



Respuesta de *Glycine max* a *Azospirillum lipoferum* y *Rhizobium etli* a dosis 50 % de fertilizante nitrogenado

Response of *Glycine max* to *Azospirillum lipoferum* y *Rhizobium etli* at 50% dose of nitrogen fertilizer

Santoyo-Pizano Gustavo¹, Ignacio-Cruz Juan Luis¹, Vargas-Hernández Martha Elizabeth¹, Gallegos-Morales Gabriel², Sánchez-Yáñez Juan Manuel^{1*}

Datos del Artículo

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

²Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Parasitología. Calzada Antonio Narro Núm. 1923. Buenavista, Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México. C. P. 25315. Tel: (844) 411-03-26.
E-mail gabgalmor@yahoo.com.mx

*Dirección de contacto:
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Francisco J. Mujica S/N, Col. Felicitas del Río C.P. 58000, Morelia, Mich., México. Laboratorio de Microbiología Ambiental, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Ed-B3 C.U.
Tel: (+52) (443) 322 3500
Juan Manuel Sánchez-Yáñez¹
E-mail address : svanez@umich.mx

Palabras clave:

Suelo,
FENI,
Glycine max,
Azospirillum lipoferum,
Rhizobium etli,
exudados radicales,
fitohormonas.

J. Selva Andina Res. Soc.
2018; 9(2):96-103.

Historial del artículo.

Recibido febrero, 2018.
Devuelto junio 2018
Aceptado junio, 2018.
Disponible en línea, agosto, 2018.

Editado por:
**Selva Andina
Research Society**

Resumen

La producción de *Glycine max* (soya) requiere fertilizante nitrogenado (FENI), como el NH_4NO_3 (nitrato de amonio) para suplir la demanda de N (nitrógeno), el cual aplicado en exceso provoca pérdida de productividad del suelo. Una alternativa de solución para este problema es la reducción y optimización de la dosis de FENI, mediante géneros y especies de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BAPOCEVE) como: *Azospirillum lipoferum* y *Rhizobium etli*. El objetivo de esta investigación fue analizar la respuesta de *G. max* a la inoculación con *A. lipoferum* y *R. etli* a la dosis 50% del FENI. El ensayo se realizó en un invernadero, bajo un diseño experimental con 5 tratamientos mediante las variables-respuesta: fenología de la parte aérea y radical, altura de planta (AP), longitud de raíz (LR) y de la biomasa, peso fresco y seco aéreo/radical (PFA/PFR)/(PSA/PSR) a plántula y floración. Los datos experimentales se analizaron por ANOVA/Tukey HSD $p < 0.05\%$. Los resultados mostraron a nivel de plántula una respuesta de *G. max* a la doble acción con *A. lipoferum* y *R. etli* al 50% del FENI con 0.90 g de PSA, valor numérico estadísticamente diferente comparado con los 0.16 g de PSA de *G. max* sin inocular alimentada con una solución mineral y el FENI al 100% o control relativo (CR). A floración *G. max* con ambos géneros de BAPOCEVE se registró 3.17 g de PSR, valor numérico estadísticamente diferente a los 1.79 g de PSR de *G. max* usado como CR. Lo anterior sugiere que *G. max* tratado con *A. lipoferum* y *R. etli* convirtieron sus exudados radicales en fitohormonas, para mejorar la absorción radical del N y optimizar el FENI a la dosis 50%, con un sano crecimiento y evitar al mismo tiempo la pérdida de productividad del suelo.

© 2018. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

The production of *Glycine max* (soybean) demands nitrogenous fertilizer (NIFE), as a NH_4NO_3 (ammonium nitrate) to supply its N demand, which when is applied in excess causes lost soil's productivity. An alternative for this problem is to reduce and to optimize NIFE, with inoculants based in genus and species of plant growth promoting bacteria (PGPB). The aim of this research was to analyze *G. max* response to *Azospirillum lipoferum* and *Rhizobium etli* at 50% dose of NIFE. In that sense experimental was conducting by 5 treatments with NIFE at 100% and 50% doses for *G. max* inoculated with PGPB, response was based on its phenology: plant height (PH) and root length (RL) and its biomass: shoot fresh weight (SFW), root fresh weight (RFW), shoot dry weight (SDW), root dry weight (RDW). Experimental data were analyzed by ANOVA and Tukey HSD $p < 0.05\%$. Results indicated a positive respond of *G. max* with *A. lipoferum* and *R. etli* at seedling level was registered 0.90 g of SDW, this numerical

