estos resultados de la repuesta positiva de *T. aestivum* a *M. echinospora* con el 70% de NH_4NO_3 fueron estadísticamente diferentes comparados con los 30.83 cm de AP, 14.33 cm de LR, 1.08 g de PFA, 0.76 g de PFR, 0.15 g de PSA y 0.04 g de PSR de *P. vulgaris* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% ó CR donde se demostró que la absorción radical del FENI sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* no fue la máxima aprovechada. Mientras tanto los PO_4^{-3} precipitados en el suelo necesarios para el crecimiento de *P. vulgaris* se solubilizaron por las fosfatasas acidas activadas por *B. thuringiensis* y *M. echinospora* como se indica en la Tabla 14.

V11. 7. Figura 5. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* al nivel de plántula a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%



En la Figura 5, se señaló a *P. vulgaris* a plántula con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70% donde hubo incremento de la altura del tallo con mayor densidad del sistema radical, comparado con *P. vulgaris* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% ó CR que se observó menor tamaño de hojas al igual en las raíces porque el FENI no se absorbió al máximo.

VII. 8. Tabla 6. Respuesta de *Triticum aestivum* al nivel de plántula a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%.

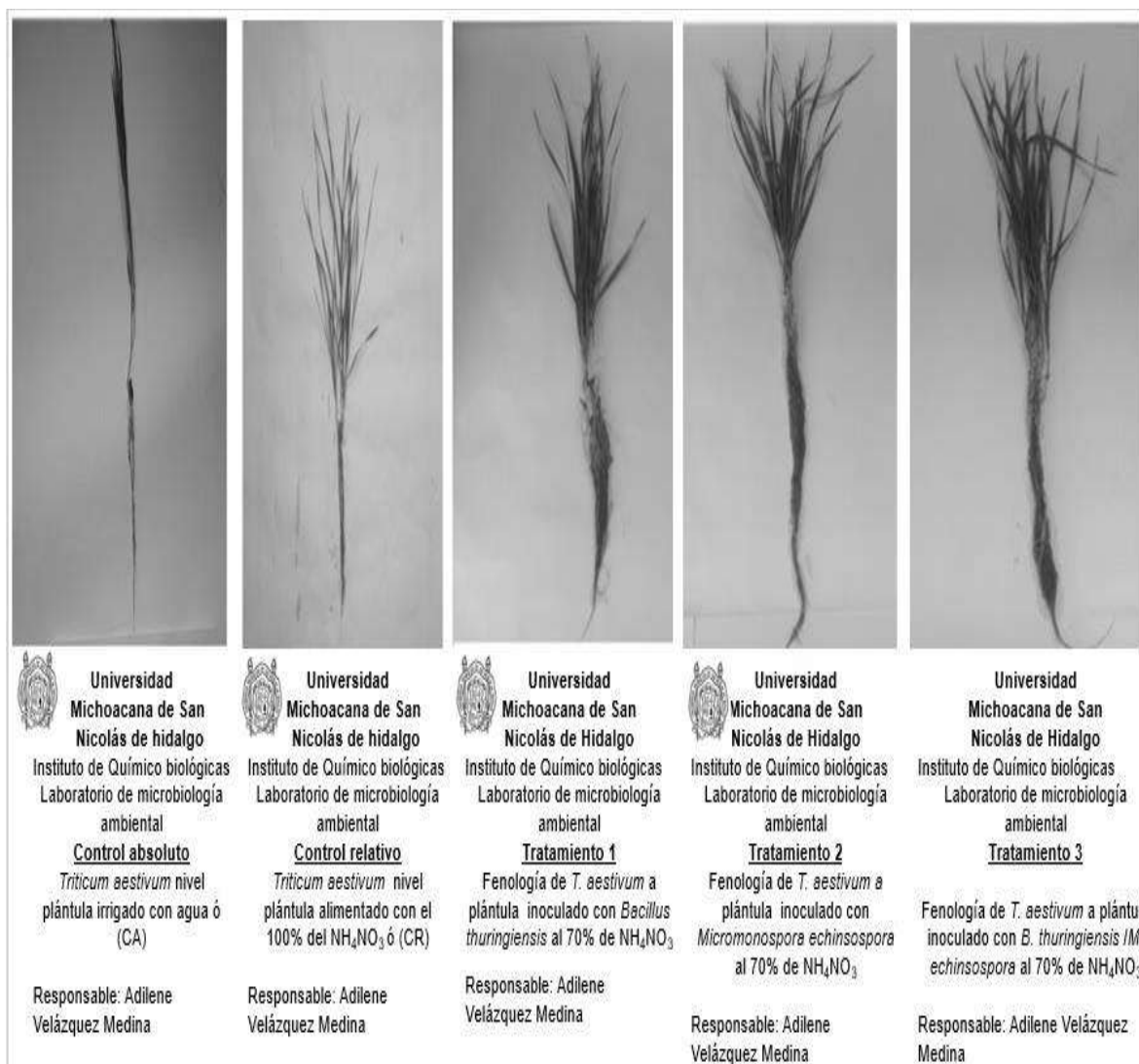
Tratamientos * <i>T. aestivum</i>	Altura de l planta (AP (cm)	Longitud radical (LR) (cm)	Peso fresco aéreo (PFA) (g)	Peso fresco radical (PFR (g)	Peso Seco aéreo (PSA (g)	Peso seco radical (PSR) (g)
Irrigado con agua control absoluto (CA)	15.0 ^{b**}	11 ^b	0.15 ^b	0.02 ^b	0.02 ^b	0.01 ^b
Alimentado con el 100% FENI Control relativo (CR)	17.83 ^b	14.0 ^b	0.28 ^b	0.08 ^b	0.03 ^b	0.01 ^b
<i>B. thuringiensis</i> a dosis del 70% de FENI	26.33 ^a	15.66 ^a	0.44 ^a	0.40 ^a	0.12 ^a	0.05 ^a
<i>M. echinospora</i> a dosis del 70% de FENI	24.16 ^a	18.83 ^a	0.44 ^a	0.53 ^a	0.06 ^a	0.06 ^a
<i>B. thuringiensis</i> y <i>M. echinospora</i> a dosis del 70% de FENI	26.53 ^a	19.0 ^a	0.55 ^a	0.67 ^a	0.08 ^a	0.06 ^a

*n=6 **Letras distintas indican diferencia estadística por ANOVA Tukey $P>0,05\%$.

Se presentó la respuesta de *T. aestivum* al nivel de plántula a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70% que registró 26.53 cm de AP, 19.0 cm de LR, así como 0.55 g de PFA, 0.67 g de PFR, 0.08 de PSA y 0.06 g de PSR, estos hechos apoyan que *B. thuringiensis* y *M. echinospora* endófitos en el primordio de la raíz convirtieron metabolitos intermediarios de la fotosíntesis de *T. aestivum* del tipo C3, que por el xilema toman estos metabolitos intermediarios para convertirlos en SUPOCEVE como la auxina y citoquinina que favorecieron la división y elongación celular (Pedraza *et al.*, 2010, Bisht *et al.*, 2018) para la formación de raíces adventicias y pelos radicales que mejoraron a una mayor exploración radical del suelo y optimizaron la absorción del FENI NH_4NO_3 al 70% (Hirsch *et al.*, 2010; Sharma *et al.*, 2017); como lo reportaron Araujo *et al.*, 2012, que analizaron la respuesta de *Z. mays* a *Bacillus* sp con

suelo pobre de FENI, con un aumentó en el PSR, porque *Bacillus* sp sintetizo auxina que indujo un mejor crecimiento radical para optimizar el FENI, los valores numéricos de la respuesta positiva de *T. aestivum* a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70% tuvieron diferencia estadística comparados con los 17.83 cm de AP, 14.0 cm de LR, 0.28 g de PFA, 0.08 g de PFR, 0.03 g de PSA y 0.06 g de PSR de *T. aestivum* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% ó CR que se comprobó que la absorción del FENI no fue la máxima con menos crecimiento vegetal.

VII.9. Figura 6. Respuesta de *Triticum aestivum* al nivel de plántula a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%



En la Figura 6, se demostró la respuesta positiva de *T. aestivum* al nivel de plántula a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%, se observó un tallo grueso con un incremento en el área del sistema radical lo que señala que *B. thuringiensis* y *M. echinospora* mejoró la absorción al máximo del NH_4NO_3 al 70%, comparado con *T. aestivum* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% ó CR donde el tallo tiene menor diámetro y el sistema radical fue de menos densidad.

