

Fósforo y *Bacillus subtilis* en absorción y remoción de micronutrientes en *Phaseolus vulgaris* L.

Jesús del Rosario Ruelas-Islas¹
Celia Selene Romero-Félix¹
Cándido Mendoza-Pérez²
Fidel Núñez-Ramírez^{3§}
Jessica Janeth Rocha Santillano⁴
Quintín Armando Ayala-Armenta¹

¹Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte-Universidad Autónoma de Sinaloa. Calle 16 y Av. Japaraqui, Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa, México. CP. 81110. Tel. 687 1387525. (chuyitaruelas@favf.mx). ²Hidrociencias-Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco, México. CP. 56230. Tel. 55 13528662. (mendoza.candido@colpos.mx). ³Instituto de Ciencias Agrícolas-Universidad Autónoma de Baja California. Carretera a Delta s/n, ejido Nuevo León, Mexicali, Baja California, México. CP. 21705. Tel. 653 1160600. (fidel.nunez@uabc.edu.mx). ⁴Tecnológico Nacional de México-Campus Instituto Tecnológico de Torreón. Antigua carretera Torreón-San Pedro km 7.5, Torreón, Coahuila, México. (janethrocha17@gmail.com).

§Autor para correspondencia: fidel.nunez@uabc.edu.mx.

Resumen

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una leguminosa muy importante que constituye parte de la alimentación en Latinoamérica y otros países. En el norte de Sinaloa, México, el rendimiento de este cultivo es afectado principalmente por prácticas de manejo (riego y dosis fertilización) y variabilidad en el clima. Se estableció un experimento en el valle del Fuerte, al norte de Sinaloa, México, con el propósito de investigar la respuesta del cultivo de frijol a diferentes dosis de fósforo [(P) (0, 25, 50, 100 kg ha⁻¹ P₂O₅)] y la influencia de la cepa *Bacillus subtilis* Q11 (Bs) en la absorción y remoción de micronutrientes. El experimento consistió en parcelas divididas en bloques completos al azar con tres repeticiones. De acuerdo con los resultados obtenidos, las dosis de P influenciaron significativamente la absorción de micronutrientes en el siguiente orden preferencial Fe > Mn > Zn > B > Cu. Mientras que la inoculación con Bs incrementó el proceso de absorción con respecto a las plantas no inoculadas.

Palabras clave: cultivar, extracción, fertilización, inoculante.

Recibido: junio de 2022

Aceptado: agosto de 2022

Introducción

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una leguminosa muy importante cultivada a nivel mundial y representa una fuente de alimentación rica en hierro (Fe) y zinc (Zn) (Lima *et al.*, 2016). La principal restricción del potencial de rendimiento es afectada por factores bióticos (patógenos del suelo) y abióticos como la baja fertilidad (Amanullah *et al.*, 2012; Iqbal *et al.*, 2015), déficit hídrico, variabilidad en temperaturas, fertilización inapropiada (Mweetwa *et al.*, 2016) e interacción con fertilizantes químicos (Hidayatullah *et al.*, 2013).

El fósforo (P) es el mineral más limitante a pesar de las grandes cantidades presentes en la mayoría de los suelos (Khan *et al.*, 2009). Su gran capacidad de fijación con la fracción mineral del suelo lo hace no disponible para la absorción de las plantas. En los últimos años, la aplicación de nuevas tecnologías como el uso de inoculantes basados en rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV), *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Burkholderia*, *Bacillus* y *Serratia* son consideradas un componente vital para incrementar la disponibilidad de nutrientes (Ahemad *et al.*, 2009), absorción de agua y fertilidad natural (Stajkovic *et al.*, 2011).

De acuerdo con varios estudios, las rizobacterias promueven el crecimiento vegetal mediante diferentes mecanismos que incluyen la síntesis de sustancias (fijación biológica de nitrógeno y producción de fitohormonas), influyen en la disponibilidad de nutrientes (producción de ácidos orgánicos de bajo peso molecular y sideróforos), inducen resistencia a eventos de estrés (sequía, salinidad, exceso de agua, temperaturas extremas) así como la supresión de patógenos (García-Fraile *et al.*, 2015).