Key words:

Soil,
NIFE,
Glycine max,
Azospirillum lipoferum,
Rhizobium etli,
root exudates,
phytohormones.

value was statistically different than 0.16 g of SDW of *G. max* not inoculating, fed with mineral solution with 100% of NIFE dose, used as relative control (RC). At level of flowering *G. max* responded to *A. lipoferum* and *R. etli* registered 3.17 g of RFW this numerical value was statistically different compared to 1.79 g of RFW of *G. max* or RC. This data suggests that the positive respond of *G. max* was due to both PGPB able to transform radical exudates in phytohormones to improve radical absorption of N and optimize NIFE reduced at 50% dose, showing health growing and at the same preventing soil's lost productivity.

© 2018. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivia. All rights reserved.

Introducción

La leguminosa *Glycine max* (soya), tiene un alto valor nutricional, en México la zona relacionada, su producción anual asciende a 400000 ton/ha (SIAP-SAGARPA 2016), generando una demanda de N (nitrógeno) como fertilizante nitrogenado (FENI), NH_4NO_3 (nitrato de amonio), aplicado en exceso provoca la rápida degradación de la materia orgánica del suelo, con la consecuente disminución de la productividad (Isbell *et al.* 2013). En el suelo una alternativa de solución que evite la hiperfertilización nitrogenada, es la inoculación de *G. max* con géneros de bacterias o microorganismos promotores de crecimiento vegetal (BAPOCEVE) o MICROCEVE (Armenta-Bojórquez *et al.* 2010): como el género fijador simbiótico de N_2 : *Bradyrhizobium japonicum* que en *G. max* permite un crecimiento sano a dosis regulada de FENI, no obstante, en función del origen de *B. japonicum* se inducen nódulos, que no son necesariamente eficaces para incorporar el N_2 como una fuente sustituta del FENI, para asegurar un sano crecimiento de *G. max*, en cuyo caso se recomienda inocular un *Rhizobium etli* del grupo conocido como de inoculación cruzada en las leguminosas, y que también puede ser benéfico para *G. max*, en combinación con un fijador libre de N_2 libre como: *Azospirillum lipoferum* (Loredo-Osti *et al.* 2004) u otra clase de MICROCEVE, como es el caso de géneros y especies de hongos micorrizicos

versículo arbusculares (HMVA) que favorezcan una mayor absorción del FENI, e incluso del fertilizante del fosforo (P) como PO_4^{3-} (FEPO) en especial cuando se reduce al 50%, puesto que los exudados radicales de *G. max* contienen suficientes fuentes de C (carbono) y N orgánico, que pueden ser transformados en sustancias promotoras de crecimiento vegetal (SUPOCEVE) o fitohormonas (Matiru & Dakora 2004), compuestos que inducen una mayor absorción radical del N y con ello la optimización del FENI y/o FEPO reducido al 50%, sin afectar el sano crecimiento vegetal. Con base en lo anterior se han realizado investigaciones para mejorar la producción de *G. max* mediante el empleo de inoculantes a base de BAPOCEVE o MICROCEVE, bajo un esquema de agricultura sustentable, que explota el recurso suelo como el vegetal sin perjuicio de ambos o del ambiente (Armenta-Bojórquez *et al.* 2010). Como lo prueban las siguientes investigaciones: Uhrich & Benintende 2005 analizaron la respuesta positiva de *G. max* a *B. japonicum* y *Azospirillum brasilense* a nivel de campo. Los resultados mostraron un incremento de un 29% en el peso seco radical (PSR), en comparación con *G. max* sin inocular con BAPOCEVE a la dosis de FENI al 100% o control relativo (CR). De la misma Hernández 2008 reporto la respuesta positiva de *G. max* a la inoculación con *Glomus hoi like* y *B. japonicum* a dosis reducida de FENI y FEPO. Los resultados

