

Editada por el Centro de Información y Gestión Tecnológica (CIGET) Pinar del Río  
Vol. 19, No. 1 enero-marzo, 2017

ARTÍCULO ORIGINAL

**Efecto de la inoculación de *Rhizobium* sobre el crecimiento de *Phaseolus vulgaris* (frijol) en condiciones semicontroladas**

***Effect of Rhizobium inoculation on growth of Phaseolus vulgaris (bean) under controlled conditions***

**Yonel Lázaro Cabrera Romero<sup>1</sup>, Yoerlandy Santana Baños<sup>2</sup>, Edenys Miranda Izquierdo<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Ingeniero Agrónomo del Grupo Empresarial Agropecuario del MININT, km 4 carretera Viñales, Pinar del Río, Cuba. Teléfono: 759423

<sup>2</sup>Máster en Agroecología y Agricultura Sostenible, profesor Asistente de la Universidad de Pinar del Río, Hermanos Saíz Montes de Oca. Calle Martí 270 final, Pinar del Río, Cuba. Teléfono: 755452 Correo electrónico: [yoerlandy@upr.edu.cu](mailto:yoerlandy@upr.edu.cu)

<sup>3</sup>Máster en Agroecología y Agricultura Sostenible, profesor Asistente de la Universidad de Pinar del Río, Hermanos Saíz Montes de Oca. Calle Martí 270 final, Pinar del Río, Cuba. Teléfono: 779662 Correo electrónico: [emiranda@upr.edu.cu](mailto:emiranda@upr.edu.cu)

---

**RESUMEN**

Con el objetivo de evaluar el efecto de *Rhizobium* y su interacción con fertilizante químico sobre el cultivo del frijol en condiciones semicontroladas, se montó un experimento sobre un diseño completamente al azar de cuatro tratamientos y cinco replicas. Los tratamientos fueron *Rhizobium*, fertilizante químico, *Rhizobium* +

fertilizante químico y un control sin tratar. Se evaluó la longitud y diámetro del tallo, longitud de la raíz, número de hojas, número de nódulos, fitomasa y tasa absoluta de crecimiento. Las evaluaciones se realizaron 30 y 60 días después de la germinación. Como resultados se obtuvo que la aplicación de *Rhizobium* y fertilizante químico en *P. vulgaris* CUL-156, no arroja diferencias significativas para la longitud y diámetro del tallo, número de hojas y fitomasa, a los 30 días después de la germinación, mientras que el número de nódulos se incrementa en el tratamiento con *Rhizobium* respecto a su combinación con fertilización química, apreciándose que el tratamiento con fertilizante químico afecta la nodulación de *Rhizobium*. A los 60 días después de la germinación, se encontró diferencias significativas entre los tratamientos para la masa fresca y seca total, no así para la masa seca foliar y radical y la tasa absoluta de crecimiento, aunque esta mostró valores superiores en las plantas tratadas con fertilizante químico y su combinación con *Rhizobium*.

**Palabras clave:** rhizobium, fertilizante químico, frijol.

---

## ABSTRACT

In order to evaluate the effect of *Rhizobium* and their interaction with chemical fertilizer on bean cultivation under controlled conditions, an experiment in a completely randomized design with four treatments and five replications was mounted. Treatments were *Rhizobium*, chemical fertilizer, *Rhizobium* + chemical fertilizer and an untreated control. Length and stem diameter, root length, number of leaves, number of nodules, biomass, absolute growth rate was evaluated. Evaluations were performed 30 and 60 days after germination. As a result, it was found that the application of chemical fertilizer *Rhizobium* and *P. vulgaris* CUL-156, no significant differences sheds length and stem diameter, leaf number and biomass, at 30 days after germination, while number of nodes increases on treatment with *Rhizobium* regarding their combination with chemical fertilizer, appreciating that treatment with chemical fertilizer affects *Rhizobium* nodulation. At 60 days after germination, significant differences between treatments for fresh and total dry mass was found, but not for the foliar and root dry mass and absolute growth rate, although it showed higher values in treated plants chemical fertilizer and its combination with *Rhizobium*.