Algunos trabajos han mostrado que ciertas cepas de *Rhizobium* aumentan la disponibilidad de Fe, Zn y P debido a la secreción de quelatores de hierro de bajo peso molecular (Sridevi *et al.*, 2007). Así mismo, Rengel *et al.* (1999) encontró que la inoculación con *Rhizobium* en leguminosas tuvo un efecto positivo en el crecimiento vegetal y concentración de micronutrientes en partes de la planta. Reportes con diferentes rizobacterias argumentan que su establecimiento y comportamiento son afectadas por las condiciones ambientales (Ahemad y Kibret *et al.*, 2014).

Algunos otros reportes específicamente con *B. subtilis* mencionan que los cambios en la temperatura y escasez de nutrientes limita su supervivencia en los suelos (Qiao *et al.*, 2017), mismos que representan un factor clave para que los inoculantes a base de RPCV sean efectivos (Compant *et al.*, 2010). Finalmente, Fageria (2002) reportó que todas las interacciones de nutrientes en las plantas pueden ser positivas, negativas o neutras, por lo cual deben medirse mediante el crecimiento vegetal y concentración de nutrientes en tejidos.

Actualmente, la fertilización del frijol en Sinaloa, México, se basa principalmente en aplicaciones de nitrógeno, mientras que el fósforo es aplicado sin una dosis específica para satisfacer la demanda del cultivo. Los objetivos de este estudio consistieron en evaluar diferentes dosis de fertilizante fosforado y el comportamiento de *Bacillus subtilis* Q11 en la absorción de micronutrientes y su concentración en semilla.

Materiales y métodos

Descripción del experimento

El trabajo se realizó durante el ciclo agrícola otoño-invierno 2018 en el norte Sinaloa, México (25° 45' 49" latitud norte, 108° 51' 41" longitud oeste). El suelo de la región es de textura franco-arcillosa (50% arcilla, 30% limo y 20% arena), bajo contenido de materia orgánica (<1%), densidad aparente de 1.15 g cm⁻³ y un contenido de humedad volumétrica de 0.155 cm³ cm⁻³. Las técnicas de siembra y labranza que se emplearon fueron las recomendadas por la guía técnica de INIFAP (SIAP, 2013). Antes de la fertilización se llevó a cabo un muestreo de suelo una profundidad de 30 cm para determinar características físicas y químicas. La siembra se realizó en suelo húmedo y el manejo de plagas fue controlado exitosamente durante todo el ciclo.

Tratamientos

Los tratamientos consistieron en cuatro dosis de fósforo (P₂O₅) (T1: 00 kg ha⁻¹, T2: 25 kg ha⁻¹, T3: 50 kg ha⁻¹, T4: 100 kg ha⁻¹) con y sin *Bacillus subtilis*. La inoculación se realizó impregnando 5 ml (2x10⁸ CFU ml⁻¹) de la cepa *Bacillus subtilis* Q11[®] por cada kilogramo de semilla Azufrado Higuera. La dosis de nitrógeno (150 kg ha⁻¹) y fósforo fue aplicada en pre siembra usando la fuente Blaukorn[®] Classic (12-8-16). Para la programación del riego se utilizó la plataforma Irrimodel (Sifuentes, 2012) la cual estima los niveles de abatimiento de humedad del suelo en la zona de raíces. Adicionalmente, se estableció un criterio de riego (CR) del 50% de la humedad aprovechable y se verificó el contenido de humedad usando TDR 300 (Time Domain Reflectometry).

Diseño experimental

El experimento consistió en parcelas divididas en bloques completos al azar con tres repeticiones. La parcela principal constó de las dosis de fósforo y su dimensión fue 64 m², las sub-parcelas consistieron en la inoculación de *Bacillus subtilis* Q11 y el control cuya dimensión fue 32 m² (cuatro surcos arreglados linealmente dentro de la parcela principal).

Absorción de micronutrientes

Para estimar la absorción nutrimental del cultivo, se realizaron análisis vegetativos (muestras destructivas) en diferentes etapas fenológicas (tercera hoja trifoliada, floración, llenado de vaina y madurez fisiológica). El método de muestreo consistió en la remoción de la biomasa aérea en una locación (1 m) en cada parcela. Posteriormente, las muestras se llevaron al laboratorio donde todas las estructuras fueron separadas (hojas, tallos vainas) y sometidas a secado (70 °C) en horno de aire forzado por 72 h hasta alcanzar peso constante.