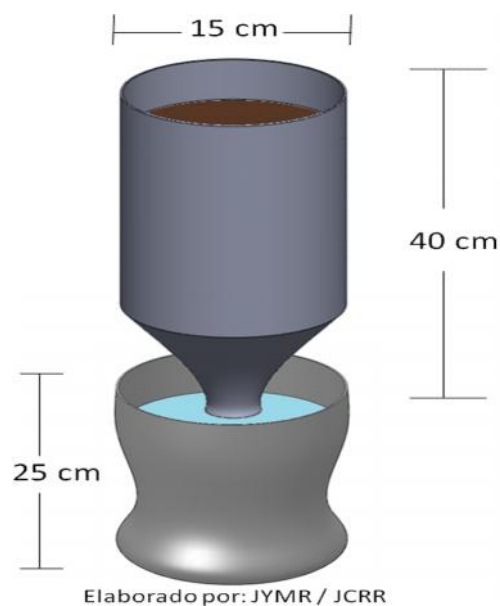
mostraron que ambos microorganismos mejoraron absorción del N y P, con un rendimiento mayor al comparado con *G. max* sin inocular y con las dosis recomendada de N y P. Mientras que Benintende *et al.* 2010 reportaron la respuesta positiva de *G. max* a *B. japonicum* y *A. brasilense* a dosis regulada de FENI. Los resultados mostraron *G. max* con ambas BAPOCEVE incrementaron hasta un 30% de crecimiento vegetativo, en contraste con *G. max* sin inocular usado como CR a la dosis 100% del FENI. En tanto que Corbera-Gorotiza & Nápoles-García 2013 reportaron la respuesta positiva de *G. max* tratado con *Bradyrhizobium elkanii* y un HMVA a dosis regulada del FENI y FEPO. Encontraron un incremento en el rendimiento de *G. max* inoculado con los MICROCEVE comparado con *G. max* alimentada exclusivamente con la dosis recomendada del FENI y FEPO. Sin embargo los HMVA tienen algunos inconvenientes para la inoculación de semillas de *G. max*, debido a que pierden rápidamente la viabilidad contra factores bióticos y abióticos. Por lo anterior podría ser más útil emplear géneros y especies de BAPOCEVE, con especial resistencia a factores ambientales que limitan la actividad positiva de otro de MICROCEVE como los HMVA, para la eficaz absorción y optimización radical del FENI en específico cuando se reduce al 50% de acuerdo con la literatura disponible (Uhrich & Benintende 2005, Hernández 2008). Por lo que el objetivo de este trabajo fue analizar la respuesta de *Glycine max* a, *A. lipoferum*, *Azospirillum lipoferum* y *Rhizobium etli* a la dosis 50% de FENI.

Materiales y métodos

El experimento se realizó en el invernadero de 10 x 4 m² del Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH, Morelia, Mich, México. La tempera-

tura promedio fue de 23.2 °C, luminosidad de 450 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, humedad relativa de 67%, se regulo mediante un sistema automático de control ambos factores ambientales (Matallana & Montero 2001). Para este ensayo se utilizó un suelo arcilloso de tipo Vertisol con un historial de 20 año en producción de trigo/garbanzo un pobre en materia orgánica y N mineral, que se solarizó para minimizar el problema de plagas y enfermedades, posteriormente se tamizó con una malla del No 20 y en el invernadero se usaron insecticidas a base de extracto vegetales de canela y ajo para el control fitosanitario (Duke 1990).

Figura 1. Diagrama de una jarra de Leonard (García-González *et al.* 2005).



Las semillas de *G. max* fueron donadas por la Secretaría y Agricultura y Recursos Hidráulicos (SIAP-SAGARPA 2016), estas semillas se desinfectaron con NaClO (Hipoclorito de sodio) al 3% (v/v) por 5 min y se enjuagaron 6 veces con agua estéril, después se desinfectaron con alcohol al 70% (v/v) por 5 min y se lavaron 5 veces con agua estéril (García-González *et al.* 2005). Posteriormente en bolsa de

