

Efecto de la aplicación asociada entre *Rhizobium leguminosarum* y microorganismos eficientes sobre la producción del frijol común

Effect of the associated application between *Rhizobium leguminosarum* and efficient microorganisms on common bean production

Alexander Calero Hurtado,^{1*} Yanery Pérez Díaz,² Elieni Quintero Rodríguez,³ Dilier Olivera Vicedo,⁴ Kolima Peña Calzada⁵

¹ Estudiante de doctorado de la Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. São Paulo, Brasil. Correo: alexcalero34@gmail.com. Orcid: <http://orcid.org/0000-0001-6536-2908>

² Profesora, Universidad de Sancti Spíritus “José Martí Pérez”, Centro Universitario de Taguasco “Enrique José Varona”. Sancti Spíritus, Cuba. Correo: yaneryemily@gmail.com. Orcid: <http://orcid.org/0000-0003-4568-1981>

³ Investigadora, Empresa Agropecuaria Agroindustrial “Melanio Hernández”. Sancti Spíritus, Cuba. Correo: elieni.quintero@gmail.com. Orcid: <http://orcid.org/0000-0003-4994-9586>

⁴ Estudiante de doctorado, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. São Paulo, Brasil. Correo: dilierolvi@gmail.com. Orcid: <http://orcid.org/0000-0002-7975-9508>

⁵ Estudiante de doctorado, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. São Paulo, Brasil. Correo: kolimapena@gmail.com. Orcid: <http://orcid.org/0000-0003-1200-2583>

Editor temático: Eduardo Barragán Quijano (Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria [AGROSAVIA])

Fecha de recepción: 15/05/2018

Fecha de aprobación: 30/01/2019

Para cita este artículo: Calero Hurtado, A., Pérez Díaz, Y., Quintero Rodríguez, E., Olivera Vicedo, D., & Peña Calzada, K. (2019). Efecto de la aplicación asociada entre *Rhizobium leguminosarum* y microorganismos eficientes sobre la producción del frijol común. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 20(2), 295-308

DOI: https://doi.org/10.21930/rcta.vol20_num2_art:1460



Esta licencia permite distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de la obra de modo no comercial, siempre y cuando se dé el crédito y se licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

* Av. Prof. Paulo Donato Castellane s/n, CP. 14884900, Bairro Rural, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

Resumen

Con el objetivo de evaluar la asociación entre diferentes formas de aplicación de microorganismos eficientes y la inoculación con *Rhizobium* en el comportamiento morfológico y productivo del frijol común, se desarrolló un experimento en la Cooperativa de Créditos y Servicios "Mártires de Taguasco", Sancti Spíritus, Cuba, de octubre de 2012 a febrero de 2013, y se utilizó el cv. Cuba cueto. Fueron evaluados dos factores: el primero fue la utilización de *Rhizobium* (sin y 1 kg/46 kg de semilla) y el segundo fue cuatro formas de aplicación de microorganismos eficientes, sin (0), al surco (100 mg/L), foliares (100 mg/L) y la asociada (surco más la foliar). Los indicadores morfológicos y productivos que se determinaron

fueron los siguientes: promedio de hojas por plantas, altura de las plantas (cm), legumbres por plantas, granos por legumbres, masa de 100 granos (g/100 semillas) y rendimiento (t/ha). Los resultados mostraron que la aplicación asociada al surco más la foliar de microorganismos eficientes comparadas con las otras formas incrementó los parámetros morfológicos y productivos evaluados, como la producción de hojas, la altura de la planta, las legumbres por planta, los granos por legumbre, la masa de 100 semillas y el rendimiento del grano en 153,23 %, cuando no fueron inoculadas con *Rhizobium*, y 100 %, con la inoculación en relación con el tratamiento control.

Palabras clave: aplicación foliar, biofertilizantes, inoculación de semillas, inoculación del suelo, *Phaseolus vulgaris*, rendimiento de cultivos

Abstract

To evaluate the relationship between different application forms of efficient microorganisms and the inoculation with *Rhizobium* in the morphological and productive behavior of common beans, an experiment at Cooperativa de Créditos y Servicios "Martires de Taguasco," Sancti Spíritus, Cuba, was developed from October 2012 to January 2013 using the Cuba Cueto cultivar. Two factors were evaluated, the first was the use of *Rhizobium* (without and with 1 kg/46 kg of seed), and the second was four application forms of efficient microorganisms, without (0), to the furrow (100 mg/L), foliar (100 mg/L) and the associated (furrow plus foliar). The morphological

and productive indicators established were: the average number of leaves per plant, plant height (cm), legumes per plant, grains per legumes, the mass of 100 grains (g/100 seeds), and yield (t/ha). The results showed that the best form of efficient microorganisms application was the associated form (furrow plus foliar) compared with the others, as it increased in 153.23 % the morphological and productive parameters evaluated, such as leaf production, plant height, legumes per plant, grains per legumes, mass of 100 seeds and grain yield when they were not inoculated with *Rhizobium*. Likewise, these same parameters increased 100 % when inoculated with *Rhizobium* and compared to the control treatment.

Keywords: biofertilizers, crop yield, foliar application, *Phaseolus vulgaris*, seed inoculation, soil inoculation

Introducción

El cultivo del fríjol común *Phaseolus vulgaris* L. presenta un valor incalculable para la alimentación humana, porque constituye una fuente esencial de proteínas como parte de los hábitos alimenticios de los pobladores. En Cuba, las condiciones de suelo y clima favorecen su cultivo, lo que conlleva a que se establezca en la mayoría del territorio nacional (Expósito & García, 2011).

Las actividades humanas provocan cambios en el uso de la tierra que inducen una grave degradación de esta con posibles impactos sobre el medio ambiente, así como en la sostenibilidad ambiental, social y económica (Araújo et al., 2013). El incremento del consumo del fríjol requiere de mayores producciones, basadas en el incremento de las áreas y alternativas que mejoren los rendimientos, entre las que se encuentra, como ventaja del cultivo, la fijación del nitrógeno atmosférico en simbiosis con bacterias del género *Rhizobium* (Rosas, 2003).

La degradación de la tierra causa la pérdida de la diversidad microbiana (Araújo, Borges, Tsai, Cesarz, & Eisenhauer, 2014; Nunes et al., 2012). Los procesos microbianos son importantes para la fertilidad del suelo y crecimiento de la planta, ya que los microorganismos mineralizan, oxidan, reducen e inmovilizan materiales minerales y orgánicos en el suelo (Kennedy & Doran, 2003).

Existen microorganismos, como bacterias del género *Rhizobium*, que fijan el nitrógeno en forma simbiótica con plantas leguminosas. Se estima que las mayores cantidades de nitrógeno atmosférico fijado son producto de esta asociación (Richards, 1987). Sessitsch, Howieson, Perret, Antoun y Martínez-Romero (2002) estimaron que alrededor del 80 % del N_2 fijado en el planeta se debe a la actividad de las bacterias del género *Rhizobium* (R). La utilización de inoculantes comerciales a base de *Rhizobium* es una práctica generalizada para los agricultores, con el fin de incrementar los rendimientos con bajos costos.

El uso de cepas nativas de *Rhizobium* como biofertilizantes contribuye al mantenimiento de la biodiversidad del suelo, mediante la reducción de los impactos negativos de los fertilizantes minerales (Nkot et al., 2015; Ouma, Asango, Maingi, & Njeru, 2016) y tienen un efecto más rápido comparado con el fertilizante orgánico (Abdel-Fattah, Shukry, Shokr, & Ahmed, 2016). Como alternativa para mejorar la producción del grano, se recomienda el empleo de los Microorganismos Eficientes (ME), un conjunto de hongos de fermentación, bacterias, lactobacilos, con múltiples aplicaciones en las áreas ambientales, pecuarias y agrícolas. Los ME establecen un equilibrio microbiológico del suelo y mejoran su calidad, lo que incrementa la producción y protección de los cultivos, conserva los recursos naturales y crea una agricultura sustentable (Higa, 1994, 1995).