La concentración de micronutrientes se determinó con el material filtrado que se obtuvo de la digestión húmeda para fósforo y después se colocaron alícuotas para su lectura en un espectrofotómetro siguiendo el protocolo descrito en la Norma Oficial Mexicana (NOM-021-RECNAT-2000). La absorción de micronutrientes se estimó al multiplicar el peso seco por su concentración (kg ha⁻¹). Absorción nutrimental kg ha⁻¹ = $\frac{[(\% \text{ micronutriente}) * (\text{MS})]}{100}$ 1). MS (kg ha⁻¹)

representa la materia seca en diferentes etapas fenológicas. Los micronutrientes en la semilla se estimaron con el peso seco del grano multiplicado por su concentración como se indica en la ecuación 2. Contenido de nutrientes en semilla= $\left[\text{Rendimiento} \left(\frac{\text{kg}}{\text{ha}} \right) * \left(\frac{\text{nutriente}}{1000} \right) \right]$ 2).

Análisis de datos

Los datos de absorción nutrimental y concentración en semilla fueron sujetos a un apropiado análisis de varianza (Anova) (Minitab, 2017). La diferencia de medias en cada tratamiento fue realizada mediante la prueba de Fisher LSD ($p \leq 0.05$).

Resultados y discusión

Absorción de micronutrientes

No se encontró efecto de interacción entre los factores evaluados, por lo tanto, todos los resultados se presentan por separado. El patrón de absorción mostró que todos los micronutrientes incrementaron gradualmente desde floración, se maximizó la absorción en llenado de vaina y disminuyó al final del ciclo.

Westermann *et al.* (2011) mencionó que la mayor absorción ocurrió en un sistema de producción sin restricciones de insumos, lo cual coincide con los resultados de este trabajo, donde las plantas bajo las dosis de 50 y 100 kg de P exhibieron el mayor rango de absorción. La preferencia en absorción total fue en el siguiente orden: Fe > Mn > Zn > B > Cu con 16, 4.3, 2.8, 1.2 y 0.54 kg ha⁻¹. Estos datos concuerdan con lo reportado por Chaudhary *et al.* (2008) y Bender *et al.* (2015) quienes mencionan el efecto del P y la absorción de micronutrientes en frijol soya. La absorción de hierro incrementó en respuesta a la fertilización con P durante el ciclo del cultivo (Figura 1A).

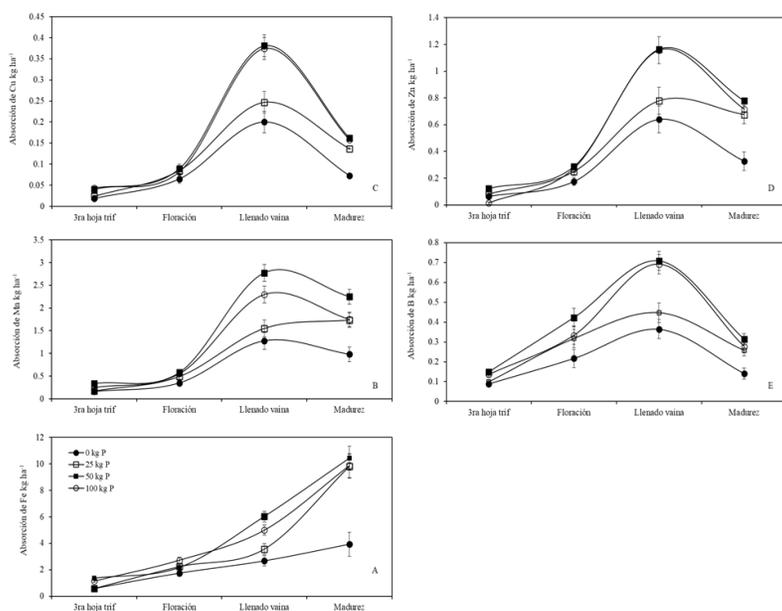


Figura 1. Absorción de micronutrientes en etapas fenológicas en frijol por efecto de la dosis de fósforo.

Este proceso de absorción fue mayor en los tratamientos bajo las dosis de 50 kg y 100 kg de P (10.5 y 9.8 kg ha⁻¹) respectivamente. Trabajos realizados por Tofiño-Rivera *et al.* (2016) mencionan que la fertilización con P podría incrementar la concentración de Fe, pero no la de Zn en los tejidos de la planta o en granos. Cabe mencionar que en muchos casos los procesos de inmovilización más que la escasez en el suelo afecta el suministro de Fe para las plantas. Las plantas inoculadas incrementaron 12.5% en la absorción de Fe sobre las plantas no inoculadas (Figura 2A).