plástico de 250 g las semillas de *G. max* se inocularon con 2.0 mL de *A. lipoferum*, *R. etli* de manera individual y/o en mezcla, ambos casos se dejaron por 24 h. *A. lipoferum* se aisló de raíces de *Zea mays var mexicana* (teocintle) en agar NFM (nitrogen free medium) (Döbereiner & Day 1974) mientras que *R. etli* se recuperó de nódulos de *Medicago* sp en agar manitol rojo congo (Peña-Cabriales & Alexander 1981, Sánchez-Yáñez 2007). Ambos géneros de BAPOCEVE pertenecen a la colección del laboratorio de Microbiología Ambiental del IIQB-UMSNH, en Morelia, Mich, México. Para este ensayo se seleccionó un 1 kg de suelo degradado y compactado con un historial agrícola de 20 años de cultivo intensivo de gramíneas (maíz-trigo, maíz-cebada), de textura arcillosa con un bajo contenido de materia orgánica de 1.5% y pobre N-orgánico pobre con 39 kg/ha, con un pH 6.7 (ligemente ácido), ubicado a los 19° 39'27'' de latitud norte y 101° 19' 59' de longitud oeste, con temperatura media anual de 17.3 °C y precipitación anual de 796.4 mm, en un terreno agrícola denominado "La Cajita" de la Tenencia Zapata del Municipio de Morelia, Mich., México, ubicado en el km 5 de la carretera Morelia-Pátzcuaro. Este kg de suelo se colocó en la parte superior del sistema hidropónico conocido como jarra de Leonard mostrado en la figura 1, ahí se sembraron 4 semillas de *G. max*,

mientras que el agua, o la SOMI con el FENI reducido al 50%, que se colocó en la parte inferior, ambas partes se conectaron por una tira de algodón de 15.0 cm. La SOMI con el FENI para alimentar *G. max* se preparó con la siguiente composición química (g/L): NH₄NO₃ 12.0, KH₂PO₄ 3.0, K₂HPO₄ 3.5, MgSO₄ 1.5, CaCl₂ 0.1, FeSO₄ 0.5 mL/L, y un 1.0 ml/L de la solución de oligoelementos: (g/L), H₃BO₃ 2.86, ZnSO₄ 7H₂O 0.22, MnCl₂ 7H₂O 1.81, K₂MnO₄ 0.09, a pH ajustado a 7.0, en agua destilada, mientras que el NH₄NO₃ o FENI se redujo al 50% equivalente a 6 g/L (García-González *et al.* 2005).

En la Tabla 1 se indica el diseño experimental con 5 tratamientos y 7 repeticiones para analizar la respuesta de *G. max* a la inoculación con *A. lipoferum* y *R. etli* a nivel de plántula y floración con la dosis del FENI reducido al 50%, mediante las variables-respuesta basados en la fenología: la altura de planta (AP), longitud de raíz (LR), y en la biomasa: el peso fresco aéreo (PFA) y radical (PFR), para el peso seco aéreo (PSA) y radical (PSR), *G. max* se secó en horno a 40 °C/48 h (Sánchez-Yáñez 2007). Los datos experimentales fueron sometidos al análisis de varianza ANOVA mediante la prueba comparativa de medias de Tukey HSD P<0.05% (García-Villalpando *et al.* 2001).

Tabla 1 Diseño experimental para analizar la respuesta de *Glycine max* a la inoculación con *Azospirillum lipoferum* y *Rhizobium etli* dosis 50% del fertilizante nitrogenado

*Tratamiento	<i>Glycine max</i>	<i>Azospirillum lipoferum</i>	<i>Rhizobium etli</i>	Agua	SOMI con NH ₄ NO ₃
Control absoluto	+	-	-	+	-
Control relativo	+	-	-	-	+100%
1	+	+	-	-	+50%
2	+	-	+	-	+50%
3	+	+	+	-	+50%

Simbología: += aplicado, -= no aplicado), * (n)= número de repeticiones =7

Resultados

En la Tabla 2, se muestra la respuesta de *G. max* la doble inoculación con *A. lipoferum*, *R. etli* a dosis 50% a nivel de plántula, que alcanzó 38.7 cm de altura de planta (AP) y 42.2 cm de longitud radical (LR); ambos valores numéricos fueron estadísticamente diferentes comparados con los 30.1 cm de AP y los 15.7 cm de LR en *G. max* sin inocular alimentada con la dosis 100% del FENI, referido como CR. En relación a la biomasa de *G. max* inoculada con la mezcla de amabas BAPOCEVE registró 5.62 g de PFA y 1.96 g de PFR; estos valores numéricos tuvieron diferencia estadística respecto a los 1.26 g

de PFA y 0.66 g de PFR en *G. max* usado como CR. En tanto que *G. max* con *A. lipoferum* y *R. etli* registro 1.80 g de PSA y 0.75 g de PSR ambos valores numéricos tuvieron con diferencia estadística comparado con los 0.63 g de PSA y 0.09g de PSR de *G. max* empleado como CR.