Los ME también producen sustancias benéficas para la vida animal y vegetal. Pedraza et al. (2010) refirieron que el principio fundamental de esta tecnología consiste en el incremento de un grupo de microorganismos benéficos en el suelo, con el objetivo de mejorar las condiciones de este, eliminar la putrefacción (incluyendo enfermedades) y optimizar el uso de la materia orgánica por los cultivos.

Hasta el momento, ha sido comprobado el efecto bioestimulante de la inoculación con *Rhizobium* y la utilización de ME independientemente. No obstante, con respecto a la relación o asociación que puede establecerse entre estos biofertilizantes, existen pocos estudios, y se brinda muy poca información sobre el efecto que pueden lograrse sobre las plantas de fríjol. Con base en estos supuestos, la premisa general de esta investigación consistió en evaluar la asociación entre diferentes formas de aplicación de ME y la inoculación con *Rhizobium* en el comportamiento morfológico y productivo del fríjol común.

Materiales y métodos

Localización del experimento y material vegetal

El experimento se desarrolló en la Cooperativa de Créditos y Servicios “Mártires de Taguasco”, del municipio de Cabaiguán, Sancti Spíritus, Cuba (coordenadas 22°06'17,588" N y 79°22'33,544" O), de octubre de 2012 a febrero de 2013. Las semillas del cultivar Cuba cueto (CC-25-9-N) de frijol común se obtuvieron en la Empresa de Semillas de Sancti Spíritus, con 96 % de germinación. La distancia de siembra utilizada fue de 0,60 m entre hileras y 0,08 m entre plantas, para obtener alrededor de 200.000 plantas por hectárea.

Condiciones climatológicas generales

La investigación se realizó durante los últimos meses del 2012 y el primer mes de 2013, en un agroecosistema llano (90 m s. n. m.), en el ciclo de cultivo (de lluvioso a poco lluvioso) para el agroecosistema. La situación geográfica del agroecosistema en estudio pertenece al cinturón climático tropical, al igual que el archipiélago y la subregión climática del Caribe-occidental. En el área de estudio, a partir del análisis de las variables climáticas de los meses donde se realizaron los experimentos (figura 1), quedó demostrada la existencia de un clima apropiado para el desarrollo cultivo del frijol común. Se produjeron fluctuaciones significativas de las temperaturas medias mensuales, que fueron muy favorables para las diferentes etapas fenológicas del cultivo, como la floración, la fructificación y el llenado del grano (Socorro & Martín, 1989).

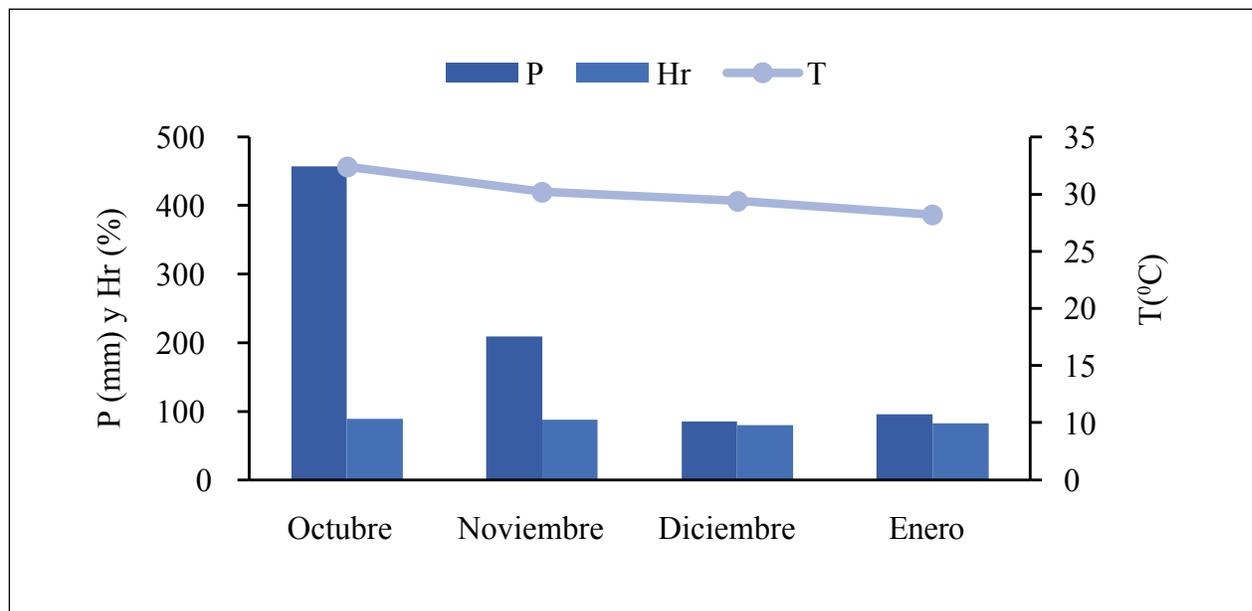


Figura 1. Histograma de los promedios mensuales de las variables climatológicas.

P: precipitaciones; T: temperatura media; Hr: humedad relativa del área en estudio. Datos proporcionados por el Centro Meteorológico Provincial (CMP) de Sancti Spíritus-Citma. 2013.

Fuente: Elaboración propia

El promedio de precipitaciones mensual para el desarrollo del experimento favoreció el desarrollo de las primeras etapas como la germinación y las etapas de desarrollo vegetativo. Las precipitaciones de diciembre fueron menores, pero propiciaron un balance para el mantenimiento de la flora-

ción, la fructificación y el llenado del grano, complementadas por las lluvias en los primeros días de enero (Quintero, 1996). Se destaca que no hubo déficit de agua porque el área estuvo cubierta por dos riegos que mantuvieron la humedad del suelo.

La humedad relativa tuvo un comportamiento adecuado y favorable para la mínima ocurrencia de enfermedades y el desarrollo adecuado de las plantas, porque los valores medios mensuales estuvieron próximos al 80% para obtener rendimientos óptimos (Quintero, Gil, Ríos, Martínez, & Díaz, 2006).

Diseño experimental y tratamientos evaluados

Se utilizó un diseño en bloques al azar, en esquema factorial de 2×4 , en el que los factores fueron los siguientes: inoculación de las semillas con *Rhizobium* (con dos niveles semillas sin y con *Rhizobium* 1 kg/46 kg de semilla, previa peletización de la semilla antes de la siembra) y aplicación de ME en cuatro niveles: control (sin aplicación), aplicación al surco (100 mg/L), aplicaciones foliares a las plantas (100 mg/L) y aplicación combinada de ME al surco y foliar, con cuatro bloques para formar 32 parcelas.

Las aplicaciones de ME en los surcos se realizaron antes de la siembra de la semilla; después, se depositaron estas y se procedió al tapado de los granos inmediatamente. Los tratamientos foliares comenzaron a partir de la formación de las primeras hojas verdaderas en las etapas de crecimiento y desarrollo del cultivo V2, V3 y R5.

Características del cultivar

El cultivar Cuba Cueto (CC-25-9-N) presenta granos de color negro, con un potencial de rendimiento de 2,7 t/ha, hábito de crecimiento tipo III y un ciclo entre 75-80 días. Manejo de la siembra, control fitosanitario, irrigación, entre otros, fueron realizados según la Guía tecnológica para el cultivo (Faure et al., 2014).