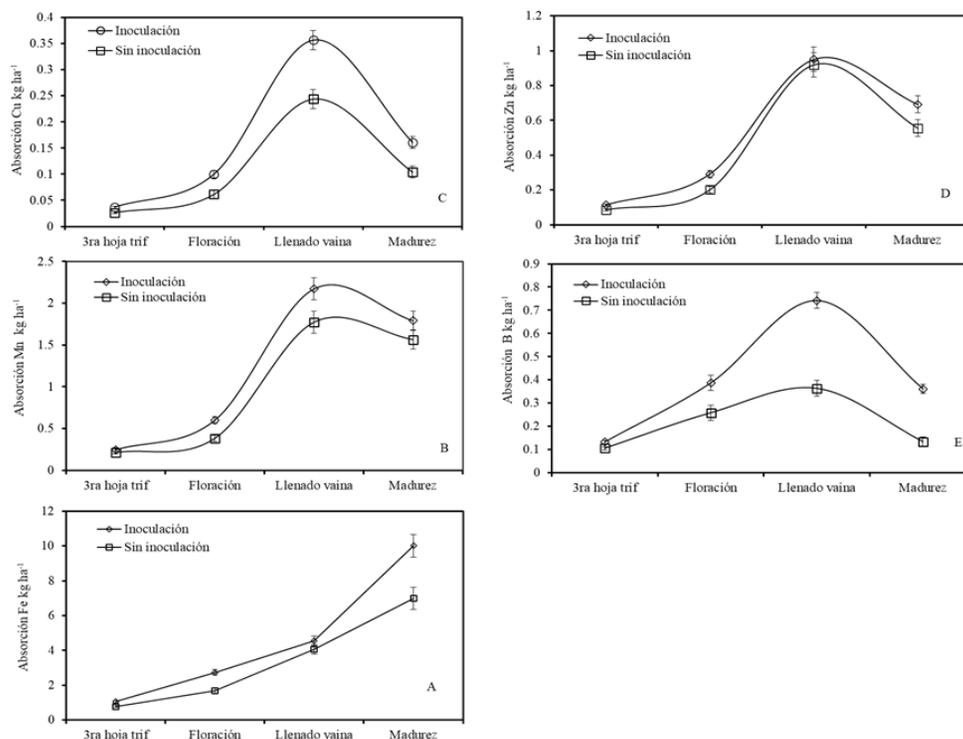


Figura 2. Absorción de micronutrientes en etapas fenológicas en frijol por efecto de *Bacillus subtilis*.

En ese sentido, Dehner *et al.* (2010) mostró que la inoculación con rizobacterias aumentó la formación de sideróforos (quelatores de bajo peso molecular) incrementando así la absorción de Fe en diferentes cultivos, ya que estos actúan como agentes solubilizadores en compuestos orgánicos y minerales bajo condiciones limitantes de Fe (Indiragandhi *et al.*, 2008).

También se menciona que los sideróforos no complexan únicamente Fe, sino también forman complejos estables con otros metales como Al, Cd, Cu, Zn y Pb (Neubauer *et al.*, 2000). La absorción de manganeso (Mn) también incrementó por el suministro de P durante el ciclo del cultivo.

Las plantas bajo las dosis de 50 kg de P tuvieron mayor absorción (2.3 kg ha⁻¹), mientras que las plantas bajo las dosis de 100 kg de P disminuyeron dicha absorción en madurez (1.7 kg ha⁻¹) (Figura 1B). Como se observa en el patrón de absorción, la extracción de Cu estuvo fuertemente influenciada por las dosis de P e incrementó consistentemente durante todo el ciclo. Así mismo, las plantas tratadas con las dosis de 50 y 100 kg de P tuvieron el mayor rango de absorción (0.38 kg ha⁻¹), el cual declinó en etapa de madurez (0.16 kg ha⁻¹) (Figure 1C). La inoculación con Bs aumentó el 20% de absorción de Cu (Figura 2C).