**Key words:** rhizobium, chemical fertilizer, bean.

---

## INTRODUCCIÓN

El frijol es originario de América y constituye el cultivo más importante en el mundo Paredes *et al.* (2006) y según Alfonso *et al.* (2000) se encuentra distribuido ampliamente en los cinco continentes, siendo ubicado como promedio entre los cinco cultivos con mayor superficie dedicada a la agricultura en todos los países latinoamericanos (Peña-Cabrales, 2002).

Este cultivo se encuentra priorizado y ampliamente distribuido por toda Cuba, considerado por Pérez *et al.* (2006) un producto de alta demanda en nuestra sociedad por su hábito de consumo y necesidades nutritivas, además es la principal fuente proteica de origen vegetal al alcance de la mayoría de la población cubana (Quintero *et al.*, 2005).

Las plantas pertenecientes a la familia leguminosa (*Fabaceae*) son unas de las máximas responsables del equilibrio del nitrógeno (N) en los ecosistemas (Broughton *et al.*, 2003). Estas son capaces de realizar el proceso de fijación biológica del nitrógeno (FBN) mediante la estrecha relación con bacterias del suelo comúnmente conocidas como rizobios, Weir (2006), estableciéndose la interacción simbiótica *Rhizobium*-leguminosa (Weidner *et al.*, 2003).

Los nódulos radicales de las leguminosas son estructuras complejas, cuyo desarrollo y funcionamiento son regulados principalmente por la planta, la cual controla su número mediante un mecanismo endógeno de retroinhibición llamado de autorregulación. Pero, a su vez, este proceso también está controlado por factores externos entre los que el nivel de nitrógeno y las cepas de *Rhizobium* presentes en el suelo son de especial importancia (Patriarca *et al.*, 2002).

Los rizobios como grupo de bacterias rizosféricas presentan la posibilidad de nodular leguminosas, que se encuentran en su hábitat natural en varios estados fisiológicos posibles (Poole, 2008). Varios son los estudios en los cuales estas rizobacterias han mostrado el incremento de los parámetros de crecimiento y rendimiento de las plantas (Granda *et al.*, 2009).

Yadegari y Rahamani (2010) obtuvieron mayores porcentajes de germinación en el cultivo del frijol al inocular semillas con cepas de *Rhizobium* o combinación de *Rhizobium* y *Pseudomonas fluorescens* P-93. Estos resultados se explican porque las rizobacterias secretan sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal que intervienen en la activación de los procesos metabólicos en las semillas (Nezarat y Gholami, 2009). También Díaz y Márquez (2011) incrementaron los rendimientos en el frijol en un 38% con la inoculación de *Rhizobium* a la semilla, además redujeron al 50% la utilización de nitrógeno industrial, lo que significó un ahorro de 132,35 kg.ha<sup>-1</sup>. Peláez (2012) indica que el *Rhizobium* sp. aumenta el aporte de nitrógeno, influyendo directamente en el crecimiento, desarrollo y rendimiento.

A pesar de que *Rhizobium* es un habitante común en los suelos agrícolas, frecuentemente su población es insuficiente para alcanzar una relación benéfica con la leguminosa, o bien cuando los rizobios nativos no fijan cantidades suficientes de N<sub>2</sub> atmosférico para las leguminosas es necesario inocular la semilla a la siembra y asegurar la FBN. Por tanto el uso de inoculantes a base de *Rhizobium* que reducen la aplicación de fertilizantes químicos al suelo; incrementan el contenido de N en el cultivo vegetal, su peso seco y mantienen el rendimiento en las leguminosas, lo que en consecuencia al bajar su costo de producción y la contaminación de mantos acuíferos y suelos, es vital para una agricultura sustentable. De modo que la utilización de *Rhizobium* constituye una alternativa económica y ecológicamente sustentable para la agricultura en el mejoramiento de los cultivos, los suelos y los ecosistemas en general (Sueiro *et al.*, 2011).