Tipo de suelo y principales características

El suelo de la unidad experimental se clasifica como Pardo Sialítico, con Carbonato de perfil ABC de mediana profundidad, color pardo oscuro en estado seco, y verde azulado bajo condiciones de

humedad, producto del proceso de oxidación de hierro de acuerdo con Hernández, Pérez, Bosch y Castro (2015), e internacionalmente conocido como Cambisol (Schad, 2016). Las características que más definen este agrupamiento de suelo se consideran suelos pesados con alta presencia y predominio de arcilla del tipo 2:1. En estado seco, pueden observarse grietas en superficie, producto del proceso de contracción de la arcilla y en estado húmedo resulta muy plástico, dificultando las labores agrícolas. Estas condiciones ocurren generalmente por un mal drenaje y compactación, siendo visible en superficie una estructura del tipo laminar. Por otra parte, este tipo de suelo se puede encontrar fundamentalmente en áreas de llanuras poco intemperizadas, dando origen a suelos jóvenes. Sin embargo, una de las mayores limitantes para los suelos jóvenes es la poca profundidad efectiva y susceptibilidad a la compactación. En nuestro trabajo, la pendiente promedio no sobrepasó el 3%, lo que se considera como poco ondulado.

Características de los biofertilizantes utilizados

El inóculo de microorganismos eficientes compuesto por *Bacillus subtilis* B/23-45-10 Nato (5,4 10⁴ ucf/mL), *Lactobacillus bulgaricus* B/103-4-1 (3,6 10⁴ ucf/mL) y *Saccharomyces cerevisiae* L-25-7-12 (22,3 10⁵ ucf/mL), con certificado de calidad emitido por el Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (Icicca), código R-ID-B-Prot-01-01, se adquirió en la Sucursal de Labiofam de Sancti Spíritus. El inóculo se realizó según la metodología propuesta por Olivera, Ayala, Calero, Santana y Hernández (2014), y se caracterizó de acuerdo con López, Calero et al. (2017), así: materia seca 17,0 g/L; materia orgánica 11,0 g/L; pH = 3,16; nitrógeno amoniacal (N-NH₄⁺) 0,03 mg/L; potasio (K⁺) 0,80 mg/L; fósforo (H₂PO₄⁻) 0,83 mg/L; calcio (Ca²⁺) 24,05 mg/L y magnesio (Mg²⁺) 4,86 mg/L. La cepa de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* se obtuvo en el Laboratorio Provincial de Suelo de Sancti Spíritus. Las semillas se inocularon con una concentración de 2,5 10⁹ UCF de *R. leguminosarum*.

VARIABLES EVALUADAS

Las variables que se evaluaron correspondieron a los criterios expuestos por descriptores recomendados en las etapas de crecimiento y desarrollo del cultivo (Fernando, Gepts, & López, 1986). Los muestreos se realizaron en las plantas correspondientes a 1 m². Los indicadores morfológicos que se determinaron fueron el promedio de hojas por planta (PHP), altura de las plantas (AP) en centímetros, legumbres por planta (LP), granos por legumbre (GL), masa de 100 granos (g/100 semillas) (MG) y rendimiento (t/ha).

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para el análisis de los resultados se utilizó el software AgroEstat® (Barbosa & Maldonado-Junior, 2015). Se comprobó la normalidad de las variables a través de un análisis descriptivo de variables continuas y cuantitativas, con el test de Kolmogórov-Smirnov (Allen, 1976) y sometidas a análisis de varianza; la significancia de la varianza se comprobó

por la prueba F. Las medias se compararon a través de la prueba de Rangos Múltiples de Tukey con un α de 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto sobre los parámetros morfológicos

El PHP fue significativamente ($p < 0,05$) mayor en los tratamientos con la inoculación de las semillas con *Rhizobium* en relación con la no inoculación de estas (figura 2). Hubo alta significancia entre la interacción entre R · ME; además, todas las formas de ME aplicadas estimularon el PHP en el cv. Cuba cueto de frijol común, tanto en las plantas sin inoculación y con inoculación de *Rhizobium*. La aplicación de ME asociada a S+F incrementó el PHP, con respecto a las aplicaciones al surco y foliar individuales, tanto cuando se inoculan las plantas con *Rhizobium* como cuando no se inoculan con respecto al tratamiento sin aplicación de ME, ya que aumentó el NHP en 65,85 y 92,12 %, respectivamente.

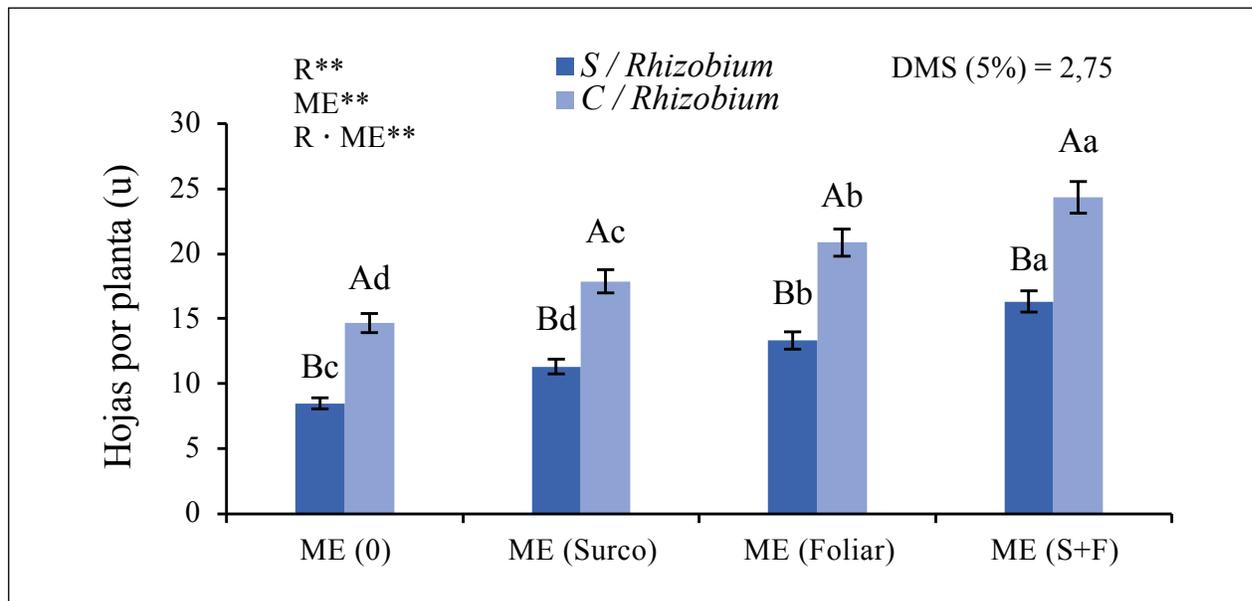


Figura 2. Efecto de *Rhizobium* (0 y 1 kg en 46 kg de semilla) y ME (0, surco 100 mg/L, foliar 100 mg/L y la asociación entre surco y foliar) en el promedio de hojas por plantas en el cv. Cuba Cueto. R: *Rhizobium*; ME: microorganismos eficientes y R · ME: interacción entre estos. Valores representados por las medias \pm DE (n = 5).

Letras mayúsculas difieren entre la aplicación de *Rhizobium* y minúsculas entre las formas de ME utilizadas, según Tukey ($p \leq 0,05$). CV (%) = 7,82; ES (\pm) = 0,66.

** Significativo al 99 % de confiabilidad.

Fuente: Elaboración propia

La inoculación con *Rhizobium* en plantas de frijol de forma individual o asociada fue eficiente en promover el incremento del PHP (figura 2). Este efecto benéfico de la inoculación con *Rhizobium* en plantas de frijol fue reportado por González, Sosa y Díaz (2012), quienes aumentaron el número de hojas trifoliadas en 14,58 en relación con el control sin inoculación. En ese sentido, Marín, Mena, Chaveli, Morán y Pimentel (2013), con la asociación entre *Tsukamurella paurometabola* C-924 y *R. leguminosarum* en frijol, lograron estimular significativamente el número de hojas en relación con el control sin inocular.