La absorción total de Zn fue más baja que la de Mn (0.7 kg ha^{-1}) (Figura 1D). De acuerdo con Domínguez-Vivancos (1997) este proceso ocurre debido a niveles altos de P, los cuales conducen a una inhibición fisiológica de las raíces a las partes aéreas. Hallazgos reportados por Astudillo y Blair (2008); Joshi *et al.* (2010); Velu *et al.* (2014) mencionan que al incrementar el contenido de P en la planta disminuye la de Zn. Los tratamientos inoculados aumentaron 5% en la absorción de Zn en comparación con los tratamientos no inoculados (Figura 2D). La absorción total de boro (B) fue de 0.3 kg ha^{-1} , la cual fue ligeramente menor en plantas bajo las dosis de 100 kg de P.

Se menciona que el proceso de absorción de boro es reducido en suelos con buen drenaje y bajos en humedad, así como condiciones de clima seco (Havlin *et al.*, 2005). Además, la mayor absorción (0.7 kg ha^{-1}) ocurrió en plantas con alto contenido de P en etapa de llenado de vaina (Figura 1E). Por otro lado, los tratamientos inoculados con Bs incrementaron sustancialmente el proceso de absorción en comparación con las plantas no inoculadas (Figure 2). Las plantas inoculadas aumentaron la absorción de Mn, Cu y B en 12, 25 y 35% en comparación con las plantas no inoculadas (Figura 2B, C y E).

Investigación conducida por Armada *et al.* (2014) mostraron que la absorción de micronutrientes como Zn^{2+} , Mn^{2+} y Cu^{2+} incrementó mediante la aplicación de *Bacillus megaterium*, *Bacillus thuringiensis* y *Bacillus spp.*, en plantas de lavanda (*Lavandula angustifolia* L.) bajo estrés hídrico y en plantas de salvia (*Salvia divinorum* L.). Los resultados sugieren que el efecto estimulante de las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal en el proceso de absorción puede ser atribuido a la actividad de estas sobre la solubilización de nutrientes (Ndakidemi *et al.*, 2011). El efecto de Bs pudiera estar relacionado a la producción de ácidos orgánicos que enlazan metales como Fe, Zn, Cu y Mn, mismos que a la vez aumentan la disponibilidad para la absorción de las plantas (Havlin *et al.*, 2005). Algunos autores han reportado que la aplicación individual de inoculantes al frijol común ha promovido mayor absorción nutrimental y acumulación en los tejidos de las plantas.

Concentración de nutrientes en grano

La remoción de nutrientes es un parámetro muy importante en términos de calidad para la nutrición humana. Este es determinado por el contenido de proteína y minerales presentes (Mune *et al.*, 2013). De acuerdo con el contenido de minerales en frijol ha fluctuado en función del genotipo, manejo del cultivo y condiciones de almacenamiento. Al considerar la concentración de micronutrientes en granos de frijol, dicha concentración fue mayor para todos los tratamientos (aplicación de P y tratamientos inoculados con Bs) en comparación con lo reportado por Delfini *et al.* (2020). Ellos encontraron una concentración máxima de 115, 23, 17 y 47 mg kg^{-1} of Fe, Mn, Cu y Zn en 1512 accesiones de frijol común.

En este estudio, los datos mostraron que no hubo interacción entre los factores evaluados ($P \times Bs$) (Cuadro 1). A excepción del Fe ($p < 0.005$), el resto de los micronutrientes no fueron afectados por las dosis de P ($p \geq 0.42$). La máxima concentración de Fe se encontró en los tratamientos bajo las dosis de 50 kg ha^{-1} P, y la concentración más baja se observó en los tratamientos que no se aplicó P. Los contenidos de Mn, Cu, Zn y B en el grano fueron en el orden de 139, 93, 315 y 114 mg kg^{-1} . Astudillo y Blair (2008) mostraron que las dosis de P aumentaron significativamente las concentraciones de Fe y Zn en el grano.

La posible razón que explica la alta absorción de micronutrientes está relacionada con la producción de nódulos promovidos por la fertilización fosforada como lo mencionan Amare *et al.* (2014); Shanka *et al.* (2018). La inoculación con PGPR ha sido asociada por incrementar la bio-fortificación de micronutrientes en granos de frijol común (Talaat *et al.*, 2015; Jalal *et al.*, 2021). A excepción del Zn, la inoculación con Bs incrementó la concentración de micronutrientes (Cuadro 1).

Cuadro 1. Contenido de nutrientes en semilla de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.).

