

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Efecto en campo de la cepa nativa COL6 de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* sobre frijol común cv. Percal en Ecuador

Effect in field of the native strain COL6 of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* on common bean cv. Percal in Ecuador

Klever Iván Granda-Mora¹, Yelenys Alvarado-Capó² y Roldán Torres-Gutiérrez³

¹ Centro de Biotecnología, Universidad Nacional de Loja, Ciudadela Guillermo Falconi, "La Argelia" - PBX: 072547252 - Casilla Letra "S", Loja, Ecuador. CP 110150

² Instituto de Biotecnología de las Plantas, Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas, Carretera a Camajuani km 5,5, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54830

³ Universidad Regional Amazónica IKIAM. Campus Universitario km 7 vía Muyuna. Tena-ECUADOR. CP 150150

E-mail: klever.granda@unl.edu.ec; yelenys@ibp.co.cu; roldan.torres@ikiam.edu.ec

RESUMEN

La inoculación con cepas seleccionadas de *Rhizobium* sobre frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) contribuyen al rendimiento agrícola de esta leguminosa, mejoran la fertilidad del suelo y reducen la utilización de fertilizantes nitrogenados en sistemas agrícolas sostenibles. La investigación tuvo como objetivo determinar el efecto en campo de la cepa nativa *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* COL6 sobre el crecimiento, fijación de N y rendimiento agrícola en frijol común cv. Percal. Se realizó un ensayo en campo donde se evaluaron los parámetros de nodulación, biomasa, fijación de nitrógeno, componentes del rendimiento y rendimiento agrícola. Además, se realizaron análisis del suelo antes y después de la experimentación. Antes de la siembra se formuló un inoculante con la cepa bacteriana. Las semillas de cv. Percal se mezclaron en 250 g del inoculante para 10 kg de semilla y se sembraron manualmente en el suelo. Los resultados concernientes al crecimiento, fijación de N (% N total) y rendimiento agrícola, demostraron el efecto positivo de la inoculación con la cepa nativa, comparable con la fertilización química. El aumento en el rendimiento agrícola con la aplicación del inoculante bacteriano y la fertilización química respecto al control fue de 62 y 64 % respectivamente. Los resultados de los análisis de suelo fueron variables en proporción a las características físico-químicas iniciales. Los resultados promisorios del uso del inoculante bacteriano y la estimulación efectiva en frijol común, abren las puertas para su uso potencial en suelos del Ecuador y con ello, permiten que se puedan alcanzar los rendimientos potenciales deseados.

Palabras clave: inoculación, inoculante, *Phaseolus vulgaris*, rendimiento

ABSTRACT

Inoculation with selected *Rhizobium* strains of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) contributes to the agricultural yield of this legume, improves soil fertility and reduces the use of nitrogen fertilizers in sustainable agricultural systems. The research aimed to determine the

effect in field of the native strain *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* COL6 on growth, N fixation and agricultural yield in common bean cv. Percal. A field trial was carried out to evaluate the parameters of nodulation, biomass, nitrogen fixation, yield components and agricultural yield in common bean. In addition, soil analyzes were performed before and after experimentation. Prior to planting an inoculant was formulated with the strain COL6. The seeds of cv. Percal were mixed in 250 g inoculant per 10 kg of seed and it was sown manually in the soil. The results of growth, N fixation (total N %) and agricultural yield demonstrated the positive effect of inoculation with the bacterial inoculant comparable with chemical fertilizers. The increase in agricultural yield with bacterial inoculant application and chemical fertilization with respect to control was 62 and 64 %, respectively. The results of the soil analysis were variable with respect to the initial physical-chemical characteristics. The promising results of bacterial inoculant use and the effective stimulation in common bean, open the doors for its potential use in Ecuadorian soils and with that the desired potential yield can be reached.

Keywords: inoculation, inoculant, *Phaseolus vulgaris*, yield

INTRODUCCIÓN

Es conocida la importancia del uso de fertilizantes químicos para reponer los nutrientes removidos del suelo a través de la cosecha de cultivos en los procesos agrícolas. Estos agroquímicos contribuyen de manera significativa a la productividad agrícola en suelos pobres (Hardarson y Atkins, 2003). Sin embargo, el uso indiscriminado de estos productos ha generado contaminación en los suelos, erosión, baja fertilidad y pérdida de la diversidad biológica de muchas áreas agrícolas y no agrícolas, a nivel global (Sulieman y Tran, 2015).

