





Selección de un consorcio microbiano promotor del crecimiento de plántulas de cebolla en condiciones de umbráculo

Selection of a growth promoter microbial consortium in onion seedlings under shade-house conditions

Seleção de um consórcio microbiano promotor de crescimento de mudas de cebola em casa de vegetação

Erika Lorena Blanco^{1,2,3*}, Fermín Rada², Yulimar Castro^{3,4} y Jorge Paolini⁵

¹Laboratorio de Biotecnología y Química de Polímeros (LIBQPOL). Decanato de Investigación. Universidad Nacional Experimental del Táchira (UNET). Apdo. 5001. San Cristóbal, Venezuela. Correo electrónico: elorenablancoc@gmail.com.  ²Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE). Postgrado en Ecología Tropical. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Apdo. 5101. Mérida, Venezuela. Correo electrónico: fradarincon@gmail.com.  ³Laboratorio de Fitobiotecnología. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes (ULA). Apdo. 5101. Mérida, Venezuela. Correo electrónico: yulimarcastromolina@gmail.com.  ⁴Laboratório de Fermentações, Programa Pós Graduação em Microbiologia Agrícola, Universidad Federal de Lavras, Apdo. 3037, Minas Gerais, Brasil. ⁵Centro de Ecología. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Apdo. 21825. 1020-A Caracas, Venezuela. Correo electrónico: mapire3000@gmail.com .

Resumen

La práctica de producir plántulas más vigorosas representa una ventaja competitiva al momento del trasplante de un cultivo, y el uso de biofertilizantes combinados son una alternativa ecológica sustentable. El objetivo de esta investigación fue seleccionar un consorcio microbiano para la producción de cebolla híbrido F1 2000 en semilleros bajo condiciones de umbráculo. Para ello se utilizaron cinco cepas rizobacterianas de los géneros *Rhizobium* (cepa ME01), *Bradyrhizobium* (cepas Leu2A y YE1), *Ochrobactrum* (cepa ES1) y *Pseudomonas* (cepa Alf), que han mostrado efectos benéficos sobre plántulas de pimentón

Recibido el 22-06-2020 • Aceptado el 08-09-2020.

*Autor de correspondencia. Correo electrónico: elorenablancoc@gmail.com

y lechuga. Estas rizobacterias se inocularon de forma mixta (consorcio microbiano) en cebolla así: Alf+ES1, ME01+ES1, ES1+Leu2A, Alf+Leu2A, YE1+ES1, ME01+Alf, YE1+Alf, ME01+YE1, YE1+Leu2A, ME01+Leu2A, utilizando un suelo proveniente de San Juan de Lagunillas-Mérida, Venezuela en condiciones de umbráculo durante 60 días. Se determinaron las variables: número de hojas, diámetro de la base del pseudotallo, longitud aérea y de la raíz, peso fresco y seco aéreo y de la raíz. Adicionalmente, a las plántulas del consorcio seleccionado, se les realizó una curva de asimilación de CO₂ con diferentes niveles de luz para observar su respuesta fotosintética. El consorcio ME01 + Leu2A (*Rhizobium tropici* + *Bradyrhizobium japonicum*) fue el que incrementó todas las variables determinadas, especialmente el diámetro de la base del pseudotallo, determinante para el cultivo de cebolla, y produjo una mayor tasa de asimilación de CO₂ en las plántulas. Se propone el uso de este consorcio microbiano como una opción para la producción agrícola en condiciones de semillero.

Palabras clave: *Allium cepa* L., biofertilizantes, rizobios, tasa de asimilación de CO₂.

Abstract

The practice of producing more vigorous seedlings represents a competitive advantage at the time of transplanting a crop, and the use of combined biofertilizers are a sustainable ecological alternative. The objective of this research was to select a microbial consortium for the production of F1 2000 hybrid onion seedbeds under shade-house conditions. Five rhizobacterial strains of the genera *Rhizobium* (ME01 strain), *Bradyrhizobium* (Leu2A and YE1 strains), *Ochrobactrum* (ES1 strain) and *Pseudomonas* (Alf strain), which have shown favorable effects on pepper and lettuce seedlings. These rhizobacteria were inoculated in a mixed manner (microbial consortium) in onion as follows: Alf+ES1, ME01+ES1, ES1+Leu2A, Alf+Leu2A, YE1+ES1, ME01+Alf, YE1+Alf, ME01+YE1, YE1+Leu2A, ME01+Leu2A, using a soil from San Juan de Lagunillas-Mérida, Venezuela under shade-house conditions for 60 days. The following variables were determined: number of leaves, pseudostem base diameter, aerial and root length, aerial and root fresh and dry weight. Additionally, a CO₂ assimilation curve under different light levels was carried out on the seedlings of the selected consortium to observe their photosynthetic response. The consortium ME01 + Leu2A (*Rhizobium tropici* + *Bradyrhizobium japonicum*) increased all studied variables, especially the pseudostem base diameter, essential for onion cultivation, and yielded higher seedlings CO₂ assimilation rates. The use of this microbial consortium is recommended as an option for agricultural production under seedbed conditions.

Key words: *Allium cepa* L., biofertilizers, rhizobia, CO₂ assimilation rate.

Resumo

A prática de produzir mudas mais vigorosas representa uma vantagem competitiva no momento do transplante de uma cultura e, o uso de biofertilizantes combinados é uma alternativa ecológica sustentável. O objetivo desta pesquisa foi selecionar um consórcio microbiano para a produção de mudas de cebola híbridos F1 2000 em canteiros sob condições de casa de vegetação. Para isto, foram utilizadas cinco cepas rizobacterianas dos gêneros *Rhizobium* (cepa ME01), *Bradyrhizobium* (cepas Leu2A e YE1), *Ochrobactrum* (cepa ES1) e *Pseudomonas* (cepa Alf), que tem mostrado efeitos benéficos nas mudas de pimentão e alface. Essas rizobacterias foram inoculadas de forma misturada (consórcio microbiano) em cebola da seguinte forma: Alf+ES1, ME01+ES1, ES1+Leu2A, Alf+Leu2A, YE1+ES1, ME01+Alf, YE1+Alf, ME01+YE1, YE1+Leu2A, ME01+Leu2A, utilizando solo de San Juan de Lagunillas-Mérida, Venezuela em condições de casa de vegetação por 60 dias. Foram determinadas as variáveis: número de folhas, diâmetro da base do pseudocaule, comprimento do caule e da raiz, peso fresco e peso seco do caule e da raiz. Além disso, nas mudas de consórcio selecionado foi realizada uma curva de assimilação de CO₂ com diferentes níveis de luz para observar sua resposta fotossintética. O consórcio ME01 + Leu2A (*Rhizobium tropici* + *Bradyrhizobium japonicum*) foi quem aumentou todas as variáveis determinadas, especialmente o diâmetro da base do pseudocaule, determinante para o cultivo da cebola, e produziu uma maior taxa de assimilação de CO₂ nas mudas. É proposta a utilização deste consórcio microbiano como uma opção para a produção agrícola em condições de canteiro.

Palavras-chave: *Allium cepa* L., biofertilizantes, rizobios, taxa de assimilação de CO₂.