VII.10. Tabla 7. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* al nivel de floración a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%

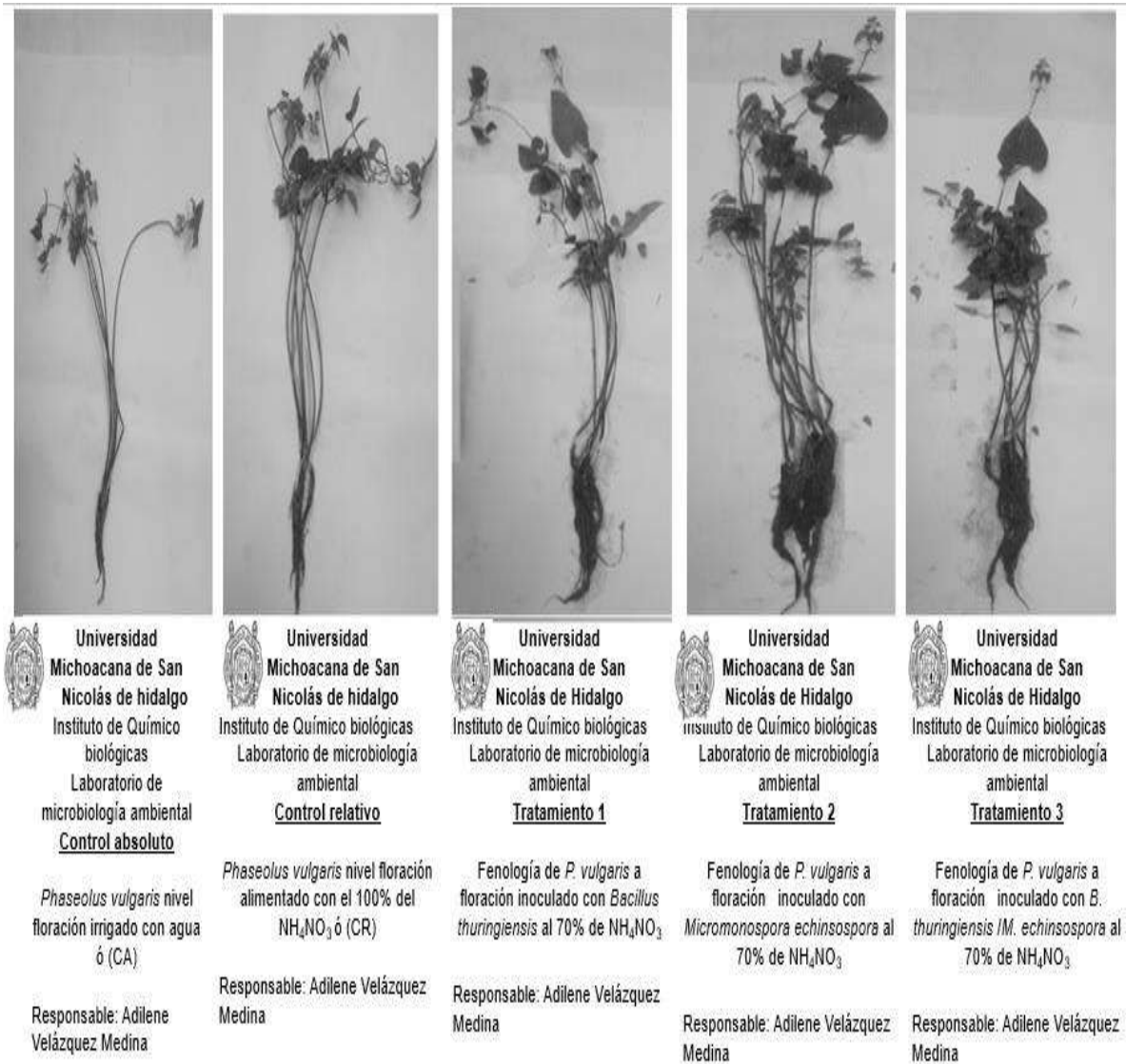
Tratamientos * <i>P. vulgaris</i>	Altura d la planta (AP) (cm)	Longitud radical (LR) (cm)	Peso fresco aéreo (PFA) (g)	Peso fresco radical (PFR) (g)	Peso Seco aéreo (PSA) (g)	Peso seco radical (PSR) (g)
Irrigado con agua Control absoluto (CA)	52.0 ^{c**}	12.83 ^c	1.80 ^d	0.40 ^b	0.26 ^c	0.04 ^c
Alimentado con el 100% FENI Control relativo (CR)	59.9 ^{bc}	15.5 ^c	3.54 ^c	0.78 ^b	0.32 ^c	0.07 ^c
<i>B. thuringiensis</i> a dosis del 70% de FENI	62.16 ^a	18.33 ^b	4.90 ^a	4.46 ^a	0.84 ^b	0.17 ^b
<i>M. echinospora</i> a dosis del 70% de FENI	63.66 ^a	24.66 ^a	5.54 ^a	5.36 ^a	1.15 ^a	0.25 ^a
<i>B. thuringiensis</i> y <i>M.</i> <i>echinospora</i> a dosis del 70% de FENI	71.33 ^a	26.33 ^a	5.67 ^a	5.64 ^a	1.61 ^a	0.32 ^a

*n=6 **Letras distintas indican diferencia estadística por ANOVA Tukey $P>0,05\%$.

En la Tabla 7, se presentó a *P. vulgaris* al nivel de floración con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%; ahí registró 71.33 cm de AP, 26.33 cm de LR, así como 5.67 g de PFA, 5.64 g de PFR, 1.61 g de PSA y 0.32 g de PSR, estos resultados apoyan que *P. vulgaris* respondió positivamente a *B. thuringiensis* y *M. echinospora*, que convirtió los metabolitos intermediarios de la fotosíntesis C3 y C4 de *P. vulgaris*, en SUPOCEVE: como la auxina que en *P. vulgaris* alcanzó mayor concentración en la zona apical, junto con la giberelina, indujo un mejor y rápido crecimiento del tallo y hojas (Reyna *et al.*, 2016) como lo reportaron Pérez-Fernández & Alexander, 2017 que investigaron la respuesta de *Cicer arietinum* a *Bacillus megaterium* con suelo pobre de FENI, lo que señalaron que *B. megaterium* sintetizo auxina y giberelina las que indujeron a la floración vegetal y con el incremento del

PSR, los valores numéricos anteriores de la respuesta positiva de *P. vulgaris* en la floración a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* y el NH_4NO_3 al 70% fueron estadísticamente diferentes comparados con los 59.9 cm de AP, 15.5 cm de LR, 3.54 g de PFA, 0.78 g de PFR, 0.32 g de PSR y 0.07 g de PSR de *P. vulgaris* sin *B. thuringiensis* ni *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% ó CR donde se mostró que la dosis recomendada del FENI no fue absorbida ni optimizada por *P. vulgaris*.

VII. 11. Figura 7. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* al nivel de floración a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%



En la Figura 7 se mostró a *P. vulgaris* al nivel de floración con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70% registró un incremento en el grosor del tallo, mayor tamaño y número de hojas con sistema área radical abundante, comparado con *P. vulgaris* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% ó CR que tiene hojas pequeñas, menor grosor del tallo y menos raíz densa.

VII. 12. Tabla 8. Respuesta de *Triticum aestivum* al nivel de floración a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%

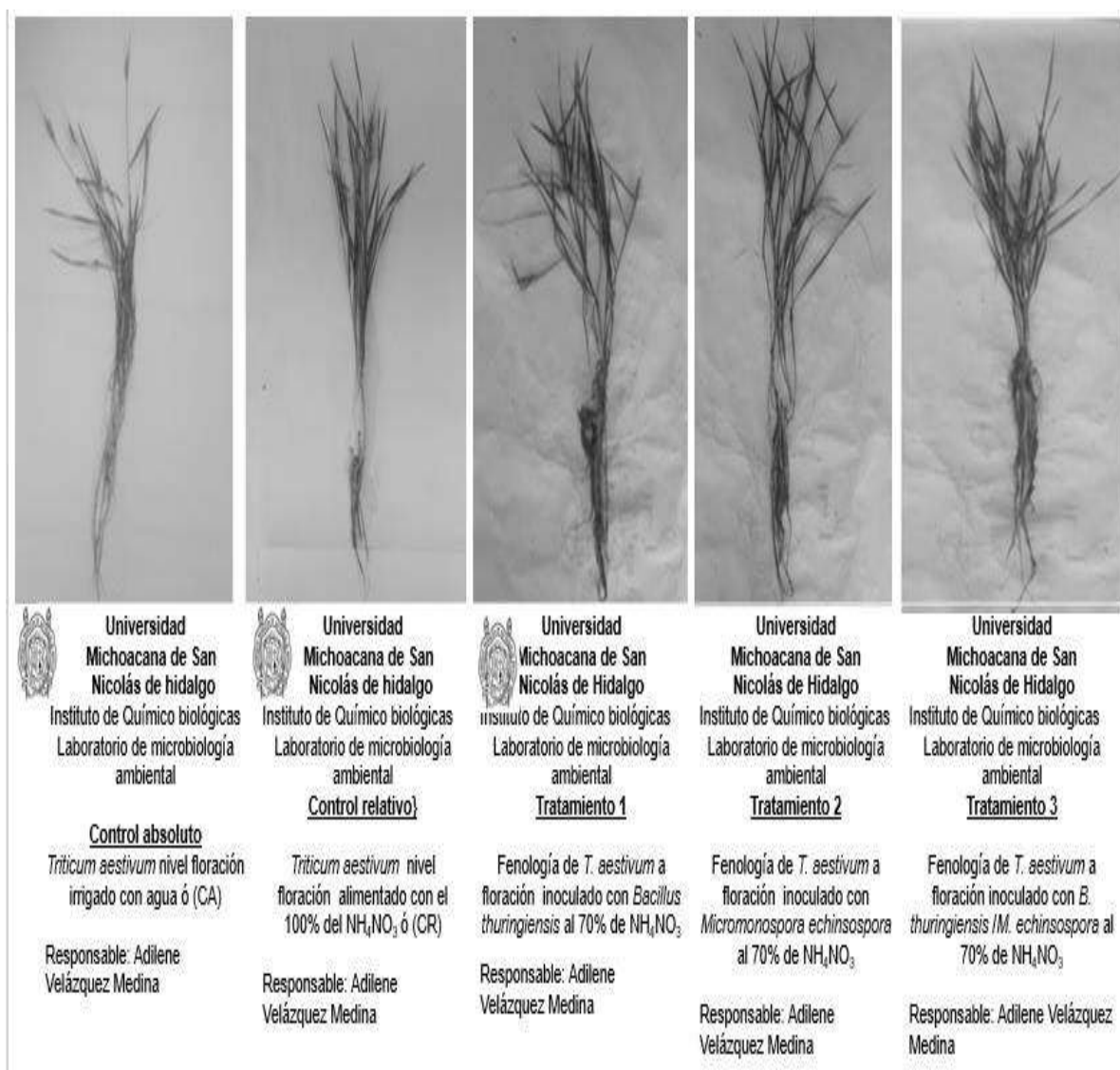
Tratamientos * <i>T. aestivum</i>	Altura de la planta (AP) cm	Longitud radical (LR) cm	Peso fresco aéreo (PFA) g	Peso fresco radical (PFR) g	Peso Seco aéreo (PSA) g	Peso seco radical (PSR) g
Irrigado con agua Control absoluto (CA)	18.8 ^{b**}	7.5 ^b	0.06 ^b	0.22 ^d	0.06 ^b	0.01 ^b
Alimentado con el 100% FENI Contro relativo (CR)	28.16 ^b	9.66 ^b	0.45 ^b	0.39 ^b	0.09 ^b	0.01 ^b
<i>B. thuringiensis</i> a dosis del 70% de FENI	34.19 ^a	16.16 ^a	0.70 ^a	0.69 ^a	0.22 ^a	0.05 ^{ab}
<i>M. echinospora</i> a dosis del 70% de FENI	39.66 ^a	16.66 ^a	0.82 ^a	0.75 ^a	0.25 ^a	0.05 ^{ab}
<i>B. thuringiensis</i> y <i>M. echinospora</i> a dosis del 70% de FENI	39.83 ^a	17.33 ^a	0.93 ^a	0.77 ^a	0.25 ^a	0.14 ^a