La creciente aplicación de fertilizantes se debe principalmente a la ineficiencia del aprovechamiento de los fertilizantes químicos por las plantas. Los sistemas agrícolas basados en cereales y leguminosas aprovechan tan sólo el 50 % o menos de las dosis químicas aplicadas, independientemente de la fuente de nitrógeno (Adesemoye et al., 2009).

La provincia de Loja, situada en el sur del Ecuador no está exenta de esta problemática y la agricultura se desarrolla con la utilización de grandes cantidades de fertilizantes para reponer los nutrientes removidos del suelo en cultivos importantes para los lojanos, tales como: frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.) y maíz (*Zea mays* L.) (Instituto Nacional de Estadísticas y Censo, 2014).

Desde el año 2000 hasta la fecha estos cultivos han tenido un aumento importante, no solo de la superficie plantada, sino en su productividad y no así para el cultivo de frijol común. En

esta última década, el maíz por ejemplo, en grano seco (en el Ecuador) aumentó en 188 %, debido principalmente al uso de semillas de alto rendimiento, al incremento de los precios internacionales y a su alta demanda por parte de la agroindustria. De igual manera, en el año 2013, la producción nacional de papa se incrementó un 18,93 %, debido principalmente a la creciente demanda por este producto y por ser considerado estratégico para la seguridad alimentaria del país (SINAGAP, 2014).

Mientras, para el cultivo del frijol sucede lo contrario, en el año 2000 la superficie sembrada ocupaba 105 127 ha con una producción de 18 051 t y para el año 2014 llegaba solo a 29 658 ha con una producción de 12 607 t (SINAGAP, 2014) mostrando una tendencia a la disminución de este cultivo. Tanto el área cosechada como sus producciones son las más bajas durante ese periodo, al igual que sus rendimientos agrícolas, los cuales alcanzaron un promedio de 0,30 t ha⁻¹ es decir, menos del 50 % de la producción internacional (Instituto Nacional de Estadísticas y Censo, 2014). Paradójicamente, de los tres cultivos mencionados, el frijol común es el único capaz de devolver al suelo y a la atmósfera niveles de nitrógeno que contribuyan a la estabilidad de este elemento en la biosfera.

Desde esta perspectiva, la producción con métodos sostenibles basados en prácticas, técnicas ecológicas y la utilización de bioinoculantes a base de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, tales como las pertenecientes al género *Rhizobium* pueden contribuir a incrementar los rendimientos agrícolas de *P. vulgaris*.

Los bioinoculantes constituyen una alternativa viable para reducir costos de producción e impactos ambientales negativos asociados a la fertilización química. Su uso permite incrementar el valor agregado y el rendimiento de los cultivos de 20 a 40 %, mejorando a la par la fertilidad del suelo (Hungria y Mendes, 2015).

Durante los estudios previos que fueron realizados antes de esta investigación se demostró el potencial de cepas nativas de *Rhizobium* a nivel de casa de cultivo para su utilización como biofertilizantes, al elevar las tasas de fijación de nitrógeno en frijol común cv. Mantequilla en el sur de Ecuador (Granda-Mora *et al.*, 2016). Las cepas de mejores resultados fueron *R. mesoamericanum* NAM1, *R. leguminosarum* bv. *viciae* COL6 y *R. etli* PIN 1. Sin embargo, para proponer y validar su uso como bioinoculantes se requieren estudios adicionales a nivel de campo y con otros cultivares.

Atendiendo a lo anterior y para dar continuidad a estos estudios, la presente investigación se propuso determinar el efecto en campo de la cepa nativa *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* COL6 en el cultivo de frijol cv. Percal al sur del Ecuador.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo a nivel de campo en la estación experimental “La Argelia”, perteneciente a la Universidad Nacional de Loja, Ecuador.

Material vegetal

Se emplearon semillas del cultivar de frijol cv. Percal.

Diseño del experimento y condiciones de cultivo

Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar con cuatro réplicas por tratamiento que fueron la inoculación de la cepa bacteriana, un tratamiento con fertilización química (urea) a razón de 60 kg ha⁻¹ al momento de la siembra y un tratamiento control.