La aplicación de los ME de forma individual o combinada promovió el PHP en plantas de frijol. Esto ocurre principalmente porque la aplicación de los ME en forma foliar mejoran el crecimiento del follaje (22%) (Díaz, Montero, & Lagos, 2009) y, por lo tanto, se aumenta el área fotosintética de las plantas, lo que se traduce en una mayor elaboración de nutrimentos para la planta y, por ende, en un incremento de su productividad. El efecto de los

ME fue verificado en plantas de frijol (Calero et al., 2018; Quintero, Calero, Pérez, & Enríquez, 2018).

Los resultados para la AP presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los factores evaluados, con alta significancia entre la interacción R · ME (figura 3). Este indicador fue beneficiado por el tratamiento a las semillas con *Rhizobium* en relación con la no inoculación. Todas las formas de utilización de ME estimularon el crecimiento de las plantas independientemente de la inoculación o no con *Rhizobium*. El tratamiento con ME asociados S + F fue el mejor en comparación con las demás formas utilizadas. Comparando la AP de aquellas plantas que no se trataron con *Rhizobium* en el tratamiento ME (S + F) aumentó 28,00% con respecto a la aplicación foliar, 43,37% en relación con la aspersión al surco, y 72,29% con respecto al control, mientras que cuando se inocularon las semillas con *Rhizobium* los incrementos fueron de 20,84%, comparadas con las aplicaciones al surco y foliar, y de 36,50% en relación con el tratamiento control.

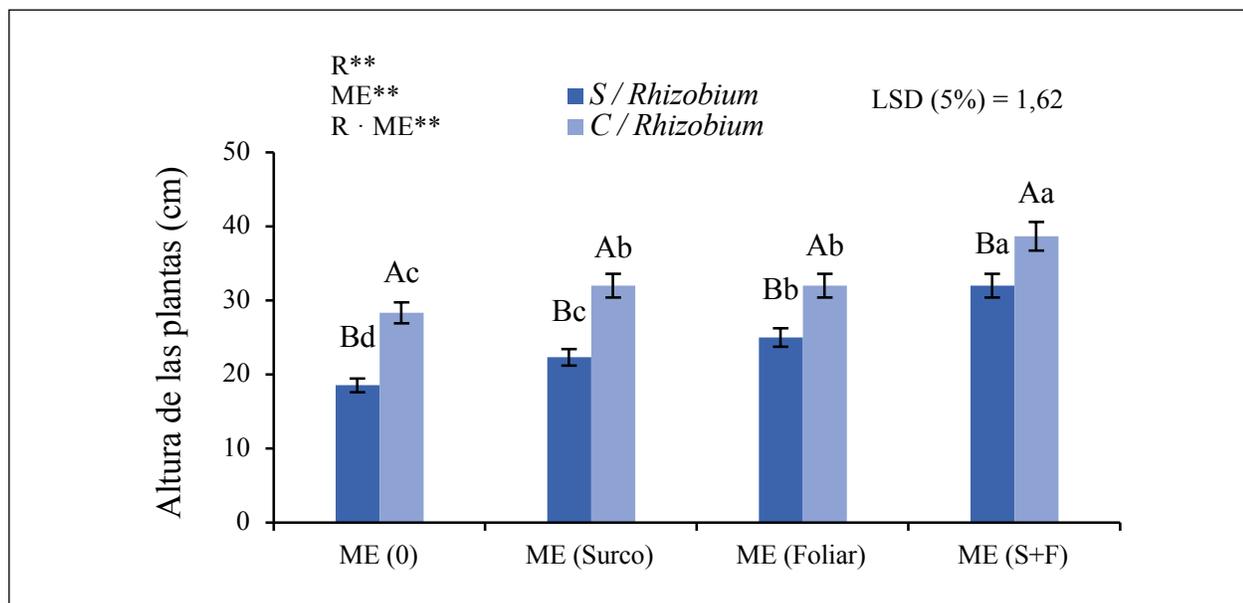


Figura 3. Efecto de *Rhizobium* (0 y 1 kg en 46 kg de semilla) y ME (0, surco 100 mg/L, foliar 100 mg/L y la asociación entre surco y foliar) en la altura promedio de las plantas del cv. Cuba Cueto. R: *Rhizobium*; ME: microorganismos eficientes y R · ME: interacción entre estos. Valores representados por las medias \pm DE (n = 5).

Letras mayúsculas difieren entre la aplicación de *Rhizobium* y minúsculas entre las formas de ME utilizadas, según Tukey ($p < 0,05$). CV (%) = 6,38; ES (\pm) = 0,39.

** Significativo al 99% de confiabilidad.

Fuente: Elaboración propia

Quedó evidenciado el efecto benéfico de la utilización de *Rhizobium* en el crecimiento de las plantas de frijol, debido al incremento del número de hoja por planta, especialmente con la aplicación de ME S+F (figura 2). Este efecto positivo de la inoculación de *Rhizobium* en plantas de frijol fue verificado por González et al. (2012), quienes alcanzaron una altura promedio superior a 26,81 cm en relación con el control sin inoculación.

El efecto de la aplicación de los ME fue el aumento la AP de frijol común. Esto ocurre porque la aspersión de los ME posibilitó el incremento el PHP (figura 2), ya que cuando los ME se relacionan con la materia orgánica, producen sustancias provechosas como vitaminas, ácidos orgánicos, minerales quilatados y sustancias antioxidantes, que favorecen el desarrollo y crecimiento de los cultivos (Pérez, 2010). El efecto de los ME en el aumento de la AP fue verificado en plantas de frijol (Calero et al., 2018; Quintero et al., 2018), mientras que la AP de las plantas de frijol cv. Bat-304 fue aumentado en 74,0% por Calero, Pérez y Pérez (2016). Por otra parte, López, Gil, Henderson, Calero y Jiménez (2017) incrementaron la altura de las plantas de

cebolla con la aplicación combinada de los ME, con un efluente de planta de biogás en relación con las plantas no tratadas.

Efecto sobre el rendimiento y sus componentes

El promedio de LP en el cv. Cuba cueto tuvo un efecto significativo ($p < 0,05$), con alta interacción entre los factores R · ME (figura 4). Las plantas inoculadas con *Rhizobium* presentaron mayores respuestas que las no inoculadas. Los mayores resultados para este indicador se obtuvieron por el tratamiento con ME combinado S+F, en comparación con las demás formas de aplicación de ME, tanto para las plantas inoculadas o no con *Rhizobium*. Los incrementos en relación con las plantas no tratadas con *Rhizobium* fueron de 37,82%, comparados con las formas al surco y foliar, y de 81,19% en relación con el tratamiento control (sin aplicación de ME), mientras que en las plantas inoculadas con *Rhizobium* la combinación de ME alcanzó incrementos de 13,97%, comparada con las aplicaciones al surco y foliares exclusivas, y 37,07% respecto al tratamiento control.