*n=6 **Letras distintas indican diferencia estadística por ANOVA Tukey $P>0,05\%$.

En la Tabla 8, se señaló la respuesta de *T. aestivum* al nivel de floración a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%, que registró 39.83 cm de AP, 17.33 cm de LR, así como 0.93 g PFA, 0.77 g de PFR, 0.25 g de PSA y 0.14 g de PSR, estos resultados apoyan que *B. thuringiensis* y *M. echinospora* desde el interior de las raíces eficazmente convirtieron los metabolitos intermediarios de la fotosíntesis de *T. aestivum* del tipo C3, en SUPOCEVE como la auxina que aumentó la producción proteica (Sharma *et al.*, 2017) junto con la giberelina se encontraron en mayor concentración en *T. aestivum* que indujeron a la floración en el caso de *T. aestivum* la formación de la espiga, como lo argumento García-Radillo *et al.*, 2019 que analizaron la respuesta de *Z. mays* a *Bacillus cereus* y *M. echinospora* con suelo pobre en FENI, mencionaron que hubo un aumento en la síntesis de SUPOCEVE como la auxina y la giberelina, los valores numéricos de la respuesta positiva de *T. aestivum* a *B. thuringiensis* y *M.*

echinospora con el NH_4NO_3 al 70% tuvieron diferencia estadística con los 32.33 cm de AP, 9,66 cm de LR, 0.54 g de PFA, 0.11 g de PFR, 0.11 g de PSA y 0.01 g de PSR de *T. aestivum* sin *B. thuringiensis* ni *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% ó CR donde se demuestra que la absorción radical del FENI sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* no fue optimizada al máximo, cabe mencionar que los PO_4 que contenían *T. aestivum* no fueron suficientes para el sano crecimiento así que por medio de la acción de las fosfatasas acidas y alcalinas producidas por *B. thuringiensis* y *M. echinospora* los PO_4 precipitados en el suelo se convirtieron a asimilables para *T. aestivum*.

VII. 13. Figura 8. Respuesta de *Triticum aestivum* al nivel de floración a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%



En la Figura 8 se enseñó la respuesta positiva de *T. aestivum* al nivel de floración a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70% que registró un aumento en el grosor del tallo con mayor área del sistema radical y aceleró la formación de la espiga, a comparación con *T. aestivum* sin *B. thuringiensis* ni *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% ó CR que tiene menos sistema radical y la espiga es más pequeña.

VII. 14. Tabla 9. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* al nivel de madurez fisiológica a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%

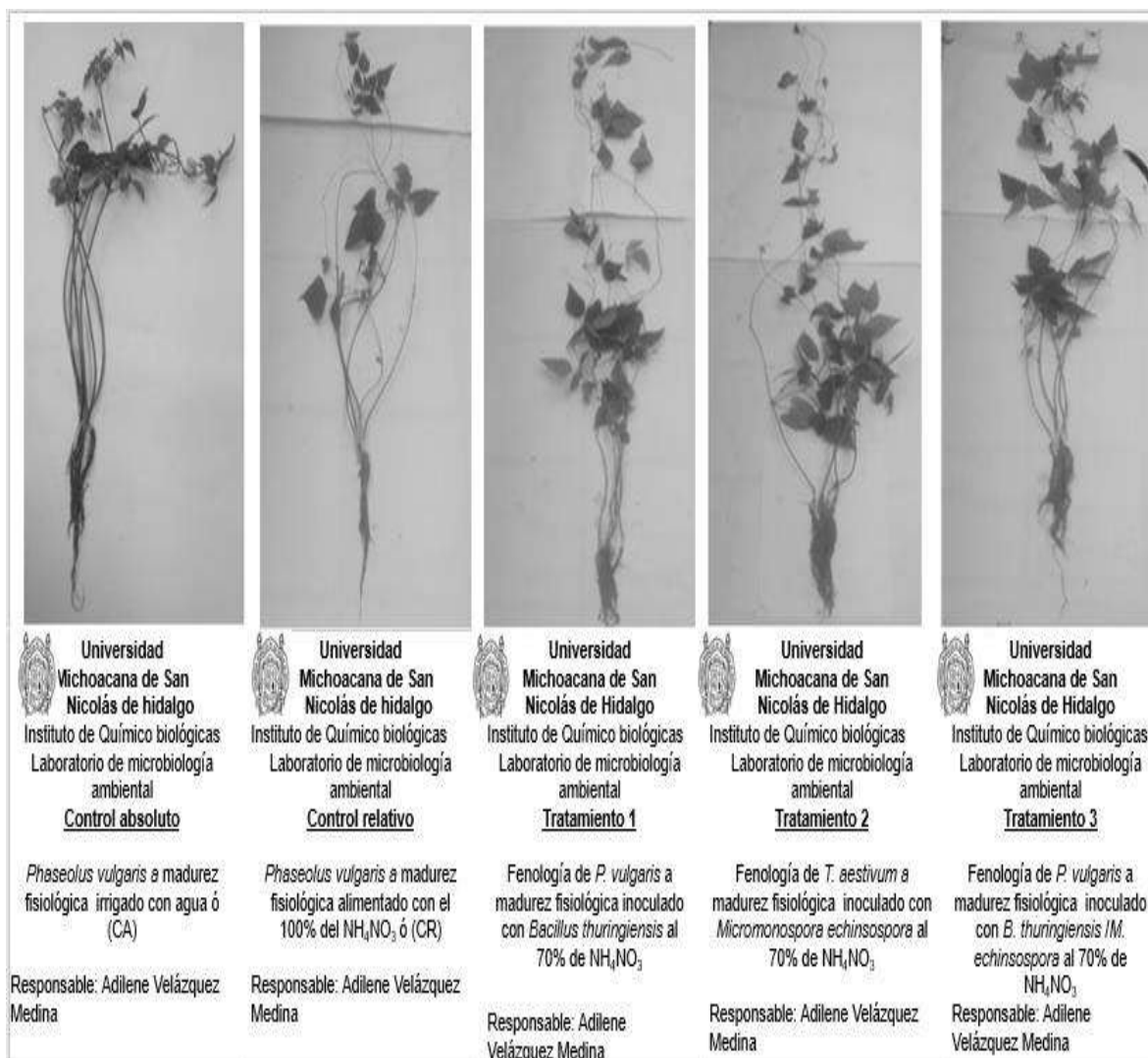
Tratamientos * <i>P. vulgaris</i>	Altura de la planta (AP) (cm)	Longitud radical (LR) (cm)	Peso fresco aéreo (PFA) (g)	Peso fresco radical (PFR) (g)	Peso Seco aéreo (PSA) (g)	Peso seco radical (PSR) (g)
Irrigado con agua Control absoluto (CA)	68.83 ^{b**}	15.33 ^c	3.35 ^b	2.72 ^c	0.93 ^d	0.03 ^b
Alimentado con el 100% FENI Control relativo (CR)	91.16 ^b	23.33 ^b	4.92 ^b	3.34 ^c	1.73 ^c	0.05 ^b
<i>B. thuringiensis</i> a dosis del 70% de FENI	98.16 ^a	26.5 ^a	7.55 ^a	6.06 ^b	2.63 ^b	0.23 ^a
<i>M. echinospora</i> a dosis del 70% de FENI	117 ^a	27 ^a	7.90 ^a	7.08 ^a	3.80 ^a	0.28 ^a
<i>B. thuringiensis</i> y <i>M</i> <i>echinospora</i> a dosis del 70% de FENI	125.5 ^a	28.83 ^a	8.99 ^a	8.35 ^a	3.83 ^a	0.33 ^a

*n=6 **Letras distintas indican diferencia estadística por ANOVA Tukey $P > 0,05\%$.