En la Tabla 3, se muestra la respuesta de *G. max* a la inoculación con *A. lipoferum* y *R. etli* a la dosis 50% a floración, donde *G. max* alcanzó 44.7 cm de AP y 33.8 cm de LR, ambos valores numéricos tuvieron diferencia estadística comparado con los 39.3 cm de AP y 25.7 cm de LR de *G. max* sin inocular alimentada con la dosis 100% de FENI usado como CR

Tabla 2 Respuesta de *Glycine max* a la inoculación con *Azospirillum lipoferum* y *Rhizobium etli* a dosis 50% del fertilizante nitrogenado a nivel de plántula

* <i>Glycine max</i> en suelo	AP (cm)	LR (cm)	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	
			Aéreo	Radical	Aéreo	Radical
Irigado con agua (Control Absoluto)	26.3 ^{e**}	15.3 ^d	1.20 ^e	0.64 ^d	0.31 ^d	0.07 ^d
Alimentado con la SOMI y el NH ₄ NO ₃ 100% (Control relativo)	30.1 ^d	15.7 ^d	1.26 ^e	0.66 ^d	0.63 ^c	0.09 ^d
<i>Azospirillum lipoferum</i> más la SOMI y el NH ₄ NO ₃ al 50%	32.6 ^c	16.5 ^c	2.27 ^c	0.80 ^c	0.33 ^d	0.27 ^c
<i>Rhizobium etli</i> más la SOMI y el NH ₄ NO ₃ al 50%	35 ^b	17.5 ^b	2.32 ^b	0.88 ^b	1.63 ^b	0.41 ^b
<i>A. lipoferum</i> / <i>R. etli</i> más la SOMI y el NH ₄ NO ₃ al 50%	38.7 ^a	42.2 ^a	5.62 ^a	1.96 ^a	1.80 ^a	0.75 ^a

AP=Altura de planta, LR=Longitud radical, SOMI (solución mineral), *n=7, **valores con diferencia estadística (P<0.05) según Tukey.

Tabla 3 Respuesta de *Glycine max* a la inoculación con *Azospirillum lipoferum* y *Rhizobium etli* a dosis 50% de fertilizante nitrogenado a floración

* <i>Glycine max</i> en suelo	AP (cm)	LR (cm)	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	
			Aéreo	Radical	Aéreo	Radical
Irigado solo agua (control absoluto)	33.9 ^{e**}	24.5 ^d	7.65 ^d	2.83 ^c	1.17 ^e	0.68 ^e
Alimentado con SOMI y el NH ₄ NO ₃ al 100% (control relativo)	39.3 ^c	25.7 ^c	9.54 ^c	4.50 ^d	1.85 ^d	1.04 ^d
Inoculado con <i>Azospirillum lipoferum</i> y SOMI con NH ₄ NO ₃ al 50%	38 ^d	28.9 ^b	12.42 ^b	6.37 ^c	3.57 ^b	1.09 ^c
Inoculado con <i>Rhizobium etli</i> con SOMI y NH ₄ NO ₃ al 50%	43.3 ^b	34 ^a	12.60 ^b	9.60 ^b	2.77 ^c	1.34 ^b
Coinoculado con <i>A. lipoferum</i> / <i>R. etli</i> con SOMI y NH ₄ NO ₃ al 50%	44.7 ^a	33.8 ^a	14.33 ^a	12.49 ^a	3.90 ^a	2.44 ^a

AP=Altura de planta, LR=Longitud radical, *n=7, SOMI (solución mineral), **valores con diferentes letras con diferencia estadística (P<0.05) según Tukey.

En relación a la biomasa *G. max* inoculada con los dos géneros y especies de BAPOCEVE se registraron: 14.33 g de PFA y 12.49 g de PFR, ambos valo-

res numéricos que tuvieron diferencia estadística comparados con los 9.54 g de PFA y 4.50 g PFR de *G. max* empleado como CR. En tanto que *G. max*

inoculada con *A. lipoferum* y *R. etli* mientras que *G. max* con la doble inoculación con las BAPOCEVE registraron 3.90 g de PSA y 2.44 g de PSR ambos valores numéricos tuvieron diferencia estadística respecto a los 1.85 g de PSA y 1.04 en PSR de *G. max* referido como CR.