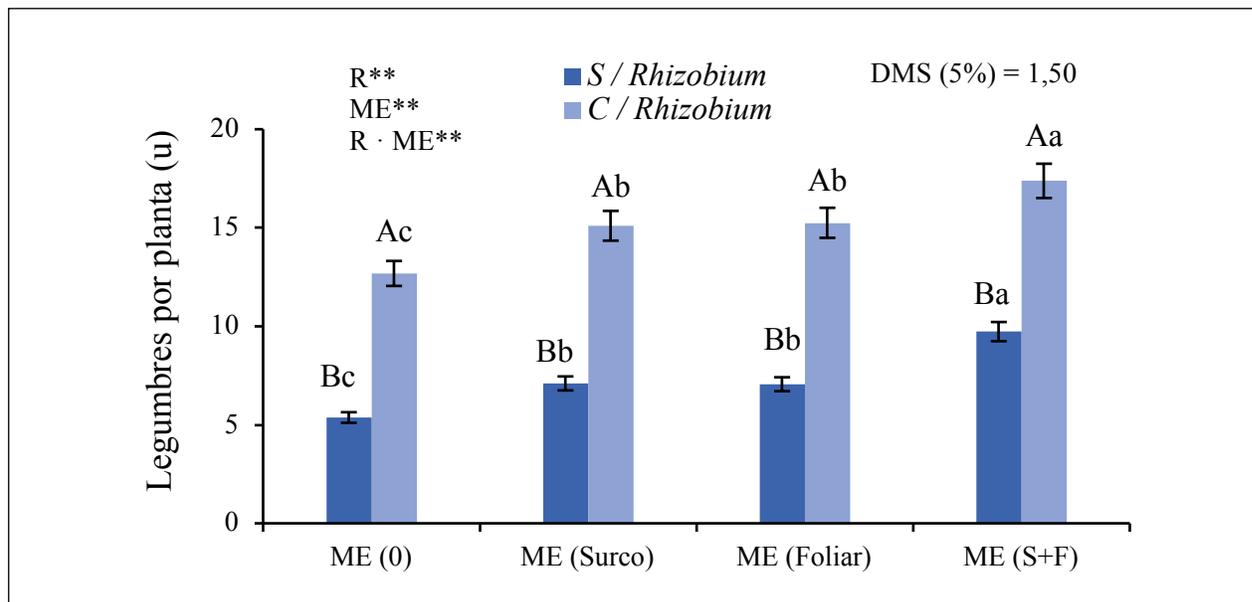


Figura 4. Efecto de *Rhizobium* (0 y 1 kg en 46 kg de semilla) y ME (0, surco 100 mg/L, foliar 100 mg/L y la asociación entre surco y foliar) en la producción promedio de legumbres por plantas del cv. Cuba Cueto. R: *Rhizobium*; ME: microorganismos eficientes y R · ME: interacción entre estos. Valores representados por las medias \pm DE (n = 5). Letras mayúsculas difieren entre la aplicación de *Rhizobium* y minúsculas entre las formas de ME utilizadas, según Tukey ($p < 0,05$). CV (%) = 5,73; ES (\pm) = 0,36.

** Significativo al 99% de confiabilidad.

Fuente: Elaboración propia

La producción de legumbres por plantas es un componente importante del rendimiento. La asociación entre ME y *Rhizobium* logró una mayor y mejor distribución de este indicador en toda la planta en relación con las plantas no tratadas, que lograron que la producción de vainas fuera más concentrada en la parte central, siendo mucho más afectadas por la humedad, la temperatura y las labores agrotécnicas realizadas al cultivo durante su desarrollo.

La inoculación con *Rhizobium* favoreció la producción de LP de frijol en el cv. Cuba Cueto. Este aumento del promedio de LP pudo estar influenciado por el incremento del PHP y la AP (figuras 2 y 3), hecho también observado en este cultivo por González et al. (2012) y Mercante, Otsubo y Brito (2017). Incrementos significativos en el número de LP en el cultivo del frijol, con la inoculación a las semillas con *Rhizobium*, fueron reportados por Abdel-Fattah et al. (2016).

La aplicación de ME benefició la producción de LP, principalmente en la forma asociada S+F, porque las plantas de frijol alcanzaron un mayor PHP y AP. El efecto benéfico de los ME favoreciendo el desarrollo y la producción de los frutos (LP) fue

observado en plantas de frijol por Calero et al. (2018) y Quintero et al. (2018). Por otra parte, Calero et al. (2016) reportaron un incremento de ocho legumbres por planta con la aplicación asociada entre los ME con FitoMas-E, en relación con el tratamiento control.

El promedio de GL fue significativamente mayor ($p < 0,05$) cuando se inocularon las semillas con *Rhizobium* en relación con la no inoculación, con alta interacción entre los factores *Rhizobium* y ME (figura 5). Todas las formas de ME utilizadas estimularon el promedio de granos por legumbres en relación con el control sin aplicación. Los mayores valores promedios se alcanzaron cuando se aplicó ME asociado S+F al inocular o no la semilla con *Rhizobium*. Cuando no se trataron las semillas con *Rhizobium*, la aplicación combinada de ME superó en 43,81 % a las formas de aplicaciones en el surco y foliar, y en 111,27 % al tratamiento control. Por otra parte, cuando fueron inoculadas las semillas con *Rhizobium* la utilización asociada de ME (S+F) aumentó el número de granos por legumbres en 19,34 %, con respecto a las formas de ME aplicadas al surco y foliar, y en 44,84 % con respecto al tratamiento control.

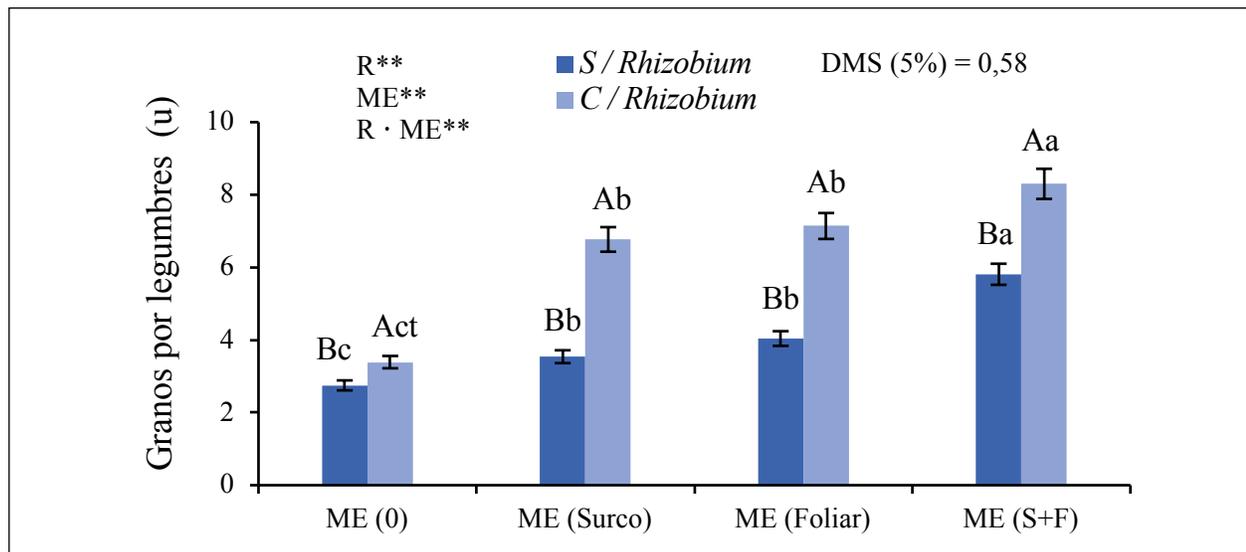


Figura 5. Efecto de *Rhizobium* (0 y 1 kg en 46 kg de semilla) y ME (0, surco 100 mg/L, foliar 100 mg/L y la asociación entre surco y foliar) en el promedio de grano por legumbres en las plantas del cv. Cuba Cueto. R: *Rhizobium*; ME: microorganismos eficientes y R · ME: interacción entre estos. Valores representados por las medias ± DE (n = 5). Letras mayúsculas difieren entre la aplicación de *Rhizobium* y minúsculas entre las formas de ME utilizadas, según Tukey ($p \leq 0,05$). CV (%) = 4,87; ES (±) = 0,14.