En la Tabla 9, se presentó la respuesta de *P. vulgaris* al nivel de madurez fisiológica a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70% que registró: 125.5 cm de AP, 28.83 cm de LR, así como 8.99 g de PFA, 8.35 g de PFR, 3.83 g de PSA y 0.33 g de PSR, estos resultados apoyan que *B. thuringiensis* y *M. echinospora* convirtieron los metabolitos intermediarios de la fotosíntesis C3 y C4 de *P. vulgaris*, en SUPOCEVE: citoquininas que estimularon la generación de brotes axilares vegetales e indujeron a la elongación de raíces, junto con la auxina y la giberelina aumentaron el crecimiento radical (Jordán & Casaretto., 2006, Zúñiga-Sánchez *et al.*, 2017) que incrementó el área de exploración en el suelo para mejorar la absorción al máximo del NH_4NO_3 al 70%. Los PO_4^{-3} que absorbió *P. vulgaris* no fueron suficientes para el sano crecimiento; por lo que *B. thuringiensis* y *M. echinospora* incrementaron la actividad de las fosfatasa acida y alcalina que convirtieron los PO_4^{-3} del suelo precipitados

a solubles para *P. vulgaris*, los valores numéricos de la respuesta positiva de *P. vulgaris* a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70% tuvieron diferencia estadística con los 91.16 cm de AP, 23.33 cm de LR, 4.42 g de PFA, 3.34 g de PFR, 1.73 g de PSA y 0.05 g de PSR de *P. vulgaris* sin *B. thuringiensis* ni *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% ó CR donde se demostró que la absorción radical del FENI no fue la máxima ni eficaz sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora*.

VII.15. Figura 9. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* al nivel de madurez fisiológica a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%



En la Figura 9 se mostró la respuesta positiva de *T. aestivum* al nivel de madurez fisiológica a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%; donde se observó un mayor diámetro del tallo junto con una coloración verde intensa, la espiga de mayor tamaño e incrementó en el sistema radical a comparación de *T. aestivum* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% o CR que tiene una espiga más pequeña y menos densidad en el sistema radical.

VII.16. Tabla 10. Respuesta de *Triticum aestivum* al nivel de madurez fisiológica a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* en con el NH_4NO_3 al 70%.

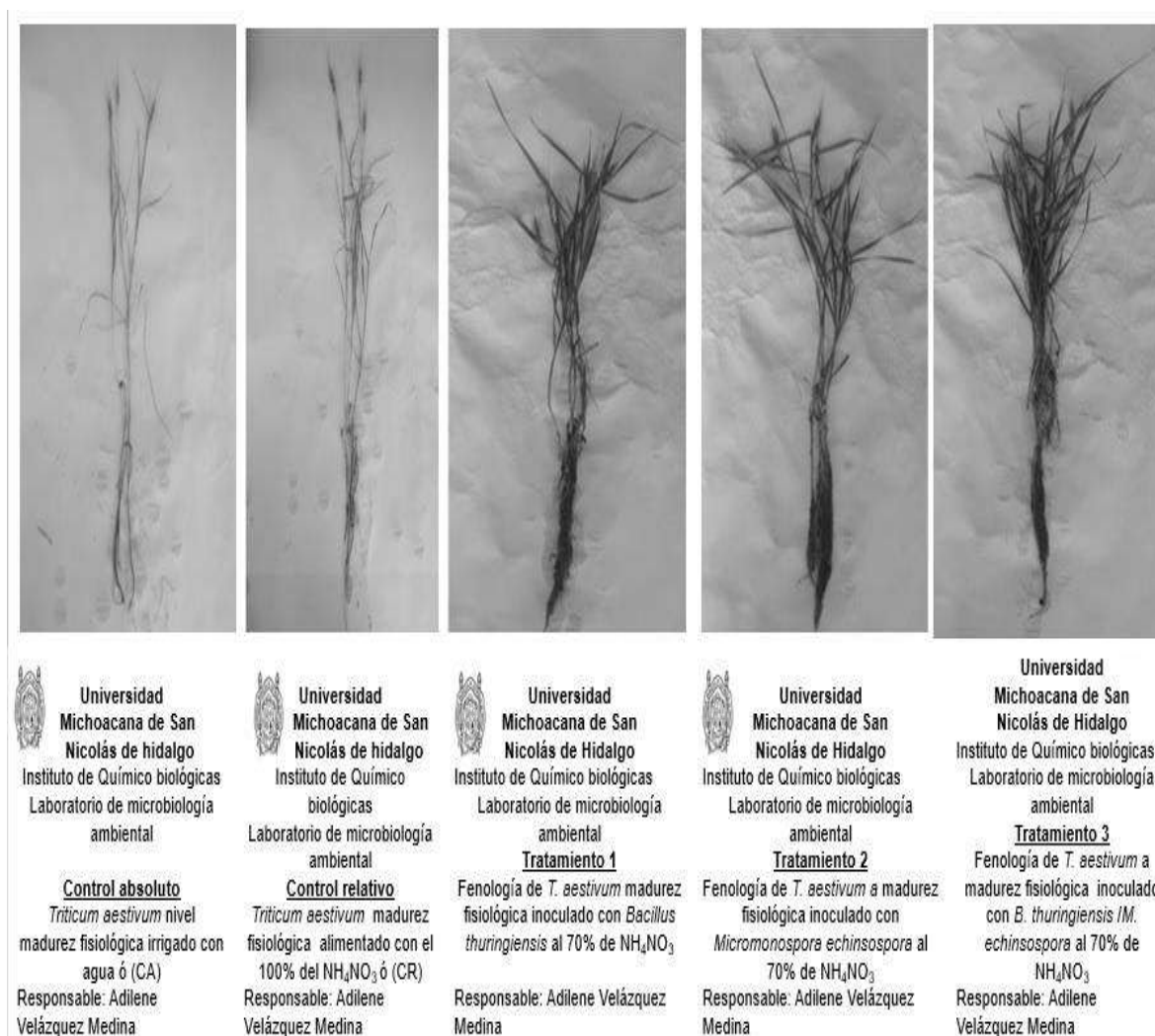
Tratamientos * <i>T. aestivum</i>	Altura de la planta (AP) (cm)	Longitud radical (LR) (cm)	Peso fresco aéreo (PFA) (g)	Peso fresco radical (PFR) (g)	Peso Seco aéreo (PSA) (g)	Peso seco radical (PSR) (g)
Irrigado con agua Control absoluto (CA)	25.83 ^{b**}	17.66 ^b	0.24 ^b	0.06 ^c	0.09 ^d	0.01 ^b
Alimentado con el 100% FENI Control relativo (CR)	34.16 ^b	20 ^{ab}	0.83 ^b	0.90 ^b	0.31 ^c	0.02 ^b
<i>B. thuringiensis</i> a dosis del 70% de FENI	63.16 ^a	23.66 ^a	2.50 ^a	1.46 ^a	0.48 ^b	0.06 ^{ab}
<i>M. echinospora</i> a dosis del 70% de FENI	61.33 ^a	23.66 ^a	2.19 ^a	1.47 ^a	0.54 ^a	0.08 ^{ab}
<i>B. thuringiensis</i> y <i>M. echinospora</i> a dosis del 70% de FENI	68.5 ^a	25.66 ^a	2.50 ^a	1.49 ^a	0.59 ^a	0.17 ^a

*n=6 **Letras distintas indican diferencia estadística por ANOVA Tukey $P>0,05\%$.