Para la preparación del suelo se utilizó un tractor mecánico John Deer. Se realizaron dos pases de arado, cruza y surcado en un suelo de tipo Entisol, de textura franco-arcillosa. Cada parcela tuvo un área de 25 m² y 1 m entre parcelas. La distancia de siembra fue de 0,25 m entre plantas y 0,40 m entre surcos. Además,

fueron sembradas 20 semillas por surco. La siembra fue manual en un suelo de rotación con papa (*Solanum tuberosum* L.).

Se aplicó riego por gravedad cuando fue necesario, para evitar el estrés en las plantas. El control de malezas se realizó de forma manual a los 20 y 35 días después la siembra. Las enfermedades en el cultivo, como Mancha angular, ocasionada por *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) y Mildiú polvoso (*Erysiphe polygoni* DC) se controlaron con fungicidas de amplio espectro Benomil y Azufre, en dosis de 250 g ha⁻¹ y 600 mL ha⁻¹, respectivamente. La cosecha se realizó en vaina seca, cuando las plantas alcanzaron la madurez fisiológica (140-150 días después de la siembra).

Preparación del inóculo e inoculación en las semillas

Para preparar el inóculo se emplearon Erlenmeyer que contenían 250 mL de medio de cultivo líquido Extracto de Levadura Manitol (ELM). El pH del medio de cultivo se ajustó con HCl o NaOH (1 molar) hasta los niveles deseados antes de la esterilización en autoclave. Los Erlenmeyer se inocularon con 10 mL de un cultivo, de la cepa bacteriana COL6 crecido en similar medio de cultivo durante 24 h a 30 °C en incubadora giratoria (TECHNE TSI 500, USA) a 250 rpm y se incubaron en similares condiciones de cultivo. La cepa COL6 fue aislada de nódulos de frijol común, de un suelo tipo Inceptisol, de textura franco-arcillosa, perteneciente al municipio de Calvas provincia de Loja, Ecuador y seleccionada para la presente investigación a partir de los resultados obtenidos durante los estudios previos en casa de cultivo (Granda-Mora *et al.*, 2016) y campo. Luego de transcurrido el tiempo para el crecimiento bacteriano, se ajustó el cultivo a títulos de 108 UFC mL⁻¹ (DO595). Del inóculo final se tomaron 100 mL (108 UFC mL⁻¹) y depositaron dentro de bolsas de polietileno, con 250 g de turba previamente esterilizada. Esta cantidad de inóculo fue suficiente para peletizar 10 kg de semilla de frijol. Las semillas peletizadas se secaron al aire libre y bajo sombra, fueron sembradas manualmente.

Evaluación de nodulación y crecimiento

Las evaluaciones se realizaron a los 21 y 42 días después de la siembra (DDS). Se tomaron cinco plantas al azar de cada una de las réplicas de los diferentes tratamientos y estas fueron llevadas al

laboratorio de Microbiología vegetal para evaluar las variables: número de nódulos totales, masa seca de nódulos (g), masa seca de raíz (g) y masa seca del follaje (g). En ambos casos la masa seca se determinó después de 72 h en estufa a 70 °C. El diámetro y coloración interna de los nódulos (leghemoglobina) fue observado al azar y no se presentan como resultados. Además, se realizó el análisis de N total (%) en las plantas por el método de Kjeldahl (Bradstreet, 1954).

Evaluación de rendimiento

Al final del ciclo del cultivo se evaluaron los componentes de rendimiento de las plantas, mediante la colecta de cinco plantas al azar por réplica y tratamiento. Se analizaron el número de vainas por planta (NVP), la masa fresca de vainas por planta (MVP) (g), el número de semillas por planta (NSP), el número de semillas por vaina (NSV) y la masa seca de semillas por planta (MSP) (g). El rendimiento agrícola en semilla seca se estimó mediante el peso de las semillas de 40 plantas de cada réplica y tratamiento (Hamaoui et al., 2001).

Análisis del suelo

Se realizó un análisis del suelo con el objetivo de determinar las propiedades físicas y químicas del suelo antes y después de la experimentación. Para eso fueron tomadas muestras de suelo al azar en forma de zigzag a una profundidad de 20 cm, donde se inocularon las bacterias y suelo inicialmente, antes y después del ensayo. Los análisis de suelo se realizaron siguiendo los protocolos descritos en el laboratorio certificado de AGROCALIDAD, Ecuador. Al realizar el análisis físico se tomaron en cuenta los siguientes parámetros: textura en % (arena, limo y arcilla) y clase textural; mientras que en el análisis químico se analizaron los parámetros pH, conductividad eléctrica (CE) (ds mL^{-1}), porcentaje contenido de materia orgánica (% MO), contenido de nitrógeno (% N), contenido de fósforo (P) (ppm), potasio (K) (cmol kg^{-1}), calcio (Ca) (cmol kg^{-1}), magnesio (Mg) (cmol kg^{-1}), hierro (Fe) (ppm), cobre (Cu) (ppm), manganeso (Mn)(ppm) y cinc (Zn) (ppm).