** Significativo al 99 % de confiabilidad.

Fuente: Elaboración propia

El llenado de las legumbres fue favorecido por el comportamiento de la temperatura y la humedad relativa durante el desarrollo del experimento, pero el tratamiento de las semillas con *Rhizobium* favoreció aún más la producción de GL, especialmente por el incremento del PHP y la AP. Este efecto beneficioso de la inoculación con *Rhizobium* en plantas de frijol cv. Cuba cueto fueron obtenidos por González et al. (2012), quienes alcanzaron un promedio 2,12 granos por plantas superior al control sin inoculación.

Quedó evidenciado en este trabajo que la aplicación de los ME tuvo un efecto positivo en el promedio de GL, especialmente cuando fueron aplicados los ME en la forma asociada S + F, porque aumentaron los indicadores morfológicos como el PHP, la AP y el número de LP (figuras 2, 3 y 4). Los resultados del efecto benéfico de los ME en plantas de frijol fueron observados por Calero et al. (2018) y Quintero et al. (2018). Por otra parte, Calero et al. (2016)

observaron un aumento de 67,07 % en el promedio de GL, al combinar las aplicaciones foliares de ME con FitoMas-E y Lebame en relación con el tratamiento sin aplicación.

La masa de 100 granos fue significativamente ($p < 0,05$) estimulada cuando se inocularon las semillas en relación con las no inoculas con *Rhizobium*, y se observó una alta interacción con los diferentes tratamientos con ME (figura 6). Los mayores valores promedios se obtuvieron con la aplicación asociada de ME (S + F) en los tratamientos con o sin *Rhizobium*. Cuando no se trataron las semillas con *R. leguminosarum*, los incrementos obtenidos por el tratamiento con ME asociado en relación con las formas aplicadas al surco y foliar fueron de 18,61 %, y de 42,88 % en relación con el tratamiento control. Con respecto a la inoculación de las semillas con *Rhizobium*, las aplicaciones combinadas de ME superaron a las formas foliar y al surco en 7,41 %, y en 16,41 % al tratamiento control.

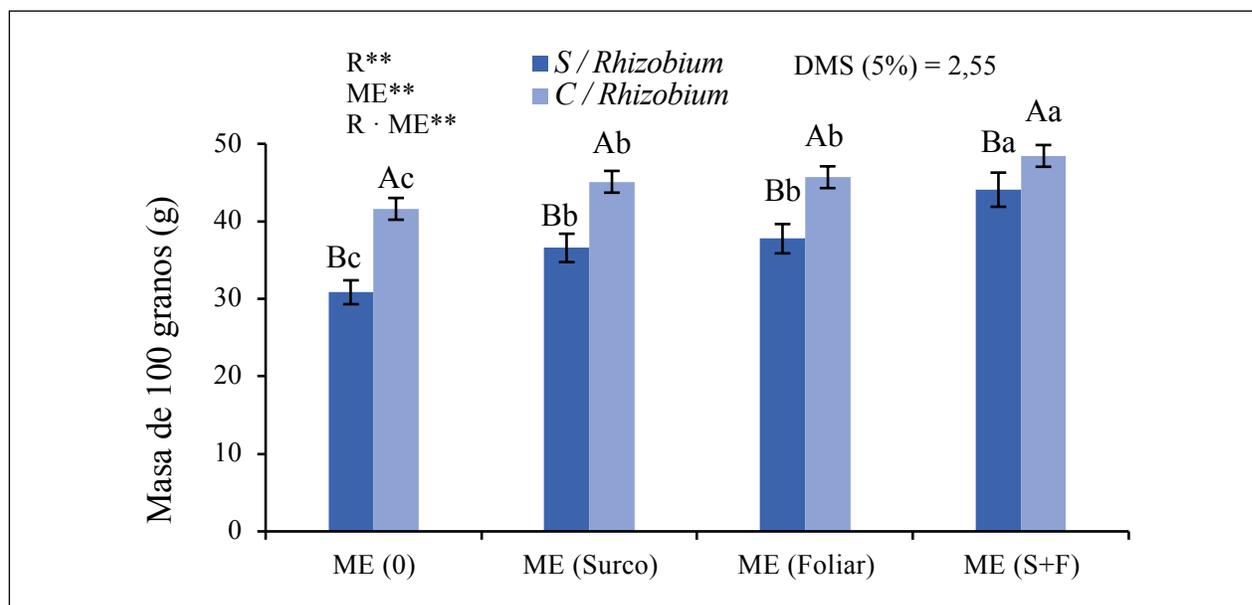


Figura 6. Efecto de *Rhizobium* (0 y 1 kg en 46 kg de semilla) y ME (0, surco 100 mg/L, foliar 100 mg/L y la asociación entre surco y foliar) en el promedio de la masa de 100 granos en las plantas del cv. Cuba Cueto. R: *Rhizobium*; ME: microorganismos eficientes y R · ME: interacción entre estos. Valores representados por las medias \pm DE (n = 5).

Letras mayúsculas difieren entre la aplicación de *Rhizobium* y minúsculas entre las formas de ME utilizadas, según Tukey ($p \leq 0,05$). CV (%) = 7,59; ES (\pm) = 0,62.

** Significativo al 99 % de confiabilidad.

Fuente: Elaboración propia

La masa de 100 granos está estrechamente relacionada con el rendimiento agrícola. En este trabajo la inoculación con *Rhizobium* alcanzó los mayores valores de este indicador y coincidió con los mayores rendimientos, principalmente porque fue aumentado el PHP, la AP, el número de LP y el número de GL (figuras 2, 3, 4 y 5). En este sentido, Ponce, Ortiz, de la Fé y Moya (2002) indicaron que este parámetro contribuye a definir normas de siembra y muestra la cantidad de semillas y el número de plantas posibles que se pueden lograr, en dependencia de la masa.

El efecto positivo de la inoculación en las semillas de frijol con *Rhizobium* fue reportado por González et al. (2012), al incrementar en 27,60 g y 11,59 g la asociación entre *Rhizobium* y micorrizas en relación con el tratamiento control. De acuerdo con Mercante et al. (2017), la masa de 100 granos en las plantas de frijol inoculadas con aislados de *Rhizobium* fue similar a donde fue aplicado el fertilizante nitrogenado a razón de 80 kg/ha.

En plantas de frijol cultivadas con o sin inoculación con *Rhizobium*, la aplicación de los ME, especialmente el tratamiento con la forma asociada S + F, proporcionó un incremento del PHP, AP, LP y GL.

Estos efectos positivos causados por los ME en plantas de frijol fueron reportados por Calero et al. (2018) y Quintero et al. (2018). Por otra parte, Calero et al. (2016) demostraron con la aplicación combinada de ME con FitoMas-E y con Lebame un aumento en el tamaño y la masa de 100 granos, en comparación con el tratamiento sin aplicación.

La productividad del cv. Cuba cueto fue significativamente mayor ($p < 0,05$) cuando se inocularon las semillas con *Rhizobium* en relación con las no inoculadas. Se detectó alta interacción entre los factores estudiados (figura 7). Obsérvese cómo el rendimiento fue mayor en los tratamientos con la aplicación asociada de ME en comparación con las demás formas de aplicación y el tratamiento control al tratar o no las semillas con *Rhizobium*. Los resultados de la aplicación combinada de ME superan los valores medio del rendimiento en 49,53 % de los tratamientos con las formas de aplicación de ME al surco y foliar, y en 153,23 % al tratamiento control cuando las semillas no fueron inoculadas, mientras que cuando se trataron las semillas con *Rhizobium* los incrementos fueron de 26,53 %, comparadas con las aplicaciones al surco y foliar, y en 100 % en relación con el tratamiento control.