Introducción

Los vegetales requieren un cuidado especial durante su crecimiento inicial, bien sea para formar plántulas más vigorosas y tener más éxito durante el trasplante o para estar protegidas contra agentes fitopatógenos. Estos efectos benéficos sobre el crecimiento vegetal pueden ser producidos por la aplicación de microorganismos promotores del crecimiento vegetal (MPCV) que han mostrado ventajas sobre la germinación y el desarrollo de distintos semilleros (tomate, ají,

Introduction

Vegetables require special care during their initial growth, either to form more vigorous seedlings and be more successful during transplantation or to be protected against phytopathogens. These beneficial effects on plant growth can be produced by the application of plant growth promoting microorganisms (PGPM) that have shown advantages over germination and development of different seedbeds (tomato, chili pepper, lettuce, paprika) either

lechuga, pimentón) bien sea de forma individual o en consorcio, gracias a sus variados mecanismos de acción biológica (Jayashree y Jagadeesh, 2017; Blanco *et al.*, 2018; Alcedo y Reyes, 2018).

Un consorcio microbiano desde el punto de vista de la co-inoculación es una asociación de dos o más poblaciones microbianas, de diferentes géneros y especies, que interactúan sinérgicamente como una comunidad en un sistema complejo, donde todos se benefician de las actividades de los demás, mediante estilos de vida sinérgicos en los que el crecimiento y el flujo cíclico de nutrientes se conduce más efectiva y eficientemente que en poblaciones individuales (Olmedo, 2003; Ochoa-Carreño y Montoya-Restrepo, 2010; Gangaraddi y Brahmaaprakash, 2018). Los consorcios microbianos pueden resistir mejor los periodos de limitación de nutrientes debido a la diversidad metabólica disponible por la diversidad de especies, combinada con la habilidad de compartir metabolitos dentro de la comunidad. Una condición de limitación de nutrientes puede favorecer a una población minoritaria si esta tiene la habilidad metabólica capaz de sostener la supervivencia de todo el consorcio, o ante variadas condiciones de fertilidad del suelo, puede incentivarse la acción de un grupo funcional microbiano (Reyes y Valery, 2007). Esto también dependerá del éxito del *quorum sensing* (también llamado autoinducción), el cual se conoce como un mecanismo bacteriano de comunicación célula-célula en respuesta al tamaño de la población

individually or in consortium, because of its various mechanisms of biological action (Jayashree and Jagadeesh, 2017; Blanco *et al.*, 2018; Alcedo and Reyes, 2018).

From the point of view of co-inoculation, a microbial consortium is an association of two or more microbial populations, of different genera and species, that interact synergistically as a community in a complex system, where all benefit from the activities of the others, through synergistic lifestyles in which growth and the cyclical flow of nutrients are conducted more effectively and efficiently than in individual populations (Olmedo, 2003; Ochoa-Carreño and Montoya-Restrepo, 2010; Gangaraddi and Brahmaaprakash, 2018). Microbial consortia can better withstand periods of nutrient limitation due to the metabolic diversity available from species diversity, combined with the ability to share metabolites within the community. A condition of nutrient limitation can favor a minority population if it has the metabolic ability capable of sustaining the survival of the entire consortium, or in the face of various soil fertility conditions, the action of a microbial functional group can be encouraged (Reyes and Valery, 2007). This will also depend on the success of *quorum sensing* (also called autoinduction), which is known as a bacterial mechanism of cell-cell communication in response to the size of the bacterial population to regulate gene expression in order to produce some extracellular polysaccharides, enzymes degradative, antibiotics, siderophores, biofilm formation, which

bacteriana para regular la expresión genética con el objetivo de producir algunos polisacáridos extracelulares, enzimas degradativas, antibióticos, sideróforos, formación de biopelículas, lo que muestra la importancia del *quorum sensing* en comunidades bacterianas asociadas a plantas (Antoun y Prévost, 2005; Brom *et al.*, 2014; Yashaswini y Vijay Kumar, 2016).

Estudios recientes promueven el uso de consorcios con bacterias de distintos géneros como *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bacillus*, *Sphingomonas*, *Enterobacter*, *Agrobacterium*, *Paenibacillus*, para la promoción del crecimiento de trigo (Wang *et al.*, 2020), y el uso de consorcios formados por *Rhizobium*, *Enterobacter clocae* y *Pseudomonas* sp. para la promoción del crecimiento de haba bajo condiciones de estrés oxidativo (Fatnassi *et al.*, 2015).

Actualmente la cebolla es un cultivo de alto valor económico en Venezuela debido a la carencia de semillas certificadas, y a los altos costos de fertilizantes químicos y plaguicidas. Su cultivo se realiza normalmente en suelos de textura media (franco arenosos), con buen drenaje y ricos en materia orgánica para favorecer el desarrollo de las raíces y de los bulbos (Enciso *et al.*, 2019). En el estado Mérida este cultivo posee una superficie cosechada de 491,39 ha para este rubro, lo cual ubica a la región andina como una localidad importante para la siembra de cebolla en el país, con zonas semiáridas que propician las condiciones climáticas favorables para su cultivo (MPPAT, 2017).

shows the importance of *quorum sensing* in bacterial communities associated with plants (Antoun and Prévost, 2005; Brom *et al.*, 2014; Yashaswini and Vijay Kumar, 2016).

Recent studies promote the use of consortia with bacteria of different genera such as *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bacillus*, *Sphingomonas*, *Enterobacter*, *Agrobacterium*, *Paenibacillus*, for the promotion of wheat growth (Wang *et al.*, 2020), and the use of consortia formed by *Rhizobium*, *Enterobacter clocae* and *Pseudomonas* sp. for the promotion of broad bean growth under conditions of oxidative stress (Fatnassi *et al.*, 2015).

Currently, onion is a crop of high economic value in Venezuela due to the lack of certified seeds, and the high costs of chemical fertilizers and pesticides. Its cultivation is normally carried out in soils of medium texture (sandy loam), with good drainage and rich in organic matter to favor the development of roots and bulbs (Enciso *et al.*, 2019). In the state of Mérida, this crop has a harvested area of 491.39 ha for this item, which places the andean region as an important location for the planting of onions in the country, with semi-arid areas that favor favorable climatic conditions for its cultivation (MPPAT, 2017).

The objective of this research was to select an autochthonous microbial consortium from the state of Mérida that promotes plant growth, for the growth of onion seedlings under shade conditions, using soil from a semi-arid area, increasing regional and national production, as well as reducing

El objetivo de esta investigación fue seleccionar un consorcio microbiano autóctono del estado Mérida promotor del crecimiento vegetal, para el crecimiento de plántulas de cebolla en condiciones de umbráculo, utilizando un suelo proveniente de una zona semiárida, con miras a incrementar la producción regional y nacional, así como disminuir las dosis de fertilizantes químicos en campo.

Materiales y métodos

Material biológico

Se utilizaron cinco cepas rizobacterianas autóctonas del estado Mérida, pertenecientes al Laboratorio de Fitobiotecnología-ULA, que de forma individual mostraron potencial biofertilizante sobre plántulas de pimentón y lechuga (Blanco *et al.*, 2018). Las cepas usadas fueron ME01 (*Rhizobium tropici*) (Marquina *et al.*, 2011), Leu2A (*Bradyrhizobium japonicum*), YE1 (*Bradyrhizobium* spp.), ES1 (*Ochrobactrum* spp.) y Alf (*Pseudomonas fluorescens*) (Blanco *et al.*, 2018), caracterizadas como productoras de ácido indol acético, sideróforos, ácido cianhídrico, disolventes de fósforo, y antagonicas contra los fitopatógenos *Fusarium oxysporum* y *Colletotrichum gloeosporioides* (Blanco y Castro, resultados no publicados).