Análisis estadístico

El procesamiento estadístico de los datos se realizó con el paquete estadístico *IBM SPSS Statistic* versión 22 para Windows. A todos los casos se les comprobaron los supuestos de normalidad por la prueba de Kolmogorov-Smirnov

y homogeneidad de varianzas por la prueba de Levene. Cuando los datos no cumplieron con los supuestos se emplearon pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis complementada con la prueba de Mann Whitney para ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La respuesta de frijol cv. Percal a la formación de nódulos mediante la inoculación de la cepa bacteriana *R. leguminosarum* bv. *viciae* COL6 fue significativamente superior al resto de los tratamientos, a los 21 días después de la siembra. El número de nódulos (Figura 1) estuvo en correspondencia con lo referido en trabajos realizados por otros autores al realizar ensayos con cepas de *Rhizobium*. Por ejemplo, Trabelsi et al. (2011) y Ahmed et al. (2016) obtuvieron 27 y 28 nódulos por planta, respectivamente.

Los valores positivos en la nodulación con la inoculación de la cepa bacteriana pudieron estar dados por la predisposición de ambos simbioses en establecer un proceso simbiótico eficaz. Todos los casos tuvieron nódulos cerca de la corona de la raíz, lo cual es un indicativo de la inoculación exitosa en la semilla (Madsen et al., 2011). Además, se sabe que los nódulos formados sobre la raíz principal de la planta, cercanos a la superficie, pueden fijar hasta 10 veces más nitrógeno que los de las raíces laterales (Wolyn et al., 1989). Por tanto, la nodulación y fijación de nitrógeno efectiva, sólo pueden darse si se cumplen las condiciones adecuadas. Por eso la cantidad y tipo de rizobio inoculado es importante.

Aunque los resultados del número de nódulos por planta obtenido con la inoculación de la cepa COL6 en el cultivar Mantequilla conseguidos por Granda-Mora et al. (2016) fueron superiores, se constató la efectividad de esta cepa para producir incrementos significativos de esta variable respecto al control, también en el cv. Percal. Una mayor cantidad de nódulos en la planta posibilita aumentar la asimilación de N_2 atmosférico, aunque para cada combinación leguminosa rizobios el nivel óptimo de nodulación es diferente (Haag et al., 2013). Además, la coloración interna de los nódulos observados en cv. Percal indica la capacidad de los nódulos para fijar nitrógeno atmosférico. Varios estudios corroboraron que la inoculación exitosa en leguminosas a base de bioinoculantes con cepas de *Rhizobium* incrementaron la nodulación y por consiguiente el efecto favorable del crecimiento de las plantas (Hungria et al., 2003).

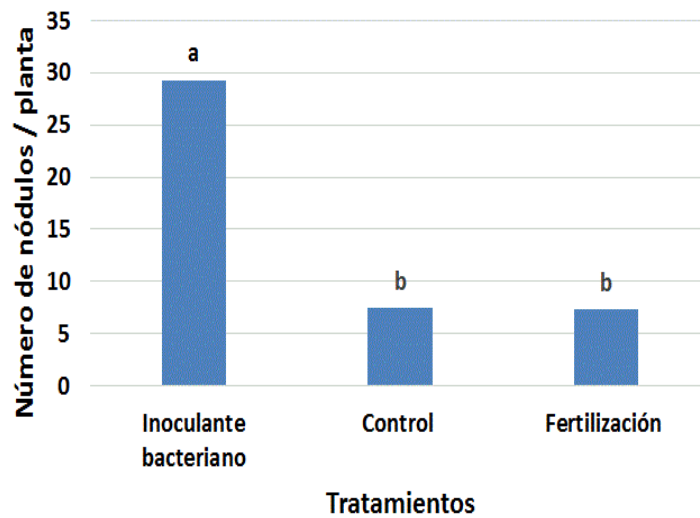


Figura 1. Número de nódulos en plantas de frijol común cv. Percal sometidas a diferentes tratamientos
 Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre los rangos medios según la prueba de Kruskal Wallis/Mann Whitney para ($p \leq 0,05$), $n=20$

La presencia de cepas nativas propias del lugar fue evidente por la presencia de nódulos en las plantas no inoculadas. Sin embargo, la formación y número de nódulos fue bajo en relación a la inoculación con la cepa bacteriana.