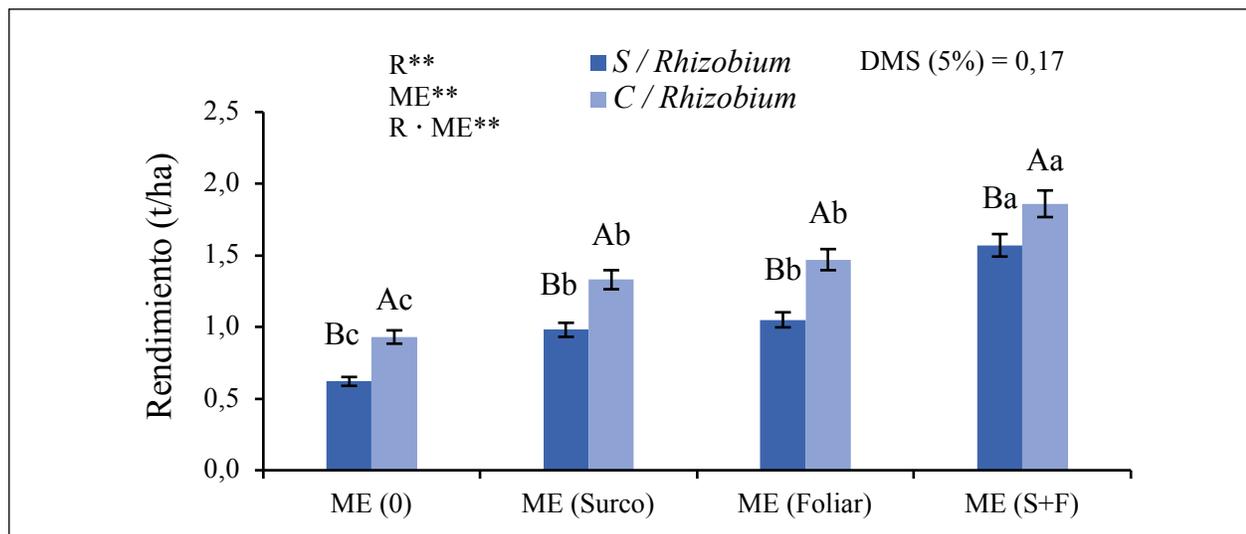


Figura 7. Efecto de *Rhizobium* (0 y 1 kg en 46 kg de semilla) y ME (0, surco 100 mg/L, foliar 100 mg/L y la asociación entre surco y foliar) en el promedio del rendimiento en las plantas del cv. Cuba Cueto. R: *Rhizobium*; ME: microorganismos eficientes y R · ME: interacción entre estos. Valores representados por las medias ± DE (n = 5). Letras mayúsculas difieren entre la aplicación de *Rhizobium* y minúsculas entre las formas de ME utilizadas, según Tukey ($p \leq 0,05$). CV (%) = 5,68; ES (±) = 0,04.

** Significativo al 99 % de confiabilidad.

Fuente: Elaboración propia

La inoculación de las semillas de frijol con *Rhizobium* incrementó el rendimiento del grano, debido al incremento de los parámetros morfológicos, como el PHP y la AP (figuras 2 y 3) y los componentes del rendimiento como el promedio de LP, GL y la masa de 100 granos (figuras 4, 5 y 6). Estos resultados corroboran los criterios expuestos por Díaz et al. (2009), quienes señalan que los ME pueden utilizarse como inoculantes del suelo para reconstruir su equilibrio biológico, mejorar la disponibilidad y asimilación de nutrientes y, de esta manera, favorecer el crecimiento, productividad y protección de las plantas de cultivo. Este efecto benéfico del *Rhizobium* en el incremento de la productividad del frijol fue verificado por González et al. (2012), quienes obtuvieron un incremento de 1,34 t/ha más que las plantas sin inoculación.

En las plantas de frijol tratadas con o sin *Rhizobium*, la aplicación de los ME incrementó el rendimiento del grano, especialmente con el tratamiento con ME asociado S+F, porque aumentó los indicadores evaluados como el PHP, AP, LP, GL y la masa de 100 granos (figuras 2, 3, 4, 5 y 6), comparada con las formas individuales y el tratamiento sin la aplicación de ME. Este hecho fue relatado en plantas de frijol por Calero et al. (2018) y Quintero et al. (2018). Estudios como los de Calero et al. (2016) obtuvieron, con la aplicación combinada de ME con FitoMas-E y con Lebame, incrementos en el rendimiento de 1 t/ha en comparación con el tratamiento control.

Conclusiones

Los resultados mostraron que la inoculación de las semillas de frijol común del cv. Cuba cueto con *Rhizobium* benefició el comportamiento de los indicadores morfológicos y productivos evaluados en relación con las que no fueron inoculadas con este biofertilizante.

Los mayores resultados en la producción de frijol común fueron logrados con la aplicación de ME al surco asociada a la foliar, en comparación con las formas de aplicación al surco y foliar individualizadas al inocular o no las semillas con *Rhizobium*. Los incrementos cuando no se inocularon las semillas fueron de 92,12 % de la producción de hojas, 72,29 % de la altura de las plantas, 81,19 % del promedio de legumbre por planta, 111,27 % del promedio de granos por legumbres, 42,88 % de la masa de 100 granos y 153,23 % del rendimiento del grano en relación con el tratamiento control. Por otra parte, cuando se trataron las semillas los aumentos fueron de 65,85 % de la producción de hojas, 36,50 % de la altura de las plantas, 37,07 % del promedio de legumbres, 44,84 % del promedio de granos por legumbres, 16,41 % de la masa de 100 granos y 100 % del rendimiento del grano en relación con el tratamiento control.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Sucursal de Labiofam y el Laboratorio Provincial de Suelo de Sancti Spiritus por ofrecer gratuitamente los biofertilizantes para el desarrollo de estudio. También agradecen a la Cooperativa de Créditos y Servicios "Mártires de Taguasco" por la disponibilidad de recursos para el acompañamiento del trabajo en campo. Agradecen también a los revisores pares y a los editores de esta revista por sus comentarios, que ayudaron a mejorar este trabajo.

Descargos de responsabilidad

Todos los autores realizaron aportes significativos al documento y declaran que no está considerado para su publicación en ninguna otra revista; asimismo, declaran no tener conflicto de intereses y están de acuerdo con su publicación.