Además, se utilizó semilla de cebolla certificada híbrido F1 2000 (casa comercial Hazera), una cebolla amarilla de día corto que ha mostrado cierta tolerancia al bajo contenido de humedad en el suelo (Estrada-Prado *et al.*, 2015).

the doses of chemical fertilizers in the field.

Materials and methods

Biological material

Five autochthonous rhizobacterial strains from the Mérida state, belonging to Laboratorio de Fitobiotecnología-ULA, which individually showed biofertilizing potential on paprika and lettuce seedlings were used (Blanco *et al.*, 2018). The strains used were ME01 (*Rhizobium tropici*) (Marquina *et al.*, 2011), Leu2A (*Bradyrhizobium japonicum*), YE1 (*Bradyrhizobium* spp.), ES1 (*Ochrobactrum* spp.) and Alf (*Pseudomonas fluorescens*) (Blanco *et al.*, 2018), characterized as producers of indole acetic acid, siderophores, hydrocyanic acid, phosphate solubilizers, and antagonists against the phytopathogens *Fusarium oxysporum* and *Colletotrichum gloeosporioides* (Blanco and Castro, unpublished results).

In addition, F1 2000 hybrid certified onion seed (Hazera commercial house) was used, a short-day yellow onion that has shown a certain tolerance to low moisture content in the soil (Estrada-Prado *et al.*, 2015).

Soil

Soil from the Estación Experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP), from Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, ULA, located in San Juan de Lagunillas-Mérida, Sucre municipality, Mérida state, was used as it is a semi-arid area with favorable soil for growing onion. The altitude of the site is between 1050

Suelo

Se usó un suelo proveniente de la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP) de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la ULA, ubicada en San Juan de Lagunillas-Mérida, municipio Sucre, estado Mérida, por tratarse de una zona semiárida con suelo favorable para el cultivo de cebolla. La altitud del lugar se encuentra entre 1050 a 1100 msnm, y su ubicación geográfica corresponde a los 8° 31' N y 71° 22' W. Se tomó una muestra compuesta del suelo y se tamizó a través de una malla de 2,36 mm de diámetro para preparar el semillero. Las características físico-químicas del suelo se muestran en el Cuadro 1.

to 1100 masl, and its geographical location corresponds to 8° 31' N and 71° 22' W. A composite sample of the soil was taken and sieved through a 2.36 mm in diameter mesh to prepare the seedbed. The physical-chemical characteristics of the soil are shown in Table 1.

Preparation of the inoculums

The rhizobia strains grew in agarized medium yeast extract-mannitol YMA modified with 0.5 g.L⁻¹ K₂HPO₄, 0.2 g.L⁻¹ MgSO₄.7H₂O, 0.1 g.L⁻¹ NaCl, 0.5 g.L⁻¹ yeast extract, 2.5 g.L⁻¹ mannitol, 7.5 g.L⁻¹ sucrose, 2.5 mg.mL⁻¹ Congo red pH 6.7-6.8 (Vincent, 1975) at 29 °C. The incubation period of the rhizobia was carried out according to the growth dynamics of each strain, until its exponential-stationary phase (24-36 h) using the

Cuadro 1. Características físico químicas del suelo proveniente de la parcela experimental del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP) de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la ULA, en San Juan de Lagunillas, estado Mérida.

Table 1. Physical-chemical characteristics of the soil from the experimental plot of the Instituto de Investigaciones Agropecuarias (IIAP) of the Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales of the ULA, in San Juan de Lagunillas, Merida state.

Textura ^a	MO ^b %	Pdisp ^c mg.kg ⁻¹	pH (1:2,5)	C.E (1:5) mS.cm ⁻¹	K ^d mg.kg ⁻¹	Ca ^d mg.kg ⁻¹	Mg ^d mg.kg ⁻¹	Rel Ca/Mg
Franco arenosa	3,61	30	6,04	0,14	568	2060	1872	0,66

^aBouyoucos; ^bMateria orgánica por Walkley y Black; ^cFósforo disponible por Bray I (0,03 M NH₄F + 0,025 M HCl); ^dCationes intercambiables por extracción con acetato de amonio 1 M pH 7,0.

^aBouyoucos; ^bOrganic matter by Walkley and Black; Bray I available phosphorus (0.03 M NH₄F + 0.025 M HCl); Exchangeable cations by extraction with 1 M ammonium acetate pH 7.0.

Preparación de los inóculos

Las cepas rizobianas crecieron en medio agarizado extracto de levadura-manitol YMA modificado con 0,5 g.L⁻¹ K₂HPO₄, 0,2 g.L⁻¹ MgSO₄.7H₂O, 0,1 g.L⁻¹ NaCl, 0,5 g.L⁻¹ extracto de levadura, 2,5 g.L⁻¹ manitol, 7,5 g.L⁻¹ sacarosa, 2,5 mg.mL⁻¹ rojo congo pH 6,7-6,8 (Vincent, 1975) a 29 °C. El período de incubación de los rizobios se realizó según la dinámica de crecimiento de cada cepa, hasta su fase exponencial-estacionaria (24-36 h) utilizando como modelo la curva de crecimiento para rizobios determinada por Blanco *et al.* (2013) en este medio de crecimiento. Los inóculos se prepararon de forma mixta con el cultivo de cada cepa mediante el conteo celular con una cámara de Neubauer a una concentración 1x10⁸ cel.mL⁻¹ de cada cepa en solución salina 0,89 % NaCl. Se preparó un control solo con solución salina 0,89 % NaCl y sin consorcios. Seguidamente los inóculos se mantuvieron durante 20 minutos a 90 rpm en una agitadora a temperatura ambiente con la finalidad de homogenizar la suspensión celular. Los tratamientos utilizados correspondieron a los consorcios preparados (proporción 1:1), según el Cuadro 2.

Ensayo en umbráculo

Las semillas de cebolla se desinfectaron mediante lavado con solución jabonosa al 1 % (jabón en barra) durante 10 min, seguido de 5 enjuagues con agua destilada estéril, luego lavado con cloro al 1 % por 1 min, y por último, 10 enjuagues con agua destilada estéril, según protocolo estandarizado en el

growth curve for rhizobia determined by Blanco *et al.* (2013) as a model in this growth medium. The inocula were prepared in a mixed manner with the culture of each strain by means of cell counting with a Neubauer chamber at a concentration of 1x10⁸ cel.mL⁻¹ of each strain in 0.89 % NaCl saline solution. A control was prepared only with saline 0.89 % NaCl and without consortia. The inocula were then kept for 20 minutes at 90 rpm in a shaker at room temperature in order to homogenize the cell suspension. The treatments used corresponded to the prepared consortia (1:1 ratio), according to Table 2.