P ₂ O ₅ (kg ha ⁻¹)	Fe	Mn	Cu	Zn	B
	(mg kg ⁻¹)				
0	300 ±43.4 b	133 ±46.3 a	87 ±21.6 a	300 ±33.7 a	108 ±24.1 a
25	408 ±77.6 ab	136 ±46.8 a	97 ±19.6 a	330 ±30.3 a	108 ±31 a
50	420 ±100.6 a	150 ±59.7 a	97 ±18.6 a	333 ±20.6	128 ±33.7 a
100	360 ±142 ab	136 ±46.3 a	92 ±23 a	301 ±71.4	113 ±25.8 a
Probabilidad	0.005	0.81	0.71	0.42	0.43
Sin inoculación	305 ±53.4 b	112 ±36.7 b	80 ±16.4 b	311 ±29.7 a	98 ±21.8 b
Con inoculación	440 ±34.7 a	166 ±39.3 a	105 ±17.9 a	325 ±32.6 a	131 ±24.6 a
Probabilidad	0.001	0.002	0.004	0.45	0.005
P × Bs probabilidad	0.051	0.3	0.84	0.24	0.904

Valores con letras distintas son significativamente diferentes. Diferencia mínima significativa, prueba de Fisher ($p \leq 0.05$), ± desviación estándar.

El aumento en micronutrientes en las plantas inoculadas en comparación con las plantas no inoculadas fue en el orden de 140, 54, 25, 33 mg kg⁻¹, respectivamente para Fe, Mn, Cu y B. A pesar de que no se observaron efectos por la inoculación de Bs en la concentración de Zn en grano, los valores fueron aún más altos que los presentados por Delfini *et al.* (2020). En algunos otros cultivos como trigo, el uso de Bs ha aumentado significativamente la concentración de Zn en grano (68%) (Mumtaz *et al.*, 2018).

Conclusiones

Los resultados de este estudio revelan que la aplicación de fertilizante fosforado en combinación con *Bacillus subtilis* incrementó significativamente la absorción y remoción de micronutrientes. La región de crecimiento entre llenado de vaina antes del término de madurez fisiológica representó el periodo máximo para la adquisición de nutrientes. La mayor concentración de Zn y Fe en grano podría representar un rasgo específico en futuros procesos de bio-fortificación en variedades de frijol común.

Literatura citada

- Ahemad, M.; Khan, M. S.; Zaidi, A. and Wani, P. A. 2009. Remediation of herbicides contaminated soil-using microbes. *Microbes in Sustainable Agriculture*. 261(5):1-84.
- Ahemad, M. and Kibret, M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *J. King Saud University Science*. 26(1):1-20.