En la actualidad, el principal reto de la agricultura moderna es la producción de alimentos de alta calidad, ecológicamente seguros y económicamente asequibles Marín (2013), sin embargo, en el cultivo del frijol, como en otros de importancia en nuestro país, el uso de productos químicos sintéticos y los impactos negativos de estos en los agroecosistemas, ha incrementado el interés por el empleo de bioproductos con efecto fitoestimulante, aunque el surgimiento de nuevos cultivares y las variaciones climáticas que enfrentan los agroecosistemas en la actualidad, entre otros factores, demandan investigaciones aplicadas en este cultivo que brinden elementos técnico-prácticos para favorecer el crecimiento y desarrollo del mismo en diferentes agroecosistemas, contribuyendo con ello a su disponibilidad en el mercado.

En este contexto, se planteó como objetivo en el presente trabajo evaluar el efecto de *Rhizobium* y su interacción con fertilizante químico sobre el cultivo del frijol en condiciones semicontroladas.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Con el objetivo de evaluar el efecto de *Rhizobium* y su interacción con fertilizante químico en el cultivo de *P. vulgaris* CUL-156, se realizó un experimento en condiciones semicontroladas, empleando un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y cinco réplicas. Los tratamientos fueron *Rhizobium* (R), fertilizante químico (Q), combinación de fertilizante químico y *Rhizobium* (RQ), y un control sin tratar (C). La inoculación de *Rhizobium* se realizó mediante peletización de la semilla 24 h antes de la siembra, a razón de 25 g.kg<sup>-1</sup>, garantizando adecuada homogeneidad de la mezcla. El fertilizante químico se aplicó de fondo utilizando la fórmula N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O-MgO (12-6-16-3), a razón de 5.0 g.planta<sup>-1</sup> solo y 2.5 g.planta<sup>-1</sup> en la combinación con *Rhizobium*.

Se utilizaron bolsas plásticas con capacidad para 4.0 kg de sustrato, el cual estuvo compuesto por suelo Ferralítico Amarillento Lixiviado Típico Cuarcítico, Hernández *et al.* (1999) y materia orgánica a proporción 3:1. El sustrato fue desinfectado con formol al 4.0 % durante 72 horas. Después del proceso de desinfección se procedió al llenado de las bolsas. Tres días después se realizó la siembra, garantizando cuatro semillas por bolsas y posterior a la germinación se dejaron dos plantas en cada bolsa.

Se realizaron evaluaciones de variables para la comparación de los resultados a los 30 y 60 días después de la germinación, teniendo en cuenta las variables siguientes: longitud (cm) y diámetro (mm) del tallo, longitud de la raíz (cm), número de hojas, nódulos activos, masa fresca (g), masa seca (g) y tasa absoluta de crecimiento ( $\text{g}\cdot\text{día}^{-1}$ ), para la cual se consideró los valores de masa seca 30 y 60 días después de la germinación.

Para la comparación estadística de los resultados se empleó análisis de varianza (ANOVA) simple y prueba de Duncan para la comparación de medias, considerando una significación  $p > 0.05$ . Se utilizó programa SPSS versión 21 para Windows.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la *tabla 1* se muestran las variables evaluadas 30 días después de la germinación de *P. vulgaris*, apreciándose diferencias significativas solo para la longitud de la raíz.