La biomasa seca nodular se correspondió con el número de nódulos lo que permitió el incremento entre 70 y 83 % relativo al tratamiento control y la fertilización química (Figura 2). La

especificidad del hospedero junto a la interacción planta bacteria, son esenciales para que ocurra una nodulación exitosa, y por consiguiente, el incremento de la biomasa nodular (Haag *et al.*, 2013). Normalmente, la biomasa nodular es un indicativo de la eficiencia en la interacción macro y microsimbionte correlacionado con la proporción de nitrógeno fijado por plantas (van Hameren *et al.*, 2013).

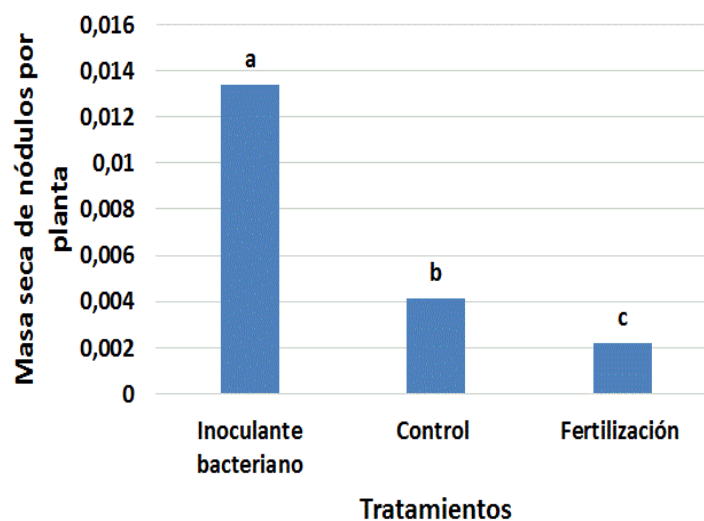


Figura 2. Masa seca de nódulos en plantas de frijol común cv. Percal sometidas a diferentes tratamientos
 Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre los rangos medios según la prueba de Kruskal Wallis/Mann Whitney para ($p \leq 0,05$), $n=20$

El efecto de la fertilización química y la inoculación con la cepa bacteriana sobre el crecimiento tanto en la masa seca de la raíz (MSR) como en la masa seca del follaje (MSF) fueron significativos respecto al control (Tabla 1). Los contenidos de materia seca en el tratamiento con el inoculante bacteriano pueden estar asociados a una elevada proporción de compuestos de N que se transfirieron de los nódulos de la raíz al follaje y por tanto al resto de la planta (Groppa *et al.*, 1998).

Los componentes del rendimiento agrícola en el tratamiento con el inoculante bacteriano y la fertilización química fueron significativamente superiores al tratamiento control (Tabla 2). A partir de los resultados se observó el efecto positivo de la inoculación biológica como una alternativa válida para sustituir a los fertilizantes químicos (Hungria *et al.*, 2003).

El rendimiento agrícola estimado fue significativamente mayor al aplicar el inoculante bacteriano. Se obtuvieron 1,77 t ha⁻¹ con la inoculación biológica, lo que estuvo en correspondencia con lo alcanzado en el tratamiento de fertilización química (Figura 3).

Los valores de contenido de N total (%) en las plantas de frijol común cv. Percal (Figura 4) muestran una tendencia similar al resto de los resultados con valores numéricamente mayores que el control tanto para la fertilización química como en la inoculación de la cepa bacteriana. La diferencia entre estos dos últimos tratamientos fue de 1,43 %.

Los valores de N obtenidos con el inoculante se correspondieron con la biomasa nodular y la masa seca de la raíz, los que condujeron al aumento de las tasas de N en las plantas. Esto puede deberse a la nodulación temprana y al número de nódulos en las raíces de las plantas significativamente mayor que en las plantas sin inocular, lo que viabiliza el incremento de la fijación de N₂ (van Hameren *et al.*, 2013). Este porcentaje de N fijado por las plantas contribuye en gran medida al rendimiento agrícola del cultivar. Trabajos similares en soya (*Glycine max* L.) hicieron referencia a que el contenido de N total asimilado por las plantas estuvieron estrechamente relacionados con el rendimiento (Hungria y Mendes, 2015).