En la Tabla 10, se mostró la respuesta de *T. aestivum* al nivel de madurez fisiológica a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70% donde registró: 68.5 cm de AP, 25.66 cm de LR, así como 2.50 g de PFA, 1.49 g de PFR, 0.59 g de PSA y 0.17 g de PSR, estos resultados señalan que *B. thuringiensis* y *M. echinospora* endófitas en el primordio de las raíces, convirtieron los metabolitos intermediarios de la fotosíntesis C3 de *T. aestivum* en SUPOCEVE: como auxina, giberelina y citoquinina, que juntas con mayor concentración fueron transportadas por el xilema hasta la raíz (Zúñiga-Sánchez *et al.*, 2017) e incrementaron la densidad del sistema radical para absorber al máximo el NH_4NO_3 al 70%, como lo mencionaron Anwar *et al.*, 2016 que reportaron la respuesta positiva de *T. aestivum* a

Streptomyces nobilis con suelo pobre de FENI, ellos agregan que el actinomiceto mejoro el crecimiento *T. aestivum* mediante la síntesis de auxina, giberelina y citoquinina. Los PO_4 absorbidos por *T. aestivum* no fueron suficientes para el sano crecimiento así que *B. thuringiensis* y *M. echinospora* por medio de la actividad de las fosfatasas acidas y alcalinas hicieron solubles los PO_4 precipitados en el suelo que fueron asimilados por *T. aestivum* (Rariz *et al.*, 2013) los valores numéricos de la respuesta positiva de *T. aestivum* al nivel de madurez fisiológica a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70% fueron estadísticamente diferentes comparados con los 34.16 cm de AP, 20 cm de LR, 0.83 g de PFA, 0.90 cm de PFR, 0.31 g de PSA y 0.02 g de PSR de *T. aestivum* sin *B. thuringiensis* ni *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% ó CR donde se demuestra que la dosis recomendada del FENI sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* no es la mejor absorbida y optimizada por *T. aestivum*.

VII.17. Figura 10. Respuesta de *Triticum aestivum* al nivel de madurez fisiológica a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%



En la Figura 10, se mostró la respuesta positiva de *T. aestivum* al nivel de madurez fisiológica a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%; donde se observó un mayor diámetro del tallo junto con una coloración verde intensa, la espiga de mayor tamaño e incrementó en el sistema radical a comparación de *T. aestivum* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% o CR que tiene una espiga más pequeña y menos densidad en el sistema radical.

VII. 18. Tabla 11. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* en la biomasa y rendimiento del fruto a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%

Tratamientos * <i>P. vulgaris</i>	Peso fresco del fruto (g)	Peso total de los fruto (g)	Rendimiento (Ton/ha)
Irrigado con agua Control absoluto (CA)	1.55c**	2 ^c	0.2 ^b
Alimentado con el 100% FENI Control relativo (CR)	3.15 ^b	28 ^b	2.8 ^b
<i>B. thuringiensis</i> a dosis del 70% de FENI	5.48 ^a	32 ^{ab}	3.2 ^a
<i>M. echinospora</i> a dosis del 70% de FENI	6.09 ^a	36 ^a	3.6 ^a
<i>B. thuringiensis</i> y <i>M. echinospora</i> a dosis del 70% de FENI	7.70 ^a	40 ^a	4.0 ^a

*n=6 **Letras distintas indican diferencia estadística por ANOVA Tukey $P>0,05\%$.

En la Tabla 11 se presentó la respuesta de *P. vulgaris* en la biomasa de la vaina con el rendimiento a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70% que registró 7.70 g de peso fresco del fruto, 40 g del peso total de los frutos con 4.0 Ton/ha, estos resultados apoyan que *B. thuringiensis* y *M. echinospora* convirtieron metabolitos de la fotosíntesis del tipo C3 y C4 de *P. vulgaris* en SUPOCEVE como auxina, giberelina y citoquinina que juntas en una mayor concentración estimularon la maduración de las vainas de *P. vulgaris* a pesar de la reducción del FENI, así que *P. vulgaris* tuvo un sano crecimiento al mejorar la formación del sistema radical en el suelo para la absorción y optimización al máximo del FENI aplicado al 70% (Bish *et al.*, 2018). Los valores numéricos de la respuesta positiva de *P. vulgaris* en la biomasa de la vaina con el rendimiento a *B. thuringiensis* y *M. echinosora* con el NH_4NO_3 al 70% fueron estadísticamente diferentes comparados con los 3.15 g del peso fresco del fruto, 28 g del peso total de los frutos y 2.8 Ton/ha de rendimiento de *P. vulgaris* sin *B. thuringiensis* y

M. echinospora con el NH_4NO_3 al 100% o CR que se demostró que la absorción radical del FENI al 100% sin las BAPOCEVE no es la mejor.

VII. 19. Figura 11. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* en la biomasa y rendimiento del fruto a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%



En la Figura 11 se mostró la respuesta positiva *P. vulgaris* en las vainas a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70% donde se observó un incremento en el tamaño, coloración verde intenso con mayor número de semillas en comparación de las vainas de *P. vulgaris* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% o CR que están más pequeñas y con menos semillas.

VII.20. Tabla 12. Respuesta de *Triticum aestivum* en la biomasa y rendimiento del fruto a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%.

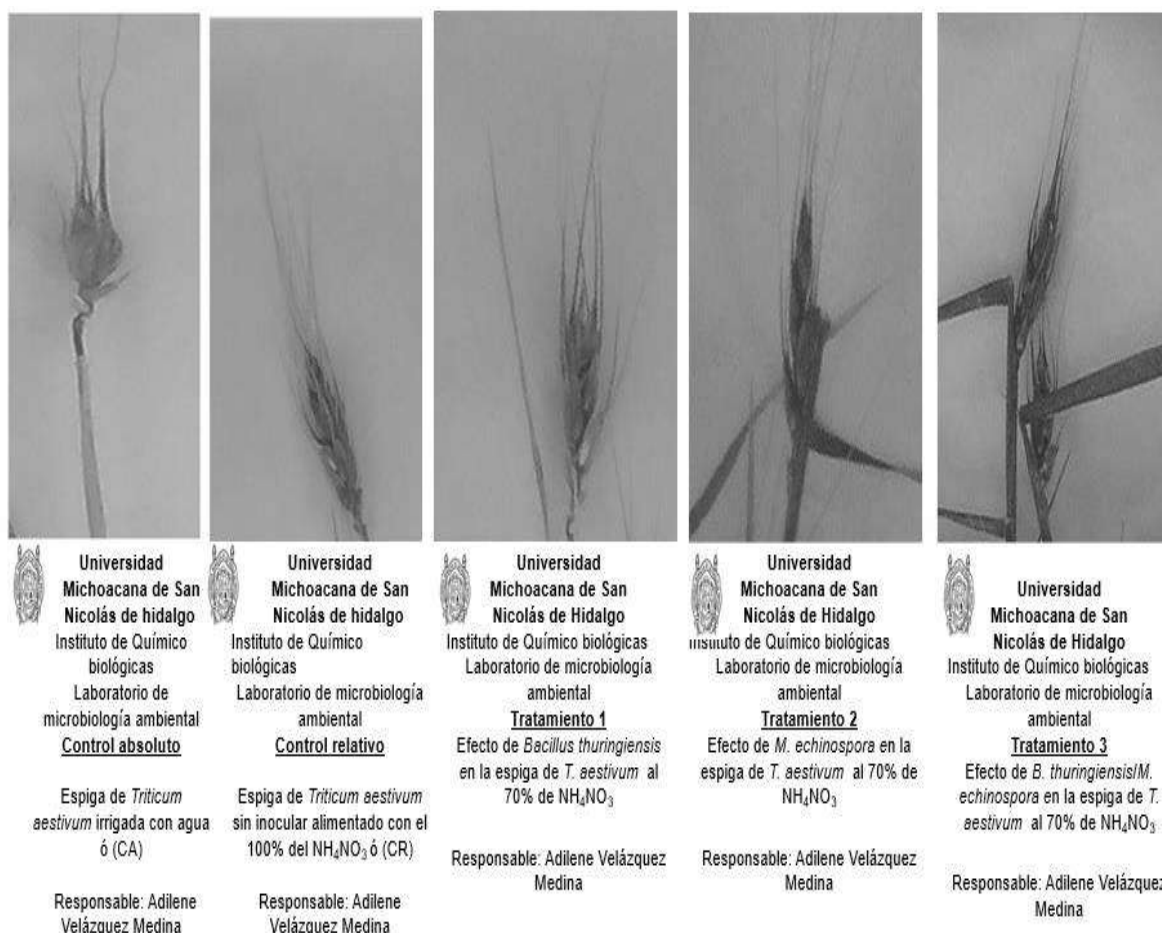
Tratamientos * <i>T. aestivum</i>	Peso fresco del fruto (g)	Peso total de los frutos (g)	Rendimiento (Ton/ha)
Irrigado con agua Control absoluto (CA)	2.08c**	2 ^c	0.2 ^b
Alimentado con el 100% FEN Control relativo (CR)	4.15 ^b	12 ^b	1.2 ^b
<i>B. thuringiensis</i> a dosis del 70% de FENI	5.48 ^a	20 ^{ab}	2.0 ^a
<i>M. echinospora</i> a dosis del 70% de FENI	5.09 ^a	22 ^a	2.2 ^a
<i>B. thuringiensis</i> y <i>M. echinospora</i> a dosis del 70% d FENI	6.0 ^a	25 ^a	2.5 ^a

*n=6 **Letras distintas indican diferencia estadística por ANOVA Tukey $P>0,05\%$.