Discusión

Los valores numéricos reportados en la Tabla 2 basados en los datos de la fenología y biomasa de *G. max* con *A. lipoferum* y/o *R. etli* a nivel plántula, sugieren que el incremento de la AP y LR, está asociado con el hecho de que los dos géneros y especies de BAPOCEVE empleados, tienen capacidad genética de convertir los exudados radicales de *G. max* como los ácidos orgánicos y aminoácidos del tipo del triptófano en SUPOCEVE o fitohormonas del tipo de la auxina, que mediante la inducción de la mitosis y cariocinesis del tejido radical, favorecen una acelerada y general proliferación de un elevado número de raíces laterales, para aumentar el área de exploración de esos pelos que mejoraron la mayor absorción de la raíz por el N, lo que consecuentemente optimizó el FENI reducido al 50% (Askary *et al.* 2009, Benintende *et al.* 2010), en ese sentido se observó que el sistema radical de *G. max* fue más denso debido a la constante acción fitohormonal, derivada que tanto de *A. lipoferum*, como *R. etli* que poseen diferente capacidad genética en la conversión de los exudados de raíces, en una amplia variedad de fitohormonas, lo que mantuvo el incremento gradual del peso fresco y seco de *G. max* con la doble inoculación con *A. lipoferum* y/o *R. etli*, que mostraron que este género bacteriano vive como endófito en las raíces de *G. max*, y que además también tienen la capacidad de convertir los metabolitos derivados de azúcares de la fotosíntesis en SU-

POCEVE, o fitohormonas del tipo auxina y giberelina, ambas mejoraron la absorción radical del N, y así, lograr la máxima optimización del FENI reducido al 50% (Armenta-Bojórquez *et al.* 2010). Lo que evita que el excedente de N, cause la pérdida de la reserva de la materia orgánica y que en consecuencia se pierda la productividad del suelo (Alexander 1977, Isbell *et al.* 2013).

Mientras que los resultados registrados en la Tabla 3 relacionados con fenología y biomasa de *G. max* tratada con ambos géneros de BAPOCEVE a floración, sugieren que *A. lipoferum* y *R. etli* mantuvieron e incrementaron la capacidad de transformar de manera continua y complementaria, que los compuestos orgánicos liberados en los exudados de la raíces de *G. max* transformaron en fitohormonas: auxina y citocinina indujeron la mayor elongación y formación de raíces laterales (Bécquer *et al.* 2011), las que aumentaron la capacidad de absorber y optimizar el FENI reducido al 50%, puesto que el aspecto de las hojas y raíces de *G. max* no mostraron ninguna deficiencia relacionada con la demanda de N (Loredo-Osti 2004, Uhrich & Benintende 2005). Por lo anterior se concluye que *A. lipoferum* y/o *R. etli* géneros BAPOCEVE ejercieron un efecto positivo en el crecimiento de *G. max* mediante la optimización del FENI al 50%, debido a que ambas convierten los exudados radicales de *G. max* en SUPOCEVE: auxina, citocinina y giberelina para la máxima absorción radical del N del FENI a pesar de reducirlo al 50%. La mezcla de estos dos géneros y especies de BAPOCEVE son una opción para el cultivo de *G. max*, lo cual evita la hiperfertilización, sin riesgo de afectar en el sano crecimiento vegetal y si de prevenir deterioro del suelo.

Conflictos de intereses

Los autores de este artículo, declaramos que no existe ningún conflicto de interés en la planificación, ejecución y redacción de la investigación realizada, como tampoco con aquellas personas e instituciones que la financiaron.

Agradecimientos

Al proyecto 2.7 (2018) apoyado por Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH, Morelia, Michoacán y BIONUTRA S.A. de C.V, Maravatío, Michoacán, México.