Shade-house experiment

The onion seeds were disinfected by washing with 1 % soap solution (bar soap) for 10 min, followed by 5 rinses with sterile distilled water, then washing with 1 % chlorine for 1 min, and finally, 10 rinses with sterile distilled water, according to standardized protocol in the Laboratorio de Fitobiotecnología. The disinfected seeds were added to the inocula of each consortium and placed under shaking at 90 rpm for 1 h. Horticultural trays of 50 cells filled with the soil of experimental station (approximately 50 g of soil per cell) were used, two seeds were sown per cell (40 seeds per treatment), they were moistened and covered with commercial sterile substrate to facilitate cotyledon emergence. The trays were kept under shade conditions (temperature 27.4 °C, relative humidity 65 %, light 137 μmol.m⁻².s⁻¹). Twenty days after cotyledon emergence, thinning was

Laboratorio de Fitobiotecnología. Las semillas desinfectadas se agregaron a los inóculos de cada consorcio y se colocaron en agitación a 90 rpm por 1 h. Se utilizaron bandejas de horticultura de 50 celdas sustentadas con el suelo de la parcela experimental a utilizar (aproximadamente 50 g de suelo por celda), se sembraron dos semillas por celda (40 semillas por tratamiento), se humedecieron y se cubrieron con sustrato comercial estéril para facilitar la emergencia cotiledonar. Las bandejas se mantuvieron en condiciones de umbráculo (temperatura 27,4 °C, humedad relativa 65 %, luz 137 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). A los 20 días de la emergencia cotiledonar se realizó un raleo dejando así una sola plántula por celda. Las plántulas se reinocularon inmediatamente cada una con 1 mL de inóculo 1×10^8 cel. mL^{-1} del tratamiento correspondiente. El riego se realizó a capacidad de campo con frecuencia interdiaria o diaria según las condiciones ambientales. El riego nutricional se realizó con solución Hoagland (Taiz y Zeiger, 2010) dos veces por semana a capacidad de campo, fraccionando la concentración de sus nutrientes 12,5 % días 15-20, 20 % todos sus nutrientes (Ca y K 100 %) días 20-25, 25 % todos sus nutrientes (Ca y K 125 %) días 25-45, y 50 % todos los nutrientes (Ca y K 100 %) días 45-60 después de la siembra en bandejas. Esta dosificación nutricional se realizó con base en Blanco *et al.* (2018), y a sugerencias de productores agrícolas de cebolla con respecto al Ca y al K en fase de semillero, por la importancia de los mismos para la formación de

performed, thus leaving a single seedling per cell. The seedlings were immediately re-inoculated each with 1 mL of inoculum 1×10^8 cell. mL^{-1} of the corresponding treatment. Irrigation was carried out at field capacity with interday or daily frequency depending on the environmental conditions. The nutritional irrigation was carried out with Hoagland solution (Taiz and Zeiger, 2010) twice a week at field capacity, dividing the concentration of its nutrients 12.5 % days 15-20, 20 % all its nutrients (Ca and K 100 %) days 20-25, 25 % all its nutrients (Ca and K 125 %) days 25-45, and 50 % all nutrients (Ca and K 100 %) days 45-60 after planting in trays. This nutritional dosage was used based on Blanco *et al.* (2018), and suggestions from local onion producers regarding Ca and K in the seedling phase, due to their importance for the formation of seedlings and because there is no evidence so far that these elements are facilitated due to the presence of the consortia employed (Enciso *et al.*, 2019).

The treatments were evaluated with 15 repetitions each. The trial was disassembled at 60 days and the following morphometric variables were determined: stem and root length, fresh and dry weight of stem and root, number of leaves, and the diameter of the pseudostem base, in order to study the effect of consortia on the growth of the onion in the seedling phase under controlled conditions. Additionally, for the of the control treatment and of the one selected as the most promising consortium ($n = 5$), a light saturation curve was performed to determine

las plántulas y debido a que no hay evidencias hasta ahora de que estos elementos sean facilitados por la presencia de los consorcios empleados (Enciso *et al.*, 2019).

their photosynthetic activity, using a portable gas exchange system (LC-Pro, ADC Bioscientific Ltd.), programming measurements between 0 and 1800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ through an artificial light

Cuadro 2. Tratamientos utilizados en el experimento (preparados en solución salina 0,89 % NaCl).

Table 2. Treatments used in the experiment (prepared in saline solution 0.89 % NaCl).

Tratamientos biológicos	Descripción
Control (sin inocular)	Sin consorcios
Alf+ES1	<i>Pseudomonas fluorescens</i> + <i>Ochrobactrum</i> spp.
ME01+ES1	<i>Rhizobium tropici</i> + <i>Ochrobactrum</i> spp.
ES1+Leu2A	<i>Ochrobactrum</i> spp. + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>
Alf+Leu2A	<i>Pseudomonas fluorescens</i> + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>
YE1+ES1	<i>Bradyrhizobium</i> spp. + <i>Ochrobactrum</i> spp.
ME01+Alf	<i>Rhizobium tropici</i> + <i>Pseudomonas fluorescens</i>
YE1+Alf	<i>Bradyrhizobium</i> spp. + <i>Pseudomonas fluorescens</i>
ME01+YE1	<i>Rhizobium tropici</i> + <i>Bradyrhizobium</i> spp.
YE1+Leu2A	<i>Bradyrhizobium</i> spp. + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>
ME01+Leu2A	<i>Rhizobium tropici</i> + <i>Bradyrhizobium japonicum</i>

Los tratamientos se evaluaron con 15 repeticiones cada uno. El ensayo se desmontó a los 60 días y se determinaron las siguientes variables morfológicas: longitud de tallo y raíz, peso fresco y seco de tallo y raíz, número de hojas, y el diámetro de la base del pseudotallo para estudiar el efecto de los consorcios sobre el crecimiento de la cebolla en fase de semillero bajo condiciones controladas. Adicionalmente, a las plántulas del tratamiento control y del seleccionado como el consorcio más promisorio (n=5), se les realizó una curva de saturación de luz para determinar su actividad fotosintética, utilizando un sistema portátil de intercambio de gases (LC-Pro, ADC Bioscientific Ltd.), programando

source and the respective equipment software; the data were processed with the Sigmaplot software. From this curve the maximum assimilation rate at light saturation was obtained.

Statistic analysis

The data were analyzed using a one-way ANOVA and the LSD test ($p < 0.05$) with the Statgraphics software (Statistical Graphics Corporation, 2002). The assumption of normality and the homogeneity of variance were checked with the Bartlett test. However, the results of the variables of dry weight, fresh root weight, and diameter of the pseudostem base, were subjected to the Kruskal Wallis test with the statistical software Infostat (InfoStat Statistical Software, 2002), because the data they did not

mediciones entre 0 y 1800 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ a través de una fuente de luz artificial y el respectivo software del equipo; los datos se procesaron con el programa Sigmaplot. De dicha curva se obtuvo la tasa de asimilación máxima a saturación de luz.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante un ANOVA de una vía y la prueba LSD ($p < 0,05$) con el programa Statgraphics (Statistical Graphics Corporation, 2002). Se comprobó el supuesto de normalidad y la homogeneidad de varianzas con el test de Bartlett. Sin embargo, los resultados de las variables de peso seco, peso fresco raíz, y diámetro de la base del pseudotallo, se sometieron a la prueba de Kruskal Wallis con el programa estadístico Infostat (InfoStat Statistical Software, 2002), debido a que los datos no cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad de las varianzas (Montgomery, 1991).

Resultados y discusión

Efecto de los consorcios sobre el crecimiento de las plántulas de cebolla

En el cuadro 3 se pueden observar los efectos de la compatibilidad consorcios-cultivo. En este sentido, los consorcios promisorios para las variables de crecimiento determinadas fueron ME01+YE1, YE1+Leu2A, y ME01+Leu2A, debido a que incrementaron significativamente ($p < 0,05$) las variables: número de hojas, longitud (total, raíz y aérea), pesos fresco y seco (raíz y aéreo), así como el diámetro de la base del

meet the assumptions of normality and homogeneity of the variances (Montgomery, 1991).