En la Tabla 12 se presentó la respuesta de *T. aestivum* en la biomasa de la espiga y en el rendimiento a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70% que registró 6.0 g de peso fresco del fruto, 25 g de peso total del fruto y 2.5 Ton/ha de rendimiento, esto apoya que a pesar de la reducción al 30% del NH_4NO_3 con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* endófitos en el primordio de la raíz, que por medio del xilema tomaron los metabolitos intermediarios de la fotosíntesis C3 de *T. aestivum* y los convirtieron en SUPOCEVE: como auxina, giberelina y citoquinina que incrementaron la absorción y optimización del FENI al 70% así mismo aceleraron el crecimiento de la espiga (Dubois *et al.*, 2018). Los resultados de la respuesta positiva de *T. aestivum* en la biomasa con el rendimiento a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70% mostraron diferencia estadística comparados con los 4.15 g de peso fresco del fruto, 12 g de peso total del fruto y 1.2 Ton/ha de rendimiento de *T. aestivum* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% o CR donde se comprobó que la dosis

recomendada del FENI al 100% no es absorbida y optimizada al máximo sin *B. thuringiensis* y *M.echinospora*.

VII.21. Figura 12. Respuesta de *Triticum aestivum* en la biomasa y rendimiento del fruto a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%



En la Figura 12 se presentó la respuesta de *T. aestivum* en la espiga a *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70%, donde se observó la coloración verde intensa de las espigas y el incremento de tamaño, a comparación de la espiga de *T. aestivum* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% o CR que tiene menor tamaño con poca coloración amarilla

VII. 22. Tabla 13. Perfil de sensibilidad a antibióticos para demostrar el efecto de *B. thuringiensis* y *M. echinospora* en tejidos de *Phaseolus vulgaris* y *Triticum aestivum*

Antibiótico (clave)	Perfil de sensibilidad d <i>Bacillus thuringiensis</i> Referencia	Aislados <i>P. vulgaris</i>			Aislados <i>T. aestivum</i>		
- <i>B. thuringiensis</i>		Hoja	Tallo	Raíz	Hoja	Tallo	Raíz
Ampicilina (AM)	-	-	-	-	-	-	-
Tetraciclina (TE)	-	-	-	-	-	-	-
Trimetoprim- Sulfametoxazol (SXT)	-	-	-	-	-	-	-
Cefotaxima(CTX)	-	-	-	-	-	-	-
Pefloxacina (PEF)	-	-	-	-	-	-	-
Dicloxacilina (DC)	+	-	-	+	-	-	+
Penicilina (PE)	-	-	-	-	-	-	-
Cefalotina (CF)	-	-	-	-	-	-	-
Ceftazidima(CAZ)	+	-	-	+	-	-	+
Eritromicina (E)	+	-	-	+	-	-	+
Gentamicina (GE)	+	-	-	+	-	-	+
Perfil de sensibilidad de <i>Micromonospora echinospora</i> Referencia							
Ampicilina (AM)	-	-	-	-	-	-	-
Amikacina (AX)	-	-	-	-	-	-	-
Ceftriaxona (CRO)	-	-	-	-	-	-	-
Cloranfenicol (CL)	+	-	-	+	-	-	+
Trimetoprim- Sulfametoxazol (SXT)	-	-	-	-	-	-	-
Cefotaxima(CTX)	-	-	-	-	-	-	-
Pefloxacina (PEF)	-	-	-	-	-	-	-
Carbenicilina (CB)	-	-	-	-	-	-	-
Netilmicina (NET)	-	-	-	-	-	-	-
Cefalotina (CF)	-	-	-	-	-	-	-
Nitrofurantoína (NF)	-	-	-	-	-	-	-
Gentamicina (GE)	+	-	-	+	-	-	+

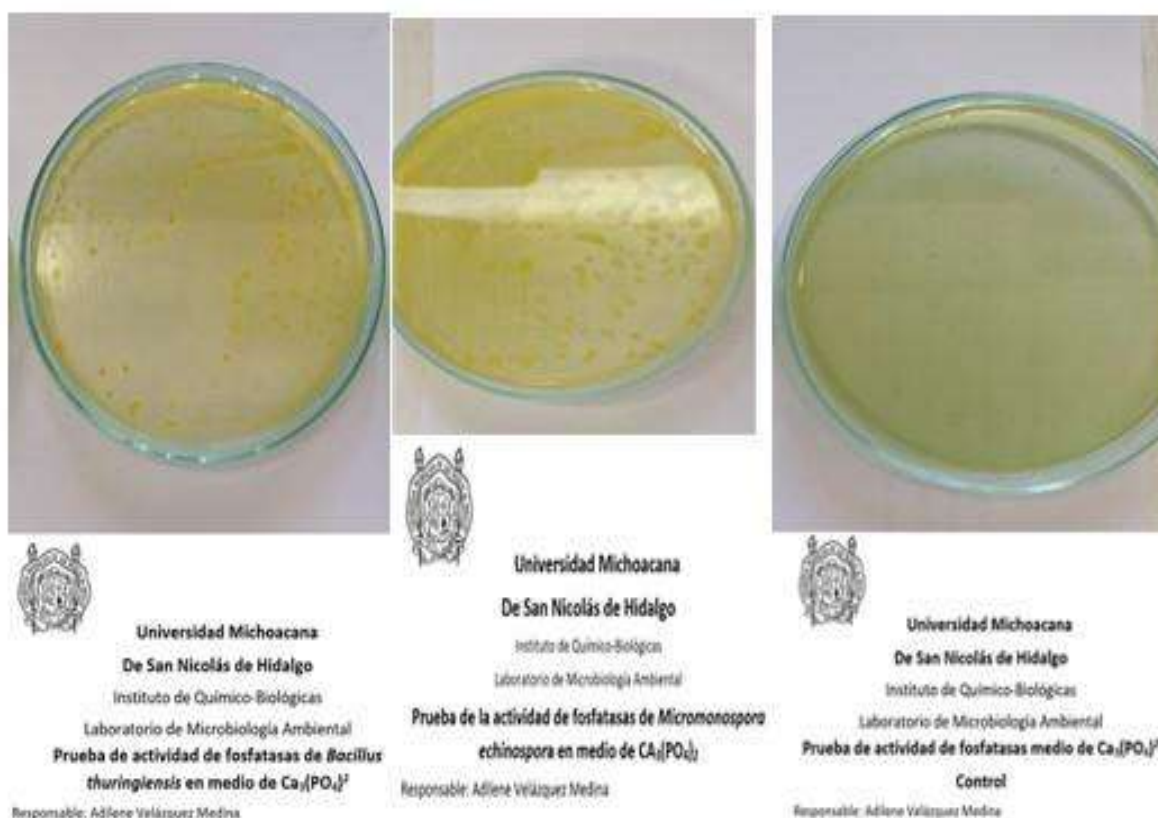
*Las muestras correspondientes al experimento a nivel de floración

(+)= sensible (-)= resistente

A las 24 h se observó crecimiento de *B. thuringiensis* del macerado de raíz de *P. vulgaris* y a las 48 h se mostró con sensibilidad y resistencia a antibióticos, mientras *M. echinospora* en el AHA entre las 48 h y 72 h mostró sensibilidad y resistencia a antibióticos Los resultados se

compararon con la prueba de sensibilidad a antibióticos de la cepa original de *B. thuringiensis* y *M. echinospora*, lo anterior apoya que *P. vulgaris* y *T. aestivum* tenían invadidas las raíces por *B. thuringiensis* y *M. echinospora* las cuales promovieron el sano crecimiento vegetal al mejorar el área de exploración del suelo, para absorber y optimizar el NH_4NO_3 al 70%.

VII.23. Figura 13. Prueba cualitativa de actividad de las fosfatasas de *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora*



En la Figura 13 se mostró que *B. thuringiensis* y *M. echinospora* en agar para solubilizar $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ a las 24 h se observó alrededor de las colonias el halo lo que indica la solubilización de PO_4^3 (Pérez-Cordero *et al.*, 2014) a comparación del control.

VII. 24. Tabla 14. Actividad de fosfatasa de *Phaseolus vulgaris* y *Triticum aestivum* con *Bacillus thuringiensis*, *Micromonospora echinospora* y sin inocular.

Tratamientos*		Concentración d p-nitrofenol liberado (µg/mL)	Concentración de p-nitrofenol liberado (mmoles/mL)
<i>Phaseolus vulgaris</i> solución salina (blanco)	ácida	-	-
	alcalina	-	-
Tallo de <i>P. vulgaris</i> sin inocular alimentado con el 100% de NH ₄ NO ₃	ácida	**15.00 ^e	0.0008 ^e
	alcalina	12.02 ^f	0.0006 ^f
Raíz de <i>P. vulgaris</i> sin inocular alimentado con el 100% de NH ₄ NO ₃	ácida	10.08 ^f	0.0005 ^f
	alcalina	11.02 ^f	0.0006 ^f
<i>Bacillus thuringiensis</i> y <i>Micromonospora echinospora</i> en tallo de <i>P. vulgaris</i>	ácida	231.17^a	1.6600^a
	alcalina	153.87 ^b	1.1115 ^b
<i>B. thuringiensis</i> , <i>M. echinospora</i> en raíz de <i>P. vulgaris</i>	ácida	129.30 ^c	0.9367 ^c
	alcalina	79.91 ^d	0.5854 ^d
** <i>Triticum aestivum</i> solución salina (blanco)	ácida	-	-
	alcalina	-	-
Tallo de <i>T. aestivum</i> sin inocular alimentado con el 100% de NH ₄ NO ₃	ácida	**13.00 ^c	0.0005 ^c
	alcalina	11.10 ^c	0.0009 ^c
Raíz de <i>T. aestivum</i> sin inocular alimentado con el 100% de NH ₄ NO ₃	ácida	9.00 ^c	0.0004 ^c
	alcalina	8.06 ^e	0.0002 ^e
<i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Micromonospora echinospora</i> en tallo de <i>T. aestivum</i>	ácida	115.10 ^a	1.2310 ^a
	alcalina	100.45 ^a	1.1455 ^a
<i>B. thuringiensis</i> , <i>M. echinospora</i> en raíz de <i>T. aestivum</i>	ácida	158.90^a	1.6821^a
	alcalina	130.12 ^b	0.8965 ^b