- Amare, G.; Assaye, D. and Tuma, A. 2014. The response of haricot bean varieties to different rates of phosphorus at Arba-Minch, Southern Ethiopia. *ARPN J. Agric. Biol. Sci.* 9(10):344-350.
- Amanullah, M. A.; Almas, L. K.; Amanullah, J. Z. S.; Hidayatur, R. and Shad, K. K. 2012. Agronomic efficiency and profitability of fertilizers applied at different planting densities of maize in Northwest Pakistan. *J. Plant Nutr.* 35(3):331-341.
- Armada, E.; Roldan, A. and Azcon, R. 2014. Differential activity of autochthonous bacteria in controlling drought stress in native lavandula and salvia plants species under drought conditions in natural arid soil. *Microbial Ecol.* 67(2):410-420. [https://doi: 10.1007/s00248-013-0326-9](https://doi.org/10.1007/s00248-013-0326-9).
- Astudillo, C. y Blair, M. 2008. Contenido de hierro y cinc en la semilla y su respuesta al nivel de fertilización con fósforo en 40 variedades de frijol colombianas. *Agron. Colomb.* 26(3):471-476.
- Bender, R. R.; Haegele, J. W. and Below, F. E. 2015. Nutrient uptake, partitioning and remobilization in modern soybean varieties. *Agron. J.* 107(2):563-573. <https://doi.org/10.2134/agronj14.0435>.
- Compant, S.; Clément, C. and Sessitsch, A. 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biol. Biochem.* 42(5):669-678. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.024>.
- Chaudhary, M. I.; Adu-Gyamfi, J. J.; Saneoka, H.; Nguyen, N. T.; Suwa, R.; Kanai, S.; El-Shemy, H. A.; Lightfoot, D. A. and Fujita, K. 2008. The effect of phosphorus deficiency on nutrient uptake, nitrogen fixation and photosynthetic rate in mashbean, mungbean and soybean. *Acta Physiologiae Plantarum.* 30(4):537-544. <https://doi.org/10.1007/s11738-008-0152-8>.
- Dehner, C. A.; Awaya, J. D.; Maurice, P. A. and DuBois, J. L. 2010. Roles of siderophores, oxalate, and ascorbate in mobilization of iron from hematite by the aerobic bacterium *Pseudomonas mendocina*. *Apply Environ. Microbiol.* 76(7):2041-2048. <https://doi.org/10.1128/aem.02349-09>.
- Delfini, J.; Moda-Cirino, V.; dos Santos, N. J.; Buratto, J. S.; Ruas, P. M. and Azeredo, G. L. S. 2020. Diversity of nutritional content in seeds of Brazilian common bean germplasm. *PLoS ONE.* 15(9):1-13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239263>.
- Domínguez, V. A. 1997. Tratado de fertilización. 3^{ra} Ed. Ediciones Mundi-Prensa. 143 p.
- Fageria, N. K.; Baligar, V. C. and Clark, R. B. 2002. Micronutrients in crop production. *Advances in Agronomy.* 77(1):189-272. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(02\)77015-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(02)77015-6).
- García, F. P.; Menéndez, E. and Rivas, R. 2015. Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. *Bioengineering.* 2(3):183-205. doi: 10.3934/bioeng.2015.3.183.
- Havlin, J. L.; Beaton, J. D.; Tisdale, S. L. and Nelson, W. L. 2005. *Soil Fertility and Fertilizers. An Introduction to Nutrient Management*, 7th Ed. Pearson Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ. 244-289 pp.
- Hidayatullah, A.; Amanullah, A. and Shah, Z. 2013. Residual effect of organic nitrogen sources applied to rice on the subsequent wheat crop. *Inter. J. Agron. Plant Produc.* 4(4):620-631.
- Indiragandhi, P.; Anandham, R.; Madhaiyan, M. and Sa, T. M. 2008. Characterization of plant growth-promoting traits of bacteria isolated from larval guts of diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Current Microbiology.* 56(1):327-333. <https://doi.org/10.1007/s00284-007-9086-4>.

- Iqbal, A.; Amanullah, A. and Iqbal, M. 2015. Impact of potassium rates and their application time on dry matter partitioning, biomass and harvest index of maize (*Zea mays*) with and without cattle dung application. *Emirate's J. Food Agric.* 27(5):447-453. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2015.04.042>.
- Jalal, A.; Galindo, F. S.; Boleta, E. H. M.; Oliveira, C. E.; Reis, A. R. D.; Nogueira, T. A. R.; Moretti, N. M. J.; Mortinho, E. S.; Fernandes, G. C. and Teixeira, F. M. C. M. 2021. Common bean yield and zinc use efficiency in association with diazotrophic bacteria co-inoculations. *Agronomy.* 11(5):1-20. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050959>.
- Joshi, A. K.; Crossa, J.; Arun, B.; Chand, R.; Trethowan, R.; Vargas, M. and Ortiz, M. I. 2010. Genotype × Environment interaction for zinc and iron concentration of wheat grain in eastern Gangetic plains of India. *Field Crops Research.* 116(3):268-277. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.01.004>.
- Khan, M. S.; Zaidi, A.; Wani, P. A. and Oves, O. 2009. Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils. *Environ. Chem. Letters.* 7(1):1-19. <https://doi.org/10.1007/s10311-008-0155-0>.
- Lima, R. T.; Nascimento, V. and Andreani, J. R. 2016. Densidade de plantas e fontes de nitrogênio no cultivo de feijoeiro. *Brazilian J. Biosys. Eng.* 10(3):327-338. <https://doi.org/10.18011/bioeng2016v10n3p327-338>.
- Minitab. 2017. Statistical software. PA: Minitab, Inc.
- Mune, M. A.; Minkaa, M. R. and Mbombob, I. L. 2013. Chemical composition and nutritional evaluation of a cowpea protein concentrate. *Global Adv. Res. J. Food Sci. Technol.* 2(3):35-43.
- Mweetwa, A. M.; Chilombo, G. and Gondwe, B. M. 2016. Nodulation, nutrient uptake and yield of common bean inoculated with *Rhizobia* and *Trichoderma* in an acid soil. *J. Agric. Sci.* 8(12):61-70. <https://doi.org/10.5539/jas.v8n12p61>.
- Mumtaz, M. Z.; Ahmad, M.; Jamil, M.; Asad, S. A. and Hafeez, F. 2018. *Bacillus strains* as potential alternate for zinc biofortification of maize grains. *Inter. J. Agric. Biol.* 20(8):1779-1786. <https://doi.org/10.17957/ijab/15.0690>.
- Neubauer, U.; Furrer, G.; Kayser, A. and Schulin, R. 2000. Siderophores, NTA, and citrate: potential soil amendments to enhance heavy metal mobility in phytoremediation. *Inter. J. Phytoremediation.* 2(4):353-368. <https://doi.org/10.1080/15226510008500044>.
- NOM-021-RECNAT. 2000. Norma Oficial Mexicana. Aprobada por el comité consultivo nacional de normalización para la conservación, protección, restauración y aprovechamiento de los recursos forestales de suelos y costas. Norma Oficial Mexicana. 227 p.
- Ndavidemi, P. A.; Bambara, S. and Makoi, J. 2011. Micronutrient uptake in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by Rhizobium inoculation, and the supply of molybdenum and lime. *Plant Omics J.* 4(1):40-52. <https://doi.org/abs/10.3316>.
- Qiao, J.; Xiang, Y.; Xuejie, L.; Yongfeng, L.; Borriss, B. and Liu, L. 2017. Addition of plant-growth-promoting *Bacillus subtilis* PTS-394 on tomato rhizosphere has no durable impact on composition of root microbiome. *BMC Microbiology.* 17(1):1-12. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1039-x>.
- Rengel, Z.; Batten, G. D. and Crowley, D. E. 1999. Agronomic approaches for improving the micronutrient density in edible portion of field crops. *Field Crops Res.* 60(1-2):27-40. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(98\)00131-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00131-2).
- SIAP. 2013. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. www.siap.gob.mx.