Results and discussion

Effect of consortia on the growth of onion seedlings

Table 3 shows the effects of the compatibility among microbial consortia and crop. In this sense, the promising consortia for the growth variables determined were ME01 + YE1, YE1 + Leu2A, and ME01 + Leu2A, due to the significant increase ($p < 0.05$) of the variables: number of leaves, length (total, root and aerial), fresh and dry weights (root and aerial), as well as the diameter of the pseudostem base, above the other consortia tested and the control (without inoculating). On the other hand, the Alf + ES1, ME01 + Alf, and YE1 + Alf consortia did not exert any effect on the seedlings, since the values in the determined variables did not show significant differences with respect to the non-inoculated control.

Of these consortia, the ME01 + Leu2A stood out, consisting of a *Rhizobium tropici* strain and a *Bradyrhizobium japonicum* strain respectively, for its positive effect on the increase of all the variables determined, especially the diameter of the base of the pseudostem or neck (increase in up to 300 %), which corresponds to the beginning of the thickening of the bulb. This parameter is decisive in onion cultivation, since the time of transplantation depends on the thickness of the neck to avoid the formation of bulbs of poor

pseudotallo, por encima de los otros consorcios probados y del control (sin inocular). Por otro lado, los consorcios Alf+ES1, ME01+Alf, y YE1+Alf, no ejercieron ningún efecto sobre las plántulas, ya que los valores en las variables determinadas no muestran diferencias significativas respecto al control no inoculado.

De estos consorcios destacó el ME01+Leu2A, formado por una cepa de *Rhizobium tropici* y una cepa de *Bradyrhizobium japonicum* respectivamente, por su efecto positivo sobre el incremento de todas las variables determinadas, especialmente el diámetro de la base del pseudotallo o cuello (incremento de hasta 300 %), lo que significa el comienzo del engrosamiento del bulbo. Este parámetro es determinante en el cultivo de cebolla, ya que el momento del trasplante depende del grosor del cuello para evitar la formación de bulbos de mala calidad (Enciso *et al.*, 2019). Nuevos reportes han mostrado efectos positivos sobre el incremento de parámetros de crecimiento sobre plántulas de cebolla inoculadas, aunque de forma individual, con cepas bacterianas de la especie *Bacillus megaterium* y los géneros *Leifsonia* sp. y *Pantoea* sp., las cuales incrementaron los pesos fresco y seco total, y las longitudes aérea y de raíz a las 7 semanas de inoculadas y con dosis 50 % de fertilizante, pero en este mismo estudio los consorcios probados no ejercieron ningún efecto sobre las variables de crecimiento (Samayoa *et al.*, 2020), a diferencia de lo observado en la presente investigación con el consorcio ME01+Leu2A.

quality (Enciso *et al.*, 2019). New reports have shown positive effects on the increase of growth parameters on onion seedlings inoculated, although individually, with bacterial strains of the species *Bacillus megaterium* and the genera *Leifsonia* sp. and *Pantoea* sp., which increased the total fresh and dry weights, and the aerial and root lengths at 7 weeks after inoculation and with a 50 % fertilizer dose, but in this same study the tested consortia did not exert any effect on the growth variables (Samayoa *et al.*, 2020), unlike what was observed in the present investigation with the ME01 + Leu2A consortium.

The evaluation of these strains in the form of a consortium made it possible to determine among which there was a synergistic effect, as proposed by Blanco *et al.* (2018), specifically for the onion hybrid used.

Additionally, and in physiological terms, it was possible to observe the photosynthetic activity of the seedlings of the ME01 + Leu2A consortium as a measure of the good metabolic state in the seedling phase for the onion at 60 days after sowing (figure 1). Table 4 shows the ecophysiological variables calculated for the control treatments (without inoculation) and the ME01 + Leu2A consortium, from the equation determined with the curves. However, as it was not possible to establish statistical comparisons between both treatments from the curves, the five maximum values of CO₂ assimilation in both treatments were compared and significant differences were observed between them ($p < 0.05$), being greater for the consortium (13.2

Cuadro 3. Efecto de los consorcios sobre las variables evaluadas a nivel de semillero en cebolla (*Allium cepa*).

Table 3. Effect of consortia on the evaluated variables at the seedbed level in onion (*Allium cepa*).

Tratamientos biológicos	Número de hojas	Diámetro de la base del pseudotallo (mm)	Longitud total (cm)	Longitud aérea (cm)	Longitud raíz (cm)	Peso fresco raíz (g)	Peso fresco aéreo (g)	Peso seco raíz (g)	Peso seco aéreo (g)
Control (sin inocular)	3,47 ^d	0,80 ^l	27,6g	25,6 ^g	2,00 ^f	0,04 ^b	0,67 ^a	0,003 ^{def}	0,05 ^f
Alf+ES1	3,60 ^{cd}	1,15 ^d	29,1g	26,4 ^{de}	2,70 ^{ef}	0,03 ^b	0,69 ^{de}	0,003 ^{ef}	0,05 ^{ef}
ME01+ES1	3,93 ^{abc}	2,27 ^{bc}	31,57 ^{cd}	29,5 ^{bc}	2,07 ⁱ	0,03 ^b	0,96 ^{bc}	0,002 ^f	0,06 ^{def}
ES1+Leu2A	3,93 ^{abc}	2,59 ^{ab}	31,97 ^{def}	29,03 ^{cd}	2,93 ^{def}	0,04 ^b	1,00 ^{bc}	0,003 ^{def}	0,07 ^{bcde}
Alf+Leu2A	3,93 ^{abc}	1,92 ^c	33,1 ^{cab}	30,03 ^{abc}	3,07 ^{ef}	0,07 ^a	1,04 ^{bc}	0,004 ^{bcd}	0,07 ^{bcd}
YE1+ES1	4,06 ^{ab}	2,26 ^{bc}	33,97 ^{bcde}	30,17 ^{abc}	3,80 ^{abc}	0,07 ^a	1,04 ^{bc}	0,005 ^{abc}	0,07 ^{bcde}
ME01+Alf	3,73 ^{bcd}	2,03 ^c	34,17 ^{bcde}	30,43 ^{abc}	3,73 ^{bcd}	0,06 ^a	0,90 ^{de}	0,004 ^{cde}	0,06 ^{def}
YE1+Alf	3,47 ^d	2,09 ^c	34,7 ^{bcd}	30,84 ^{abc}	3,86 ^{bcd}	0,07 ^a	0,91 ^{cd}	0,005 ^{bcde}	0,06 ^{def}
ME01+YE1	4,13 ^b	2,27 ^{bc}	36,1 ^{abc}	31,3 ^{abc}	4,80 ^{ab}	0,06 ^a	1,16 ^{ab}	0,017 ^{ab}	0,15 ^{ab}
YE1+Leu2A	4,13 ^b	2,35 ^{bc}	36,13 ^{ab}	32,53 ^a	3,60 ^{cd}	0,06 ^a	1,36 ^a	0,004 ^{bcde}	0,09 ^a
ME01+Leu2A	4,00 ^{ab}	3,20 ^a	38,4 ^a	32,17 ^{ab}	6,23 ^a	0,07 ^a	1,18 ^{ab}	0,017 ^a	0,08 ^{abc}

a, b, c, d, e, f Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05) para un nivel de confianza del 95 %.

a, b, c, d, e, f Different letters indicate significant differences (p <0.05) for a confidence level of 95%.