Referencias

- Abdel-Fattah, G. M., Shukry, W. M., Shokr, M. M., & Ahmed, M. A. (2016). Application of mycorrhizal technology for improving yield production of common bean plants. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 4(2), 191-197. doi:10.3126/ijasbt.v4i2.15103.
- Allen, M. E. (1976). *Kolmogorov-Smirnov test for discrete distributions* (tesis de maestría). Naval Postgraduate School, Monterey, California. Recuperado de <https://calhoun.nps.edu/handle/10945/17830>.
- Araújo, A. S., Borges, C. D., Tsai, S. M., Cesarz, S., & Eisenhauer, N. (2014). Soil bacterial diversity in degraded and restored lands of Northeast Brazil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 106(5), 891-899. doi:10.1007/s10482-014-0258-5.
- Araújo, A. S., Cesarz, S., Leite, L. F., Borges, C. D., Tsai, S. M., & Eisenhauer, N. (2013). Soil microbial properties and temporal stability in degraded and restored lands of Northeast Brazil. *Soil Biology and Biochemistry*, 66, 175-181. doi:10.1016/j.soilbio.2013.07.013.
- Barbosa, J. C., & Maldonado-Junior, W. (2015). *Experimentação agrônoma e AgroEstat*: sistema para análises estatísticas de ensaios agrônomicos [software]*. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil.
- Calero, A., Quintero, E., Olivera, D., Pérez, Y., Castro, I., Jiménez, J., & López, E. (2018). Respuesta de dos cultivares de frijol común a la aplicación foliar de microorganismos eficientes. *Cultivos Tropicales*, 39(3), 5-10.
- Calero, A., Pérez, Y., & Pérez, D. (2016). Efecto de diferentes biopreparados combinado con FitoMas-E en el comportamiento agroproductivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Monfragüe Desarrollo Resiliente*, 7(2), 161-176. Recuperado de <https://www.eweb.unex.es/eweb/monfragueresiliente/numero14/Art7.pdf>.
- Díaz, O. A., Montero, D. M., & Lagos, J.A. (2009). Acción de microorganismos eficientes sobre la actividad de intercambio catiónico en plántulas de acacia (*Acacia melanoxylon*) para la recuperación de un suelo del municipio de Mondoñedo, Cundinamarca. *Revista Colombiana Forestal*, 12, 141-160. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/cofo/v12n1/v12n1a10.pdf>.
- Expósito, I. R., & García, I. N. (2011). Comportamiento productivo de cultivares de frijol negro (*Phaseolus vulgaris*, L.) en la Cooperativa de Créditos y Servicios "José Manuel Rodríguez" del Municipio Jesús Menéndez. *Observatorio de la Economía Latinoamericana*, 153, 1-32. Recuperado de https://econpapers.repec.org/article/ervobserv/y_3a2011_3ai_3a153_3al.htm.
- Faure, B., Benítez, R., Rodríguez, E., Grande, O., Torres, M., & Pérez, P. (2014). *Guía Técnica para la producción de frijol común y matz*. La Habana, Cuba: Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical (Inifat).
- Fernando, F., Gepts, P., & López, M. (1986). *Etapas de desarrollo de la planta de frijol común (Phaseolus vulgaris L.)*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).
- González, R. L., Sosa, B. N., & Díaz, R. B. (2012). Efecto de la aplicación de *Rhizobium* y *Mycorrriza* en el crecimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad CC-25-9 negro. *Centro Agrícola*, 39(4), 17-20.
- Hernández, A., Pérez, J. M., Bosch, D., & Castro, N. (2015). *Clasificación de los suelos de Cuba*. La Habana, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA).
- Higa, T. (1994). Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment. *TechnoTrends (Philippines)*, 9(4), 1-5. Recuperado de <https://www.teraganix.com/category-s/1002.htm>.
- Higa, T. (1995). *Studies on purification and recycling of animal waste using effective microorganism (EM)*. Recuperado de <https://www.emtech.org>.
- Kennedy, A. C., & Doran, J. W. (2003). Sustainable agriculture: role of microorganisms. En G. Bitton (Ed.), *Encyclopedia of Environmental Microbiology* (pp. 3116-3126). Nueva York, EE. UU.: Wiley & Sons. doi:10.1002/0471263397.env085.
- López, E., Calero, A., Gómez, Y., Gil, Z., Henderson, D., & Jiménez, J. (2017). Efecto agronómico del biosólido en cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*): control biológico de *Rhizoctonia solani*. *Cultivos Tropicales*, 38(1), 13-23.
- López, E., Gil, Z., Henderson, D., Calero, A., & Jiménez, J. (2017). Uso de efluente de planta de biogás y microorganismos eficientes como biofertilizantes en plantas de cebolla (*Allium cepa* L., cv. Caribe-71). *Cultivos Tropicales*, 38(4), 7-14.
- Marín, M., Mena, J., Chaveli, P., Morán, R., & Pimentel, E. (2013). Interaction among *Tsukamurella paurometabola* C-924 and *Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli* CFH in bean plants. *Acta Agronómica*, 62(1), 52-58.
- Mercante, F. M., Otsubo, A., & Brito, O. R. (2017). New native *Rhizobia* strains for inoculation of common bean in the Brazilian Savanna. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 41, 1-11. doi:10.1590/18069657rbcs20150120.
- Nkot, L. N., Fankem, H., Adamou, S., Ngakou, A., Nwaga, D., & Etoa, F. X. (2015). Abundance of legume nodulating bacteria in soils of diverse land use systems in Cameroon. *Universal Journal of Plant Science*, 3(5), 97-108. doi:10.13189/ujps.2015.030502.
- Nunes, J. S., Araújo, A. S., Nunes, L. A., Lima, L. M., Carneiro, R. F., Salviano, A. A., & Tsai, S. M. (2012). Impact of land degradation on soil microbial biomass and activity in Northeast Brazil. *Pedosphere*, 22(1), 88-95. doi:10.1016/S1002-0160(11)60194-X.
- Olivera, D., Ayala, J., Calero, A., Santana, M., & Hernández, A. (2014). Prácticas agroecológicas en la provincia de Sancti Spiritus, Cuba. Microorganismos eficientes (EM), una tecnología apropiada sobre bases agroecológicas. *Ciencia, Tecnología, Sociedad (CTS) para la construcción de la Agroecología*, 7(1), 77-83. Recuperado de <http://obmts.org/wp-content/uploads/2017/04/livroagroecologiaCTS25-9-2014.pdf>.

- Ouma, E. W., Asango, A. M., Maingi, J., & Njeru, E. M. (2016). Elucidating the potential of native rhizobial isolates to improve biological nitrogen fixation and growth of common bean and soybean in smallholder farming systems of Kenya. *International Journal of Agronomy*, 2016, Article ID 4569241. doi:10.1155/2016/4569241.
- Pedraza, R., Teixeira, K., Fernández, A., García de Salamone, I., Baca, B., Azcón, R., ... Bonilla, R. (2010). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 11(2), 155-164. doi:10.21930/rcta.vol11_num2_art:206.
- Pérez, S. M. (2010). *Efecto de microorganismos aplicados por fertirriego en la disponibilidad de fósforo en dos sistemas de cultivo de banano en la zona bananera del Magdalena* (tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia. Santa Marta, Colombia.
- Ponce, M., Ortiz, R., de la Fé, C., & Moya, C. (2002). Estudio comparativo de nuevas variedades de soya *Glycine max* (L.) Merr. para las condiciones de primavera en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 23(2), 55-58.
- Quintero, E. (1996). *Manejo de algunos factores fitotécnicos en frijol común en condiciones de una agricultura sostenible* (tesis de maestría). Universidad Central de Las Villas. Villa Clara, Cuba.
- Quintero, E., Calero, A., Pérez, Y., & Enríquez, L. (2018). Efecto de diferentes bioestimulantes en el rendimiento del frijol común. *Centro Agrícola*, 45(3), 73-80.
- Quintero, E., Gil, V., Ríos, H., Martínez, M., & Díaz, M. (2006). El fitomejoramiento participativo del frijol y su impacto en la introducción de caracteres positivos a los sistemas agrícolas de Villa Clara. *Centro Agrícola*, 33(3), 13-21.
- Richards, B. N. (1987). *The microbiology of terrestrial ecosystems*. Harlow, Reino Unido: Longman Group UK Ltd.
- Rosas, J. C. (2003). *El cultivo del frijol común en América Tropical*. Zamorano, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana.
- Schad, P. (2016). The International Soil Classification System WRB, Third Edition, 2014. En L. Mueller, A. Sheudshen & F. Eulenstein (Eds), *Novel Methods for Monitoring and Managing Land and Water Resources in Siberia* (pp. 563-571). Cham, Suiza: Springer. doi:10.1007/978-3-319-24409-9_25.
- Sessitsch, A., Howieson, J. G., Perret, X., Antoun, H., & Martínez-Romero, E. (2002). Advances in *Rhizobium* research. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21(4), 323-378. doi:10.1080/0735-260291044278.
- Socorro, M. A., & Martín, D. S. (1989). Frijol. En M. A. Socorro, & D. S. Martín (Eds.), *Granos*. (pp. 1-53). La Habana, Cuba: Editorial Pueblo y Educación.