*n= 3, **Letras distintas indican diferencia estadística (p< 0,05) según Tukey

En la Tabla 14 se presentó que en el tallo de *P. vulgaris* con *B. thuringiensis*, *M. echinospora* con el NH₄NO₃ al 70% registro en fosfatasa ácida 231.17 µg/mL y 1.6600 mmoles/mL de concentración del p-nitrofenol (PNF) lo que apoya que *B. thuringiensis* y *M. echinospora* aumentaron la actividad de las fosfatasa, estos valores de la fosfatasa ácida producida por *B. thuringiensis* y *M. echinospora* en *P. vulgaris* son estadísticamente diferentes comparados con la fosfatasa ácida de 15.00 µg/mL y 0.0008 mmoles/mL de concentración del PNF liberado del

tallo *P. vulgaris* sin *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% ó CR, por lo tanto, en tallo de *P. vulgaris* con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* al 70% de NH_4NO_3 en fosfatasa alcalina se muestra una concentración de 153.87 $\mu\text{g/mL}$ y 0.9367 mmoles/mL de concentración del PNF liberado, valores numéricos estadísticamente diferentes con 12.02 $\mu\text{g/mL}$ y 0.0006 mmoles/mL de concentración del PNF liberado de la fosfatasa ácida del tallo *P. vulgaris* sin *B. thuringiensis* ni *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% o CR, por lo tanto, en la raíz de *T. aestivum* con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70% en fosfatasa ácida registro 158.90 $\mu\text{g/mL}$ y 1.6821 mmoles/mL de concentración del PNF liberado, de modo que en el tallo de *T. aestivum* con *B. thuringiensis* y *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 70% registro 115.10 $\mu\text{g/mL}$ y 1.2310 mmoles/mL de concentración del PNF liberado de fosfatasa ácida, valores numéricos estadísticamente diferentes comparados con 9.00 $\mu\text{g/mL}$ y 0.0004 mmoles/mL de concentración del PNF liberado de la fosfatasa ácida de la raíz de *T. aestivum* sin *B. thuringiensis* ni *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% o CR y 13 $\mu\text{g/mL}$ y 0.0005 mmoles/mL de concentración del PNF liberado de fosfatasa ácida del tallo de *T. aestivum* sin *B. thuringiensis* ni *M. echinospora* con el NH_4NO_3 al 100% o CR. Lo anterior evidencia que la inoculación con *B. thuringiensis*, *M. echinospora* fue capaz de llevar a cabo el mecanismo de solubilización de PO_4 ; por la síntesis bacteriana de las fosfatasa que catalizaron la hidrólisis de los ésteres fosfóricos y liberaron el grupo fosfato (Novo *et al.*, 2018, Park *et al.*, 2010), ya que en la etapa de floración de *P. vulgaris* y *T. aestivum* fueron fundamentales los PO_4 para la división celular, obtención de energía, formación de ácidos nucleicos (Dissanayaka *et al.*, 2018).

VIII. Conclusión

La respuesta positiva de *Phaseolus vulgaris* y *Triticum aestivum* a *Bacillus thuringiensis* y *Micromonospora echinospora* significó que hubo mayor producción de SUPOCEVE ó fitohormonas como lo son auxina al aumentar el sistema radical, la giberelina al interrumpir el periodo de latencia de las semillas e incrementar la elongación de los tallos y la citoquinina que se encargaron en el crecimiento de nuevos tejidos vegetales ya que la suma de todas fue benéfica para reducir el FENI NH_4NO_3 un 30% , además se pudo verificar que *B. thuringiensis* y *M. echinospora* se encontraban endofitamente en las raíces de *P. vulgaris* y *T. aestivum* y que por la acción de las fosfatasas ácidas y alcalinas de *B. thuringiensis* y *M. echinospora* en tallo y raíz de *P. vulgaris* y *T. aestivum* pudieron obtener el sano crecimiento vegetal.

IX. Literatura citada

1. Araujo F. F., Souza E. C., Guerreiro R. T., Guaberto, L. M. & De Araújo A. S. F. 2012. Diversity and growth-promoting activities of *Bacillus* sp. in maize. *Revista Caatinga*. 25(1): 1-7.
2. Anwar S. Ali B. & Sajid I. 2016. Screening of rhizospheric actinomycetes for various in-vitro and in-vivo plant growth promoting (PGP) traits and for agroactive compounds. *Frontiers in Microbiology*. 7 :1334, 1-11. DOI: [10.3389/fmicb.2016.01334](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01334)
3. Azizoglu U. 2019. *Bacillus thuringiensis* as a biofertilizer and biostimulator: a mini-review of the little-known plant growth-promoting properties of Bt. *Current microbiology*. *Frontiers in Microbiology*. 1-7. DOI: [10.1007/s00284-019-01705-9](https://doi.org/10.1007/s00284-019-01705-9)
4. Balaguera-López H. E., Deaquiz Y. A. & Álvarez-Herrera J. G. 2009. Plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) provenientes de semillas embebidas en diferentes soluciones de giberelinas (GA3). *Agronomía Colombiana*. 27(1): 57-64.
5. Bhatti A. A., Haq S., & Bhat R. A. 2017. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial pathogenesis*. 111: 458-467.
6. Bisht TS, Rawat L, Chakraborty B, Yadav V. A. 2018. Recent advances in use of plant growth regulators (PGRs) in fruit crops . A Review. *International Journal of Current Microbiology* 7(05):1307–36. DOI: [10.20546/ijcmas.2018.705.159](https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.705.159)
7. Camelo M., Vera S. P. & Bonilla, R. R. 2011. Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Ciencia y tecnología agropecuaria*, 12(2): 159-166.
8. Cortes J. S. A., Godoy J. A., Cortés J. D. A., & Mora R. M. S. 2019. Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*. 17(32): 109-129. DOI: [10.25058/24629448.3639](https://doi.org/10.25058/24629448.3639)
9. Custódio C. C., de Araújo F. F., Ribeiro A. M., de Souza Filho, N. V. & Machado-Neto, N. B. 2013. Seed treatment with *Bacillus subtilis* or indol butyric acid: germination and early development of bean seedlings. *Interciencia*. 38(4): 273-279.
10. Dissanayaka D. M. S. B., Plaxton W. C., Lambers H., Siebers M., Marambe, B. & Wasaki J. 2018. Molecular mechanisms underpinning phosphorus-use efficiency in rice. *Plant, Cell & Environment*. 41(7): 1483-1496. DOI: [10.1111/pce.13191](https://doi.org/10.1111/pce.13191)

11. Dubois M., Van den Broeck L., & Inzé D. 2018. The pivotal role of ethylene in plant growth. *Trends in Plant Science*. 23(4): 311-323. [DOI: 10.1016/j.tplants.2018.01.003](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.01.003)
12. Flores A., Diaz-Zamora J. T., del Carmen Orozco-Mosqueda M., Chávez A., de los Santos-Villalobos S., Valencia-Cantero E. & Santoyo, G. 2020. Bridging genomics and field research: draft genome sequence of *Bacillus thuringiensis* CR71, an endophytic bacterium that promotes plant growth and fruit yield in *Cucumis sativus* L. 3. *Biotech Magazine*. 10(5): 220-227. [DOI: 10.1007/s13205-020-02209-1](https://doi.org/10.1007/s13205-020-02209-1)
13. García-González M. M., Farías-Rodríguez R. Peña-Cabriaes JJ & Sánchez-Yáñez JM 2005. Inoculación del trigo var. Pavón con *Azospirillum* spp y *Azotobacter beijerinckii*. *Terra Latinoamericana*. 23(1): 65-72.
14. García-Radillo P., Montaña-Arias N. M., Ignacio-Cruz J. L., Santoyo-Pizano G. & Sánchez-Yáñez, J. M. 2019. Crecimiento de *Zea mays* inoculado con *Bacillus cereus* y *Micromonospora echinospora* con fertilizante nitrogenado al 50%. *Journal of the Selva Andina Research Society*. 10(1): 16-24.
15. García Ramírez A., Reyes Ramírez A., Ruíz Sánchez E. & Ibarra J. E. 2018. Aislados nativos de *Bacillus thuringiensis* del sureste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 9 (3): 539-551.
16. García V. E. R., Ortiz V. R. G., Escareño J. J. H. & Sánchez-Yáñez J. M. 2016. *Phaseolus vulgaris* response to plant growth promoting microorganisms. *Scientia Agropecuaria*. 7(3): 313-319.
17. González H. & Fuentes N. 2017. Mechanism of action of five plant growth promoters microorganism. *Revista de Ciencias Agrícolas*. 34(1): 17-31. [DOI:10.22267/rcia.173401.61](https://doi.org/10.22267/rcia.173401.61)
18. Gómez-Guiñán Y. 2004. Actividad de las fosfatasas ácidas y alcalinas (extracelulares e intracelulares) en hongos de la rizosfera de *Arachis hypogaea* (Papilionaceae). *Revista de Biología Tropical*. 52(1): 287-295.
19. Gopalakrishnan S., Srinivas V., Alekhya G. y Prakash B. 2015. Efecto de *Streptomyces* sp. sobre la promoción del crecimiento y el rendimiento de grano en garbanzo (*Cicer arietinum* L.). *Biotech Magazine*. 5 (5): 799-806.
20. Hirsch A. M. & Valdés M. 2010. *Micromonospora*: an important microbe for biomedicine and potentially for biocontrol and biofuels. *Soil Biology and Biochemistry*. 42(4), 536-542. [DOI: 10.1016/j.soilbio.2009.11.023](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.023)