La evaluación de estas cepas en forma de consorcio permitió determinar entre cuáles hubo un efecto sinérgico, como fue

± 0.2 μmol CO₂.m⁻².s⁻¹) and lower for the control (11.5 ± 0.1 μmol CO₂.m⁻².s⁻¹). In turn, the CO₂ assimilation rates (Table 3) are higher than those

propuesto por Blanco *et al.* (2018), específicamente para el híbrido de cebolla utilizado.

Adicionalmente, y en términos fisiológicos, se pudo observar la actividad fotosintética de las plántulas del consorcio ME01+Leu2A como una medida del buen estado metabólico en fase de semillero para la cebolla a los 60 días después de la siembra (figura 1). En el cuadro 4 se pueden observar las variables ecofisiológicas calculadas para los tratamientos control (sin inocular) y consorcio ME01+Leu2A, a partir de la ecuación determinada con las curvas. Sin embargo, como no fue posible establecer comparaciones estadísticas entre ambos tratamientos a partir de las curvas, se compararon los cinco valores máximos de asimilación de CO₂ en ambos tratamientos y se observaron diferencias significativas entre ellos ($p < 0,05$), siendo mayores para el consorcio ($13,2 \pm 0,2 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) y menores para el control ($11,5 \pm 0,1 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). A su vez, las tasas de asimilación de CO₂ (cuadro 3) son superiores a las descritas para plántulas de cebolla sin inocular en otros estudios (Jasoni *et al.* 2004; Bhatt *et al.* 2004; Bachie *et al.* 2019) y similares a las reportadas por Wheeler *et al.* (2004), estas últimas de un estado fenológico más avanzado de las plantas y de igual forma no inoculadas. Esto sugiere que el consorcio microbiano ME01+Leu2A podría producir incremento de la biomasa en

described for onion seedlings without inoculation in other studies (Jasoni *et al.* 2004; Bhatt *et al.* 2004; Bachie *et al.* 2019) and similar to those reported by Wheeler *et al.* (2004), the latter of a more advanced phenological state of the plants and in the same way not inoculated. This suggests that the microbial consortium ME01 + Leu2A could produce an increase in biomass in onion plants compared to non-inoculated plants, since a higher rate of assimilation of CO₂, together with similar respiratory rates between treatments, would lead to an increase in the carbon availability for growth and therefore a possible higher yield of the onion in the field. In this regard, Castro and Blanco (2018) determined that some of these same microbial consortiums inoculated in paprika plants favored chlorophyll production and that this was related to the foliar nitrogen content, thus demonstrating the benefits of PGPM on photosynthetic capacity.

It should be mentioned that the bacterial strains respond not only to the characteristics and type of soil (Reyes and Valery, 2007) or to the plant species (Blanco *et al.*, 2018), but also to the variety of the same plant species (Blanco and Reyes, 2018). In relation to this approach, it was observed that the use of some of the consortia used in the present investigation, in paprika plants, also yielded positive results, the most promising consortium being ME01 + YE1 (Castro and Blanco, 2018). Therefore, it was verified that there is a strain-strain and strain-culture specificity and compatibility, in response to the plant-microorganism-

plantas de cebolla en comparación a plantas no inoculadas, puesto que una mayor tasa de asimilación de CO₂, junto a tasas respiratorias similares entre tratamientos, conllevaría a un aumento en la disponibilidad de carbono para el crecimiento y por ende a un posible mayor rendimiento de la cebolla en campo. Al respecto, Castro y Blanco (2018) determinaron que algunos de estos mismos consorcios microbianos inoculados en plantas de pimentón favorecieron la producción de clorofila y que esto estuvo relacionado con el contenido de nitrógeno foliar, demostrando así los beneficios de los MPCV sobre la capacidad fotosintética.

soil interaction, according to the biochemical, physiological and ecological relationship between these factors, due to the variety of radical exudates that can be expressed, as mentioned by Blanco *et al.* (2018). However, the positive effect on plant growth is common with the presence of strain ME01, which individually also promoted the growth of paprika and lettuce seedlings (Blanco *et al.*, 2018).

Similarly, the plant growth promoting effect produced by the ME01 + Leu2A consortium could be due to the inorganic phosphate solubilization mechanisms and indole acetic acid production shown by these same strains (Marquina *et al.*, 2018), to the nitrate reductase activity of both strains, and

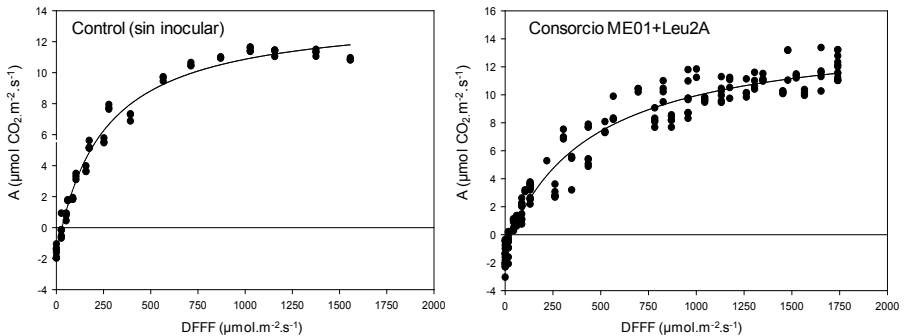


Figura 1. Curvas de saturación de luz realizada a las plántulas a los 60 dds en condiciones de umbráculo. Densidad de flujo fotónico fotosintético (DFFF) Vs. Tasa de asimilación de CO₂ (A). Control (sin inocular): [A= 13,88*(-29,64+DFFF) / (-29,64+ 269,07+DFFF); R²=0,986]. Consorcio ME01+Leu2A: [A= 14,65*(-32,01+DFFF) / (-32,01+ 459,50+DFFF); R²=0,956].

Figure 1. Light saturation curves performed on the seedlings at 60 dds under shade conditions. Photosynthetic photon flux density (DFFF) vs. CO₂ assimilation rate (A). Control (uninoculated): [A = 13.88 * (- 29.64 + DFFF) / (-29.64+ 269.07 + DFFF); R² = 0.986]. Consortium ME01 + Leu2A: [A = 14.65 * (-32.01 + DFFF) / (-32.01+ 459.50 + DFFF); R² = 0.956].

Cuadro 4. Variables fotosintéticas determinadas a partir de las ecuaciones de las curvas de saturación de luz en plántulas con 60 dds en condiciones de umbráculo.

Table 4. Photosynthetic variables determined from the equations of the light saturation curves in seedlings with 60 dds under shade conditions.

Variable	Unidades	Control (sin inocular)	Consorcio ME01+Leu2A
Punto de compensación de luz	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	29,6	32,0
Punto de saturación de luz	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	800	1200
A_{max}	$\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	11,4(11,5)	11,9 (13,2)
Eficiencia cuántica	-	0,037	0,034
Respiración en oscuridad	$\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	1,25	1,20

A_{max} = tasa de asimilación de CO_2 máxima a una radiación de $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; tasa máxima absoluta entre paréntesis, $n=5$.

A_{max} = maximum CO_2 assimilation rate at a radiation of $2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; absolute maximum rate in parentheses, $n = 5$.