**Tabla 1.** Variables morfofisiológicas evaluadas en *P. vulgaris* 30 días después de la germinación.

Tratamientos	LT (cm)	DT (mm)	LR (cm)	No.H (U)	MFT (g)	MST (g)	MSF (g)	MSR (g)
R	20.30a	4.20a	40.80ab	5.20a	29.60a	4.26a	3.27a	0.99a
Q	18.62a	4.24a	46.20a	6.60a	31.64a	4.03a	3.25a	0.78a
RQ	19.94a	4.08a	33.60b	5.00a	28.00a	3.97a	3.12a	0.85a
C	17.96a	4.32a	34.80b	5.80a	30.04a	4.01a	3.14a	0.86a
E.E.	0.345	0.055	0.954	0.160	0.817	0.094	0.084	0.027

**Leyenda:** Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

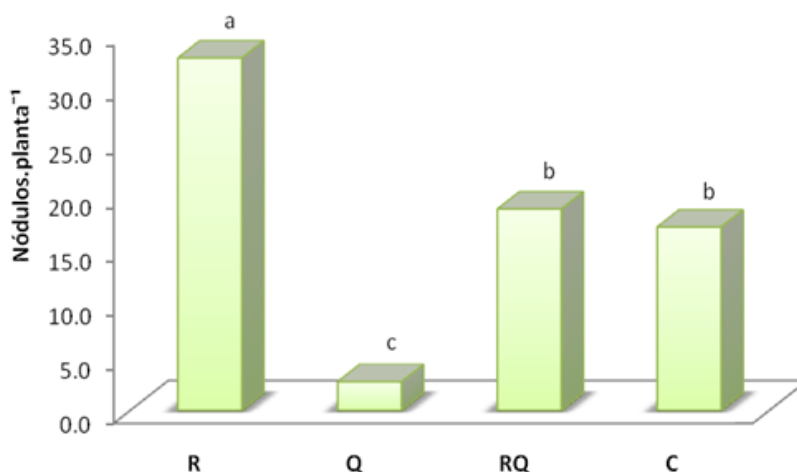
LT: longitud del tallo; DT: diámetro del tallo; LR: longitud de la raíz; No.H: número de hojas; MFT: masa fresca total; MST: masa seca total; MSF: masa seca foliar; MSR: masa seca radical; E.E.: error estándar

Este resultado puede estar asociado a que se encontró nodulación en los tratamientos donde no se inoculó *Rhizobium*, lo que evidencia la presencia de cepas nativas que actúan en la simbiosis, con cierto nivel de eficiencia en el crecimiento de las plantas, demostrando ello que la aplicación de *Rhizobium* puede sustituir en la fase inicial la aplicación de fertilizante químico, pudiendo utilizar este en las fases críticas de

desarrollo de las plantas, cuando exista una mayor demanda de nutrientes para garantizar los procesos fisiológicos.

Los resultados obtenidos corroboran los criterios planteados por Yadav *et al.* (2013), ya que en plantas de frijol inoculadas con *Rhizobium* y las no inoculadas, no encontraron diferencias significativas para la longitud del tallo a los 28 días después de la germinación. Sin embargo, los mismos autores reportan diferencias significativas en la masa seca total para los tratamientos mencionados anteriormente. Asimismo, Marín (2013) informan que la longitud y diámetro del tallo no arrojaron diferencias significativas entre plantas inoculadas con *Rhizobium* y no inoculadas, a los 42 días después de la siembra. No obstante, Vázquez (2014) plantea que *Rhizobium phaseoli* y *Trichoderma* en la peletización de las semillas de frijol, protegen las plántulas contra patógenos del suelo y favorecen su crecimiento vigoroso en la siembra.

En cuanto al número de nódulos por planta en los tratamientos (*figura*), variable muy relacionada con el resultado anterior, se puede apreciar diferencias significativas donde se inoculó *Rhizobium* respecto a su combinación con fertilización química, lo que evidencia un efecto supresor del fertilizante sobre la nodulación, pues el tratamiento control arrojó valores superiores de nódulos por planta respecto a las plantas tratadas con fertilizante químico. También se puede inferir que la interacción del *Rhizobium* inoculado con las cepas nativas de *Rhizobium* en el sustrato empleado, no afectó la nodulación.



**Figura.** Nódulos por planta en los tratamientos evaluados. Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ )

En evaluaciones realizadas sobre el cultivo de habichuela (*Vigna sesquipedalis*), Puertas (2006) encontró diferencias significativas para el número de nódulos por plantas en tratamientos con *Rhizobium* respecto al control. Sin embargo, Marín (2013) no encontraron diferencias significativas entre tratamientos con *Rhizobium* y el control.