Literatura citada

- Alexander M. Introduction to soil microbiology. 2^{ed}, John Wiley and Sons Inc. New York; 1977. p. 100-50.
- Armenta-Bojórquez AD, García-Gutiérrez C, Camacho-Báez JR, Apodaca-Sánchez MÁ, Gerardo-Montoya L, Nava-Pérez E. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Ra Ximhai* 2010; 6(1): 51-6.
- Askary M, Mostajeran A, Amooaghaei R, Mostajeran M. Influence of the co-inoculation *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium meliloti* plus 2, 4-D on grain yield and N, P, K content of *Triticum aestivum* (cv. Baccros and Mahdavi). *Am Eurasian J Agric Environ Sci* 2009; 5(3), 296-307.
- Bécquer CJ, Salas B, Ávila U, Palmero LA, Nápoles JA, Ramos Y, et al. Efecto de la inoculación con rizobios procedentes de Alberta, Canadá, en sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), en condiciones de campo. *Pastos y Forrajes* 2011; 34(3): 303-12.
- Benintende S, Uhrich W, Herrera M, Gangge F, Sterren M, Benintende M. Comparación entre coinoculación con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e inoculación simple con *Bradyrhizobium japonicum* en la nodulación, crecimiento y acumulación de N en el cultivo de soja. *Agriscientia* 2010; 27(2): 71-7.
- Corbera-Gorotiza J, Nápoles-García MC. Efecto de la inoculación conjunta *Bradyrhizobium elkanii*-hongos MA y la aplicación de un bioestimulador del crecimiento vegetal en soja (*Glycine max* (L.). Merrill) cultivar INCA-SOY-27. *CulTrop* 2013; 34 (2):5-11.
- Döbereiner J, Day DJ. Associative symbiosis in tropical grasses of microorganisms and dinitrogen fixing site. In Newton W, Nyam CJ. eds. Proceedings of the 1st. International Symposium on Nitrogen Fixation. Washington State University Press. Pullman, USA; 1974. p. 518-39.
- Duke SO. Natural pesticides from plants. p. 517-523. En: Janick, J. & JE. Simon (Eds.). Advances in new crops. Timber Press. Portland, Oregon; 1990. p. 829.
- García-González MM, Farías-Rodríguez R, Peña-Cabriales JJ, Sánchez-Yañez JM. Inoculación del trigo var. Pavón con *Azospirillum* spp. y *Azotobacter beijerinckii*. *Terra Latinoam* 2005; 23(1): 65-72.
- García-Villalpando JA, Castillo-Morales A, Ramírez-Guzmán ME, Rendón-Sánchez G, Larqué-Saavedra MU. Comparación de los procedimientos de Tukey, Duncan, Dunnett, HSU y Bechhofer para selección de medias. *Agrociencia* 2001; 35(1): 79-86.
- Hernández AF. La coinoculación *Glomus hoi* like-*Bradyrhizobium japonicum* en la producción de soja (*Glycine max*) variedad Verónica para semilla. *CulTrop* 2008; 29(4): 41-5.

- Isbell F, Reich PB, Tilman D, Hobbie SE, Polasky S, Binder S. Nutrient enrichment, biodiversity loss, and consequent declines in ecosystem productivity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(29): 11911-6.
- Loredo-Osti C, López-Reyes L, Espinosa-Victoria D. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Terra Latinoam* 2004; 22(2), 225-39.
- Matallana A, Montero J. Invernaderos Diseño construcción y ambientación. Ed. Mundi-prensa. Madrid, España; 2001. p. 209.
- Matiru VN, Dakora FD. Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops. *Afr J Biotechnol* 2004; 3(1): 1-7.
- Peña-Cabriales JJ, Alexander M. Reservas de carbón: sobrevivencia de *Rhizobium*. *Rev Latinoam Microbiol* 1981; 23: 50-4.
- Sánchez-Yáñez JM. Breve tratado de microbiología agrícola teoría y práctica. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, CO-SUSTENTA, SA de CV, Centro de Investigación y Desarrollo del Estado de Michoacán, Morelia, Mich. México; 2007. p. 130-3.
- Secretaria de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. SIAP-SAGARP. Gobierno de la Republica; 2016. Mexico. www.gob.mx.
- Uhrich W, Benintende S. Aplicación de *Azospirillum brasilense* en cultivo de soja en coinoculación con *Bradyrhizobium japonicum*. *Rev Cient Agropecu* 2005; 9(1):71-5.
-