Cabe mencionar que las cepas bacterianas responden no solo a las características y tipo de suelo (Reyes y Valery, 2007) o a la especie vegetal (Blanco *et al.*, 2018), sino también a la variedad de una misma especie vegetal (Blanco y Reyes, 2018). Con relación a este planteamiento, se pudo observar que el uso de algunos de los consorcios utilizados en la presente investigación, en plantas de pimentón, también arrojaron resultados positivos, siendo el consorcio más promisorio el ME01+YE1 (Castro y Blanco, 2018). Por lo tanto, se comprobó que existe una especificidad y compatibilidad cepa-cepa y cepas-cultivo, en respuesta a la interacción planta-microorganismo-suelo, de acuerdo a la relación bioquímica, fisiológica y

the urease activity of strain ME01 (Y. Castro and E.L. Blanco, personal observations). Other studies have shown the phytostimulant effect of rhizobia to promote the growth of non-legume plants, through the production of phytohormones, siderophores, inorganic phosphate solubilization, or as biocontrol agents against phytopathogens, thus highlighting that rhizobia have a high bio-fertilizing potential for horticultural crops of commercial interest (García-Fraile *et al.*, 2012; Santillana *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2019; Borges *et al.*, 2019).

Likewise, the importance of previously evaluating the strains with the culture to be treated, and taking into account the previous

ecológica entre estos factores, debido a la variedad de exudados radicales que puedan expresarse, como lo mencionaron Blanco *et al.* (2018). Sin embargo, el efecto positivo sobre el crecimiento vegetal es común con la presencia de la cepa ME01, la cual de forma individual también promovió el crecimiento de plántulas de pimentón y lechuga (Blanco *et al.*, 2018).

Igualmente, el efecto promotor del crecimiento vegetal producido por el consorcio ME01+Leu2A pudo deberse a los mecanismos de disolución de fosfatos y producción de ácido indol acético mostrados por estas mismas cepas (Marquina *et al.*, 2018), a la actividad nitrato reductasa de ambas cepas, y a la actividad ureasa de la cepa ME01 (Y. Castro y E.L. Blanco, observaciones personales). Otros estudios han mostrado el efecto fitoestimulante que presentan los rizobios para promover el crecimiento de plantas no leguminosas, mediante la producción de fitohormonas, sideróforos, disolución de fosfatos, o como agentes de biocontrol contra fitopatógenos, destacando así que los rizobios tienen una alto potencial biofertilizante para cultivos hortícolas de interés comercial (García-Fraile *et al.*, 2012; Santillana *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2019; Borges *et al.*, 2019).

Asimismo, se destaca la importancia de evaluar previamente las cepas con el cultivo a tratar, y tener en cuenta la caracterización previa que debe realizarse a cada microorganismo para determinar su tolerancia a temperaturas, pH y salinidad, además de verificar el establecimiento de

characterization that must be carried out on each microorganism to determine its tolerance to temperatures, pH and salinity, in addition to verifying the establishment of synergy with the plant species. In this case, it is no coincidence that the consortium that best interacted with onion seedlings is composed of two microorganisms from soils in semi-arid areas such as San Juan de Lagunillas and El Vigía, with physical-chemical conditions similar to those of the soil from which the one used in this trial came from (table 1), and with a wide range of tolerance to temperatures, pH and soil salinity (Marquina *et al.*, 2011), which would allow it to adapt to other climatic conditions for the production of the inoculum from the ME01 + Leu2A consortium and its use in other regions of the country.

In this way and in accordance with Jayashree and Jagadeesh (2017) and Blanco *et al.* (2018), the use of microbial consortia that promote plant growth is proposed as an innovative approach for the production of vigorous and healthy seedlings with greater chances of success after transplantation in crop production, and that allows the reduction of chemical fertilizers in plant crops.

Conclusions

The microbial consortium ME01 + Leu2A (*Rhizobium tropici* + *Bradyrhizobium japonicum*) increases or stimulates the greater growth of onion seedlings reflected in the

sinergia con la especie vegetal. En este caso, no es casualidad que el consorcio que mejor interactuó con las plántulas de cebolla, esté compuesto por dos microorganismos provenientes de suelos de zonas semiáridas como San Juan de Lagunillas y El Vigía, con condiciones físico químicas similares a las del suelo de donde provenía el que se usó en este ensayo (cuadro 1), y con un amplio rango de tolerancia a temperaturas, pH y salinidad del suelo (Marquina *et al.*, 2011), que le permitiría adaptarse a otras condiciones climáticas con fines de producción del inóculo del consorcio ME01+Leu2A y su uso en otras regiones del país.

De esta forma y en concordancia con Jayashree y Jagadeesh (2017) y Blanco *et al.* (2018), se propone el uso de consorcios microbianos promotores del crecimiento vegetal como un enfoque innovador para la producción de plántulas vigorosas y saludables con mayores posibilidades de éxito luego de un trasplante en la producción de hortalizas, y que permitan reducir el uso de fertilizantes químicos en los vegetales.

Conclusiones

El consorcio microbiano ME01+Leu2A (*Rhizobium tropici* + *Bradyrhizobium japonicum*) aumenta o estimula el mayor crecimiento de las plántulas de cebolla reflejado en las variables determinadas, especialmente en el diámetro de la base del pseudotallo. Por lo tanto, se propone como un prototipo de biofertilizante

determinadas variables, especialmente en el diámetro de la base del pseudotallo. Therefore, it is proposed as a prototype of a promising biofertilizer for the development of seedlings of this plant species, and particularly when transplanted to soils under conditions of semi-arid climates and with physical-chemical characteristics similar to those shown in this research which are more favorable for the cultivation of this crop.

Recommendations

It is recommended to evaluate this microbial consortium in onion production at the field level, and study the positive effect that its application may have on growth and physiological variables, as well as on onion varieties and on soils with physical-chemical characteristics other than those evaluated in the present investigation, in such a way as to produce an inoculum with a wide range of application.

Acknowledgement

The authors thank the technical staff of the Laboratorio de Fitobioteología-ULA for their collaboration in the processing of plant samples, and the staff in charge of the IIAP-ULA experimental station in San Juan de Lagunillas, Mérida, for allowing us to take the soil samples for this essay. F. Rada thanks the IIE (Institute for International Education) and the Universidad de Los Andes (UniAndes) in Colombia for all the logistical and financial support provided.

promisorio para el desarrollo de plántulas de esta especie vegetal, y que particularmente se vayan a trasplantar a suelos bajo condiciones de climas semiáridos y con características físico químicas similares a las mostradas en esta investigación donde es más propicio el cultivo de este rubro.

Recomendaciones

Se recomienda evaluar este consorcio microbiano en la producción de cebolla a nivel de campo, y estudiar el efecto positivo que sobre variables de crecimiento y fisiológicas pueda tener la aplicación del mismo, así como en variedades de cebolla y en suelos con características físico químicas distintas a las evaluadas en la presente investigación, de tal manera de producir un inóculo con amplio rango de aplicación.

Agradecimiento

Los autores agradecen al personal técnico del Laboratorio de Fitobiotecnología-ULA por su colaboración en el procesamiento de muestras vegetales, y al personal encargado de la estación experimental del IIAP-ULA en San Juan de Lagunillas, Mérida, por permitir la toma de muestras del suelo para este ensayo. F. Rada agradece al IIE (Institute for International Education) y a la Universidad de Los Andes (UniAndes) en Colombia por todo el apoyo logístico y financiero otorgado.