21. Jog R., Nareshkumar G. y Rajkumar S. 2012. Potencial de promoción del crecimiento de plantas y producción de enzimas en el suelo de las más abundantes *Streptomyces* spp. De la rizosfera del trigo. *Revista de Microbiología Aplicada*. 113 (5): 1154-1164.
22. Jordán M. & Casaretto J. 2006. Hormonas y reguladores del crecimiento: auxinas, giberelinas y citocininas. Squeo, F. A., & Cardemil, L. (eds.). *Fisiología Vegetal*, 1-28.
23. Junges E., Toebe M., Santos R. F. D., Finger G. & Muniz, M. F. B. 2013. Effect of priming and seed-coating when associated with *Bacillus subtilis* in maize seeds. *Revista Ciência Agronômica*. 44(3): 520-526.
24. Loredó-Ostí C., López-Reyes L. y Espinosa-Victoria D. 2004. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoamericana*. 22(2):225-239. DOI: [10.1590/s1806-66902013000300014](https://doi.org/10.1590/s1806-66902013000300014)
25. Martínez E., Fuentes J. P. & Acevedo E. 2008. Carbono orgánico y propiedades del suelo. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*. 8(1): 68-96. DOI: [10.4067/s0718-279120080000100006](https://doi.org/10.4067/s0718-279120080000100006)
26. Martínez-Viera R.; Dibut B., Ríos Y. 2010. Efecto de la integración de aplicaciones agrícolas de biofertilizantes y fertilizantes minerales sobre las relaciones suelo-planta. *Cultivos Tropicales*. 31: 27-31.
27. Matsumura E. E., Secco V. A., Moreira R. S., dos Santos O. J. A. P., Hungria, M. & de Oliveira A. L. M. 2015. Composition and activity of endophytic bacterial communities in field-grown maize plants inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Annals of Microbiology*. 65(4): 2187-2200. DOI: [10.1590/1678-4499.330](https://doi.org/10.1590/1678-4499.330)
28. Molina-Romero D., Bustillos-Cristales M. D. R., Rodríguez-Andrade O., Morales-García Y. E., Santiago-Saenz Y., Castañeda-Lucio M. & Muñoz-Rojas J. 2015. Mecanismos de fitoestimulación por rizobacterias, aislamientos en América y potencial biotecnológico. *Biológicas*. 17(2): 24-34.
29. Moreno Reséndez A., Carda Mendoza V., Reyes Carrillo J. L., Vásquez Arroyo J. & Cano Ríos P. 2018. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 20(1): 68-83. DOI: [10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707](https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707).
30. Noumavo P. A., Agbodjato N. A., Baba-Moussa F., Adjanohoun A. & Baba-Moussa L. 2016. Plant growth promoting rhizobacteria: Beneficial effects for healthy and sustainable

agriculture. African Journal of Biotechnology. 15(27): 14521463. DOI: [10.5897/AJB2016.15397](https://doi.org/10.5897/AJB2016.15397)

31. Novo L. A., Castro P. M., Alvarenga P. & da Silva E. F. 2018. Plant growth–promoting rhizobacteria-assisted phytoremediation of mine soils. In Bio-Geotechnologies for Mine Site Rehabilitation. 8: 281-295. DOI: [10.1016/B978-0-12-812986-9.00016-6](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812986-9.00016-6)
32. Palaniyandi S. A., Yang S. H., Zhang L. & Suh J. W. 2013. Effects of actinobacteria on plant disease suppression and growth promotion. Applied Microbiology and Biotechnology. 97(22): 9621-9636. DOI: [10.1007/s00253-013-5206-1](https://doi.org/10.1007/s00253-013-5206-1)
33. Park J., Bolanab N., Mallavarapuab M. and Naiduab R. 2010. Enhancing the solubility of insoluble phosphorus compounds by phosphate solubilizing bacteria. World Congress of Soil Science. Soil Solutions for a Changing World Brisbane. 66:1-6.
34. Pérez, A., & Chamorro, L. 2013. Bacterias endófitas: un nuevo campo de investigación para el desarrollo del sector agropecuario. Revista Colombiana de Ciencia Animal. 5(2): 439-462. DOI:[10.24188/recia.v5.n22013.457](https://doi.org/10.24188/recia.v5.n22013.457)
35. Pérez-Cordero A., Tuberquia-Sierra A. & Amell-Jímenez D. 2014. Actividad in vitro de bacterias endófitas fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfatos. Agronomía Mesoamericana. 25(2), 214-223
36. Pedraza R. O., Teixeira K. R., Scavino A. F., de Salamone I. G., Baca B. E., Azcón R., & Bonilla R. 2010. Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. Revisión. Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 11(2), 155-164.
37. Pérez-Fernández M. & Alexander V. 2017. Enhanced plant performance in *Cicer arietinum* L. due to the addition of a combination of plant growth-promoting bacteria. Agriculture. 7(5): 40. DOI: [10.3390/agriculture7050040](https://doi.org/10.3390/agriculture7050040)
38. Rariz G., Martínez A., Ferrando L., Menes R. J. & Fernández Scavino A. 2013. Caracterización e interacciones entre bacterias con propiedades promotoras de crecimiento vegetal asociadas al cultivo de arroz. Revista Agronómica del Noreste Argentino. 33 (2): 13-24
39. Reyna B. A., Ayala Á. T. & del Carmen Barrera, P. 2016. Caracterización de endófitos simbióticos aislados de leguminosas nativas de la Amazonía peruana. Ciencia Amazónica (Iquitos). 6(2):150-161.

40. Richardson AE, Barea JM, McNeill AM y Prigent-Combaret, C. 2009. Adquisición de fósforo y nitrógeno en la rizosfera y fomento del crecimiento vegetal por microorganismos. *Planta y Suelo*. 321 (1-2): 305-339.
41. Rojas-Solís D., Contreras-Pérez M. & Santoyo G. 2013. Mecanismos de estimulación del crecimiento vegetal en bacterias del género *Bacillus*. *Biológicas*, 15(2): 36-41.
42. 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. Corporativo de investigación sustentable, SA de CV, Centro de investigación y Desarrollo del Estado de Michoacán, SEDAGRO. Morelia, Michoacán, México. ISBN 978-970-95424-1-7.
43. Sharma I. P., Chandra S., Kumar N. & Chandra D. 2017. PGPR: heart of soil and their role in soil fertility. In *Agriculturally Important Microbes for Sustainable Agricultura*. 51-67.
44. Shimizu M. 2011. Endophytic actinomycetes: biocontrol agents and growth promoters. In *Bacteria in agrobiolgy: Plant growth responses*, Springer, Berlin, Heidelberg. 1: 201-220. DOI [10.1007/978-3-642-20332-9_10](https://doi.org/10.1007/978-3-642-20332-9_10).
45. Singh M., Singh P. P., Patel A. K., Singh P. K. & Pandey K. D. 2018. Enumeration of Culturable Endophytic Bacterial Population of Different *Lycopersicum esculentum* L. Varieties. *International Journal Current. Microbiology. App. Sci.* 7(2): 3344-3352. DOI: [10.20546/ijcmas.2018.702.400](https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.702.400).
46. Tejera-Hernández B., Rojas-Badía M. M., & Heydrich-Pérez M. 2011. Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista Ciencias Químicas. Ciencias Biológicas*, 42(3): 131-138.
47. Trujillo M. E., Riesco R., Benito P. & Carro L. 2015. Endophytic actinobacteria and the interaction of *Micromonospora* and nitrogen fixing plants. *Frontiers in Microbiology*. 6: 1341. DOI: [10.3389/fmicb.2015.01341](https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01341)
48. Zahid M., Abbasi M. K., Hameed S. & Rahim N. 2015. Isolation and identification of indigenous plant growth promoting rhizobacteria from Himalayan region of Kashmir and their effect on improving growth and nutrient contents of maize (*Zea mays* L.). *Frontiers in Microbiology*. 6: 207. DOI: [10.3389/fmicb.2015.00207](https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00207)

49. Zúñiga-Sánchez E., Martínez-Barajas E., Zavaleta-Mejía E. & Gamboa-de-Buen A. 2017. El floema y la ruta simplástica durante la formación de órganos de demanda. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 40(3): 249-259