Tabla 1. Efecto de diferentes tratamientos sobre el crecimiento de plantas de frijol cv. Percal

Tratamientos	21 DDS				42 DDS			
	MSR (g)		MSF (g)		MSR (g)		MSF (g)	
	MR	RM	MR	RM	MR	RM	MR	RM
Inoculante bacteriano	0,21	35,85 ^a	0,89	36,00 ^a	0,42	35,08 ^a	3,45	32,38 ^a
Control	0,14	22,23 ^b	0,71	20,33 ^b	0,29	20,70 ^b	1,89	18,00 ^b
Fertilización química	0,22	37,43 ^a	0,91	38,13 ^a	0,45	37,78 ^a	4,72	41,13 ^a

Leyenda: **MSR**-masa seca de raíz, **MSF**-masa seca del follaje, **MR**-medias reales, **RM**-rangos medios
Valores con letras diferentes para los tratamientos en cada columna indican diferencias significativas entre los rangos medios según la prueba de Kruskal Wallis/Mann Whitney para (p≤0,05) n=20

Tabla 2. Componentes del rendimiento agrícola en plantas de frijol común cv. Percal sometidas a diferentes tratamientos

Tratamientos	NVP		MVP (g)		NSP		NSV		MSP (g)	
	MR	RM	MR	RM	MR	RM	MR	RM	MR	RM
Inoculante bacteriano	6,05	35,65 ^a	18,74	39,00 ^a	17,70	37,33 ^a	3,02	35,28 ^a	12,69	40,65 ^a
Control	3,55	12,78 ^b	5,59	10,70 ^b	7,64	11,03 ^b	2,22	16,55 ^b	3,73	10,95 ^b
Fertilización química	7,40	43,08 ^a	21,02	41,80 ^a	21,15	43,15 ^a	3,16	39,68 ^a	13,92	39,90 ^a

Leyenda: **NVP**-número de vainas por planta, **MVP**-masa fresca de vainas por planta, **NSP**-número de semillas por planta, **NSV**-número de semillas por vaina, **MSP**-masa seca de semillas por planta. **MR**-medias reales, **RM**-rangos medios
Valores con letras diferentes para los tratamientos en cada columna indican diferencias significativas entre los rangos medios según la prueba de Kruskal Wallis/Mann Whitney para (p≤0,05) n=20

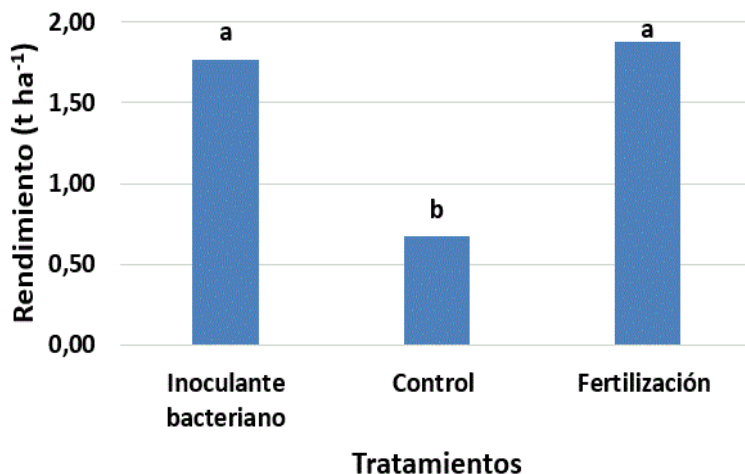


Figura 3. Rendimiento agrícola estimado en t ha⁻¹ de frijol común cv. Percal. Valores con letras diferentes para los tratamientos indican diferencias significativas según la prueba de Tukey HSD (p≤0,05) (n=40 plantas por réplica)