End of English Version

Literatura citada

- Alcedo, Y. e I. Reyes. 2018. Microorganismos promotores de crecimiento en el biocontrol de *Alternaria alternata* en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Bioagro*. 30(1): 59-66.
- Antoun, H. and D. Prévost. 2005. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. p. 1-38. *In: PGPR: Biocontrol and Biofertilization* (ed. Z.A. Siddiqui). Springer, The Netherlands.
- Bachie, O.G., L.S. Santiago and M.E. McGiffen. 2019. Physiological responses of onion varieties to varying photoperiod and temperature regimes. *Agriculture*. 9: 214.
- Bhatt, R.M., N.K.S. Rao and R.V. Gowda. 2004. Genotypic variability of physiological responses to water stress in onion (*Allium cepa* L.). *Trop. Agric. (Trinidad)*. 81(4): 248-252.
- Blanco, E.L., M.E. Marquina and Y. Castro. 2013. Respuestas a la aplicación de carbamatos en dos aislados rizobianos provenientes de Mucuchíes, estado Mérida, Venezuela. *Bioagro*. 25(2): 117-128.
- Blanco, E.L., Y. Castro, A. Olivo, R. Skwierinski y F. Moronta Barrios. 2018. Germinación y crecimiento de plántulas de pimentón y lechuga inoculadas con rizobios e identificación molecular de las cepas. *Bioagro*. 30(3): 207-218.
- Blanco, E.L. e I. Reyes. 2018. Aplicación de un biostrato compuesto por microorganismos y roca fosfórica sobre el cultivo de dos variedades de lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 35: 408-434.
- Borges, C.S., E.L. Saccol de Sá, A.W. Muniz and B.D. Osorio Filho. 2019. Potencial use of *Rhizobium* for vegetable crops growth promotion. *Afr. J. Agric. Res.* 14(8): 477-483.
- Brom, S., M. Pistorio, D. Romero and G. Torres-Tejerizo. 2014. Boundaries for conjugative transfer of rhizobial

- plasmids: restraining and releasing factors. p. 43-54. *In*: Katsy, E.I. (Ed). Plasticity in Plant-Growth-Promoting and Phytopathogenic Bacteria. Springer, Rusia.
- Castro, Y. y E.L. Blanco. 2018. Estimación del contenido de clorofila y nitrógeno en plantas de pimentón inoculadas con bacterias rizosféricas. *Revista Científica UNET*. 30(1): 105-112.
- Enciso, C., P. Vera, A. Santacruz y J. González. 2019. Guía técnica del cultivo de cebolla. Proyecto Paquetes Tecnológicos. Universidad Nacional de Asunción. Paraguay. 73 p.
- Estrada-Prado, W., E. Lescay-Batista, A. Álvarez-Fonseca y Y.C. Maceo-Ramos. 2015. Niveles de humedad en el suelo en la producción de bulbos de cebolla. *Agron. Mesoam*. 26(1): 111-117.
- Fatnassi, I.C., M. Chiboub, O. Saadani, M. Jebara and S.H. Jebara. 2015. Impact of dual inoculation with *Rhizobium* and PGPR on growth and antioxidant status of *Vicia faba* L. under copper stress. *C. R. Biologies*. 338: 241–254.
- Gangaraddi, V. and G.P. Brahmprakash. 2018. Comparative evaluation of selected formulations of a microbial consortium. *Mysore J. Agric. Sci*. 52(2): 255-262.
- García-Fraile, P., L. Carro, M. Robledo, M.H. Ramírez-Bahena, J.D. Flores-Félix, M.T. Fernández, P.F. Mateos, R. Rivas, J.M. Igual, E. Martínez-Molina, A. Peix and E. Velázquez. 2012. *Rhizobium* promotes non-legumes growth and quality in several production steps: Towards and biofertilization of edible raw vegetables healthy for humans. *PLoS One*. 7(5): e38122.
- InfoStat Statistical Software. 2002. InfoStat/ Profesional Versión 2.0. Estadística y Diseño-F.C.A., Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Jasoni, R., Ch. Kane, C. Green, E. Peffley, D. Tissue, L. Thompson, P. Payton and P.W. Paré. 2004. Altered leaf and root emissions from onion (*Allium cepa* L.) grown under elevated CO₂ conditions. *Environ. Exp. Bot*. 51: 273–280.
- Jayashree, C. and K.S. Jagadeesh. 2017. Testing the effect of the microbial consortium on growth of vegetable seedlings in a Farmer's Nursery. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*. 6(2): 1636-1639.
- Kumar, A., V.S. Meena, P. Roy, Vandana and R. Kumarli. 2019. Role of Rhizobia for sustainable agriculture: Lab to Land. p. 129-149. *In*: A. Kumar, V. S. Meena (Eds.), *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Agricultural Sustainability*, Springer Nature, Singapore.
- Marquina, M.E., N.E. González y Y. Castro. 2011. Caracterización fenotípica y genotípica de doce rizobios aislados de diversas regiones geográficas de Venezuela. *Rev. Biol. Trop*. 59(3): 1017-1036.
- Marquina, M.E., Y. Ramírez, y Y. Castro. 2018. Efecto de bacterias rizosféricas en la germinación y crecimiento del pimentón *Capsicum annuum* L. var. Cacique gigante. *Bioagro*. 30(1): 3-16.
- Montgomery, D. 1991. Diseño y análisis de experimentos. Editorial Iberoamericana. 541 p.
- Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras (MPPAT). 2017. Disponible en: <http://censo.agriculturaproductiva.gob.ve/>. Fecha de consulta: enero 2017.
- Ochoa Carreño, D.C. y A. Montoya Restrepo. 2010. Consorcios microbianos: una metáfora biológica aplicada a la asociatividad empresarial en cadenas productivas agropecuarias. *Rev. Fac. Cienc. Econ*. 17(2): N56-M29.
- Olmedo, C. 2003. Aspectos biotecnológicos de las interacciones microorganismos planta. p. 97-103. *En*: Albanesi, A., A. Anriquez, S. Luna, C. Kunst y R. Ledesma (Eds.), *Microbiología Agrícola. Un aporte de la investigación argentina*. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Argentina.
- Reyes, I. y A. Valery. 2007. Efecto de la fertilidad del suelo sobre la microbiota y la promoción del crecimiento del maíz (*Zea mays* L.) con *Azotobacter* spp. *Bioagro*. 19(3): 117-126.

- Samayoa, B.E., F.T. Shen, W.A. Lai and W.Ch. Chen. 2020. Screening and assessment of potential plant growth-promoting bacteria associated with *Allium cepa* Linn. *Microbes Environ.* 35(2). 10 p.
- Santillana, N., D. Zúñiga y C. Arellano. 2012. Capacidad promotora del crecimiento en cebada (*Hordeum vulgare*) y potencial antagonico de *Rhizobium leguminosarum* y *Rhizobium etli*. *Agrociencia Uruguay.* 16(2): 11-17.
- Statistical Graphics Corporation. 2002. *Statgraphics Plus* Versión 5.1.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2010. *Plant Physiology*. Sinauer. Sunderland, MA, USA. 623 p.
- Vincent, J. M. 1975. *Manual práctico de rizobiología*. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires. 74 p.
- Wang, J., R. Li, H. Zhang, G. Wei and Z. Li. 2020. Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application. *BMC Microbiol.* 20: 38.
- Wheeler, T.R., A.J. Daymon, J.I.L. Morison, R.H. Ellis and P. Hadley. 2004. Acclimation of photosynthesis to elevated CO₂ in onion (*Allium cepa*) grown at a range of temperatures. *Ann. appl. Biol.* 144: 103-111.
- Yashaswini, Ch. and S. Vijay Kumar. 2016. *Quorum sensing*. *Agrobios Newsletter.* 14(12): 120-121.