En la *tabla 2* se muestran los valores de masa fresca total y masa seca total, foliar y radical, así como la tasa absoluta de crecimiento, a los 60 días después de la germinación, para los tratamientos evaluados. Se pudo constatar medias superiores en los tratamientos con fertilizante químico y *Rhizobium* respecto al control, aunque con diferencias significativas entre ellos. La masa seca total no arrojó diferencias significativas entre los tratamientos con fertilizante químico, *Rhizobium* y su combinación, mostrando medias superiores al control.

**Tabla 2.** Fitomasa y tasa absoluta de crecimiento 60 días después de la germinación.

Tratamientos	MFT (g)	MST (g)	MSF (g)	MSR (g)	TAC (g.día <sup>-1</sup> )
R	56.57b	9.42ab	8.42a	1.01a	0.171a
Q	69.18a	10.43a	9.25a	1.18a	0.200a
RQ	51.76bc	9.70ab	8.66a	0.98a	0.184a
C	49.79c	8.20b	7.22a	1.03a	0.169a
E.E.	2.482	0.396	0.379	0.060	0.012

**Leyenda:** Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ )

MFT: masa fresca total; MST: masa seca total; MSF: masa seca foliar; MSR: masa seca radical; TAC: tasa absoluta de crecimiento; E.E.: error estándar

En cuanto a la masa seca foliar y radical y la tasa absoluta de crecimiento, no se encontró diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se debe resaltar una media superior de TAC en los tratamientos con fertilizante químico y su combinación con *Rhizobium*.

Resultados similares fueron obtenidos por Marín (2013) no encontrándose diferencias significativas para la masa seca total en plantas inoculadas con *Rhizobium* y no inoculadas a los 42 días después de la siembra en este y 30 días en el caso de estudio.

## CONCLUSIONES

- La aplicación de *Rhizobium* y fertilizante químico en *P. vulgaris* CUL-156, no arroja diferencias significativas para la longitud y diámetro del tallo, número de hojas y fitomasa, a los 30 días después de la germinación, mientras que el número de nódulos se incrementa en el tratamiento con *Rhizobium* respecto a su combinación con fertilización química, apreciándose que el tratamiento con fertilizante químico afecta la nodulación de *Rhizobium*.
- A los 60 días después de la germinación, se encontró diferencias significativas entre los tratamientos para la masa fresca y seca total, no así para la masa seca foliar y radical y la tasa absoluta de crecimiento, aunque esta mostró valores