- Shanka, D.; Dechassa, N.; Gebeyehu, S. and Elias, E. 2018. Dry matter yield and nodulation of common bean as influenced by phosphorus, lime and compost application at southern Ethiopia. *Open Agriculture*. 3(1):500-509. <https://doi.org/10.1515/opag-2018-0055>.
- Sifuentes, I. E.; Macías, C. J.; Quintana, J. and González, C. V. 2012. IrriModel 1.0: Programación integral y gestión del riego a través de internet. Folleto técnico. INIFAP-CIRNO-CEVAF. 52 p.
- Sridevi, M.; Mallaiiah, K. V. and Yadav, N. C. S. 2007. Phosphate solubilization by *Rhizobium* isolates from *Crotalaria* species. *Journal of Plant Science*. 2(6):635-639.
- Stajkovic, O.; Delic, D.; Josic, D.; Kuzmanovic, D.; Rasulic, N. and Vukcevic, J. K. 2011. Improvement of common bean growth by co-inoculation with *Rhizobium* and plant growth-promoting bacteria. *Romanian Biotechnological Letters*. 16(1):5919-5926.
- Talaat, N. B.; Ghoniem, A. E.; Abdelhamid, M. T. and Bahaa, T. S. 2015. Effective microorganisms improve growth performance, alter nutrients acquisition and induce compatible solutes accumulation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants subjected to salinity stress. *Plant Growth Regul.* 75(1):281-295. <https://doi.org/10.1007/s10725-014-9952-6>
- Tofiño, R. A. P.; Pastrana, V. I. J.; Melo, R. A. E.; Beebe, S. y Tofiño, R. R. 2016. Rendimiento, estabilidad fenotípica y contenido de micronutrientes de genotipos de fríjol biofortificado en el Caribe seco colombiano. *Corpoica. Ciencia Tecnología Agropecuaria*. 17(3):309-329. https://doi.org/10.21930/rcta.vol17_num3_art:511.
- Velu, G.; Ortiz, M. I.; Cakmak, I.; Hao, Y. and Singh, R. P. 2014. Bio-fortification strategies to increase grain zinc and iron concentrations in wheat. *J. Cereal Sci.* 59(3):365-372. doi.org/10.1016/j.jcs.2013.09.001.
- Westermann, D. T.; Teran, H. X.; Muñoz, P. C. G. and Singh, S. P. 2011. Plant and seed nutrient uptake in common bean in seven organic and conventional production systems. *Canadian J. Plant Sci.* 91(6):1089-1099. <https://doi.org/10.4141/cjps10114>.