superiores en las plantas tratadas con fertilizante químico y su combinación con *Rhizobium*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfonso, C. A.; Avilés, R.; Chailloux, M.; Faure, B.; Giralt, E.; González, M.; Guzmán, E.E.; Hernández, G.; Mateo, A.; Pérez, E.; Polanco, A.; Sampedro, J. y Reyes, S. (2000). *Guía técnica del cultivo del frijol en Cuba*. La Habana: Instituto de Investigaciones Hortícolas «Liliana Dimitrova».
- Broughton, W. J.; Hernandez; M. B. (2003). Beans (*Phaseolus* spp.), model food legumes. *Plant Soil* 252, 55-128
- Díaz, P. O. y Márquez, E. (2011). Validación de los biofertilizantes azotobacter, rhizobium y fosforina en cuatro sistemas de cultivos en condiciones de producción. *Avances*, 13(2), 1-9.
- Granda, K. I.; Colás Sánchez, A.; Cupull Santana, R.; Gutiérrez Sánchez, Y. y Torres Gutiérrez, R. (2009). Caracterización e identificación genética de aislados de *Rhizobium* en el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) Characterization and genetics identification of *Rhizobium* isolates on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Centro Agrícola*, 36(4), 5-14.
- Hernández, A.; Pérez, J. M.; Bosch, D. y Rivero, L., (1999). *Nueva Versión de Clasificación Genética de los Suelos de Cuba*. AGRINFOR. 64p.
- Marín, M. (2013). Interacción de *Tsukamurella paurometabola* C-924 con *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* CFH en el cultivo de frijol. *Acta Agronómica*, 62(1), 52-58.
- Nezarat, S. y Gholami, A. (2009). Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving seed germination, seedling growth and yield of maize. *Pak. J. Biol. Sci.*, 12(1), 26-32.
- Paredes, L.O.; Guevara, F.L.; Bello, L.A. (2006). *Los alimentos mágicos de las culturas mesoamericanas*. Fondo de Cultura Económica, 205 p.
- Patriarca, E.; Tate, R.; y Iaccarino, M. (2002). Key role of bacterial NH<sub>4</sub><sup>+</sup> metabolism in *Rhizobium*-plant symbiosis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 66, 203 - 222.
- Peláez R.J. (2012). *Evaluación del efecto de la inoculación de Rhizobium en Canavalia ensiformis (canavalia), en fases iniciales del cultivo*. (Tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo). Pinar del Río.
- Peña-Cabriales, J.J. (2002). *La fijación de biológica de nitrógeno en A.L. El aporte de las técnicas isotópicas*. Ed. IMPROSA, SA.de C.V. Inaguato, México. 120 p.
- Pérez, M. del C.; Cardoza, H.; Socorro, M.; Casanova, A.; Álvarez, P. (2006). *La agricultura cubana*. En: Cornide, M. T. (Ed.): *Las investigaciones agropecuarias*



- en Cuba cien años después. La Habana: Editorial Científico-Técnica. pp. 58 - 105.
- Poole, P. S. (2008). *Physiology of Root-nodule Bacteria*. In: Nitrogen-fixing Leguminous Symbioses, Springer. pp. 241-276
- Puertas, A. (2006). Interacción de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* con *Rhizobium* sp., *Trichoderma harzianum* y *Glomus clarum* en el control de *Meloidogyne incognita*. *Rev. Protección Veg.*, 21(2), 80-89.
- Quintero, E., Guzmán, L., y Gil, V. (2005). *El banco de germoplasma de frijol del CIAP y su contribución al desarrollo en el sector productivo de Villa Clara*. III Conferencia Internacional Sobre Desarrollo Agropecuario y Sostenibilidad «Agrocentro», Santa Clara.
- Sueiro Garra, A.; Rodríguez Pequeño, M. y de la Cruz Martín, S. (2011). *El uso de biofertilizantes en el cultivo del frijol: una alternativa para la agricultura sostenible en Sagua la Grande*. Filial Universitaria Municipal Sagua la Grande.
- Vázquez, L.L. (2014). *Compendio de buenas prácticas agroecológicas en manejo de plagas*. Primera edición 2014. La Habana: Editora Agroecológica. Cuba. 209 p.
- Weidner, S.; Puhler, A. and Kuster, H. (2003). Genomics insights into symbiotic nitrogen fixation. *Curr Opin in Biotech*, (14), 200-205
- Weir, B. S. (2006). The current taxonomy of rhizobia. New Zealand rhizobia website. <http://www.rhizobia.co.nz/taxonomy/rhizobia.html>.
- Yadav (2013). Co-inoculated Biopriming with *Trichoderma*, *Pseudomonas* and *Rhizobium* Improves Crop Growth. *IJAEB*, 6(2), 255-259.
- Yadegari, M. y Rahmani, A. (2010). Evaluation of bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds' inoculation with *Rhizobium phaseoli* and plant growth promoting *Rhizobacteria* (PGPR) on yield and yield components. *Afric. J. Agric. Res.*, 5(9), 792-799.

Recibido: diciembre 2016

Aprobado: febrero 2017

*Ing. Yonel Lázaro Cabrera Romero*. Ingeniero Agrónomo del Grupo Empresarial Agropecuario del MININT, km 4 carretera Viñales, Pinar del Río, Cuba. Teléfono: 48-759423