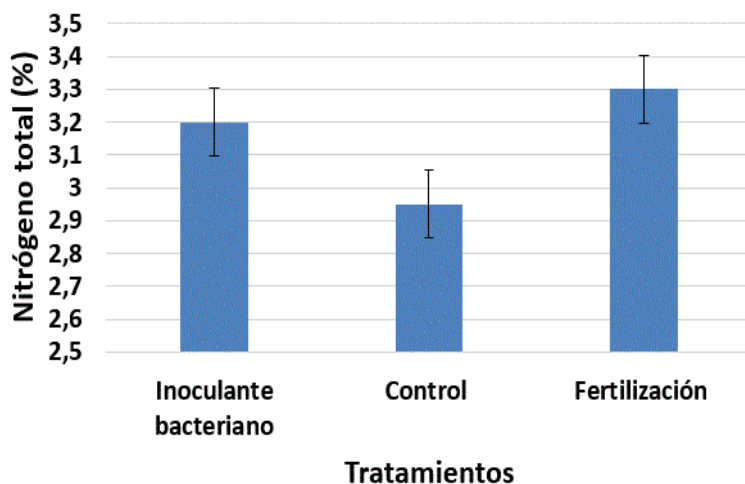


Figura 4. Nitrógeno Total en frijol cv. Percal

*Los valores medios del nitrógeno total son expresados en porcentaje

Los análisis de suelo demostraron que las propiedades físicas y químicas se vieron modificadas positivamente en el contenido de materia orgánica, N, P y K al final del ensayo (Tabla 3). El pH, uno de los parámetros más importantes por su variación en el suelo (que afecta las fases iniciales de la simbiosis, incluyendo la señalización entre las raíces de la leguminosa y las bacterias simbióticas (Suliman y Tran, 2015) no presentó modificación alguna, mostrando ser ligeramente ácido en todos los casos.

- Análisis 1: suelo antes de la inoculación con bacterias
- Análisis 2: suelo después de la

inoculación con bacterias Abreviaturas. Suelo de textura: Franco (Fo), Arcilloso (Ac)

La materia orgánica inicialmente se mantuvo baja y al final del ensayo se elevó ligeramente hasta 3,3 %. El N se incrementó a 0,17 % mientras que el fósforo y el potasio fueron variables teniendo un incremento de 38 y 60 % en relación con el suelo inicial. Según Fiedls (2004) la productividad y dinámica de los ecosistemas terrestres está limitada a la disponibilidad de estos nutrientes. Para las plantas la disponibilidad de nitrógeno (N) es la principal limitante en la productividad de los cultivos que, junto con el fósforo (P) y

Tabla 3. Análisis de suelo en el experimento de campo “La Argelia”

Determinación	Análisis 1		Análisis 2	
	Suelo inicial	Control	Inoculado	
Clase textural	Fo-Ac	Fo-Ac	Fo-Ac	
pH	5,98	5,93	6,08	
CE (ds mL ⁻¹)	1,00	1,16	1,03	
MO (%)	2,54	2,36	3,30	
N total (%)	0,13	0,12	0,17	
P (ppm)	30,60	37,1	49,5	
K (cmol kg ⁻¹)	0,22	0,36	0,60	
Ca (cmol kg ⁻¹)	5,77	5,89	6,69	
Mg (cmol kg ⁻¹)	1,62	1,61	2,38	
Fe (ppm)	327,50	372,70	215,5	
Mn (ppm)	23,51	26,82	35,20	
Cu (ppm)	4,21	4,28	3,69	
Zn (ppm)	1,91	>1,60	4,62	

potasio (K), determinan el crecimiento vegetal. La disponibilidad de estos elementos en los suelos, se debe considerar desde los diferentes compartimientos orgánicos y minerales, y su interacción con la biomasa microbiana (Nannipieri y Eldor, 2009). Por ello, las diferentes formas de vida que participan en los procesos que se llevan a cabo en el suelo, las comunidades microbianas poseen un papel principal (Madsen, 2011), de ellas dependen funciones como hacer disponibles los nutrientes para sí mismas y para otras formas de vida como las plantas, dinámica esencial para el mantenimiento de los ciclos biogeoquímicos, especialmente del N, P y C. Por ello, el aporte de microorganismos al suelo es fundamental para el reciclaje de nutrientes, la fertilidad y la productividad vegetal. Finalmente, los otros valores de Ca, Mn y Cu, fueron muy similares antes y después del ensayo.

CONCLUSIONES

La aplicación de un inoculante bacteriano a base de la cepa nativa *R. leguminosarum* bv. *viciae* COL6 en frijol común cv. Percal permitió incrementar significativamente el crecimiento y rendimiento agrícola del cultivo, lo que validó su uso potencial en esta leguminosa como una alternativa para sustituir fertilizantes químicos.

BIBLIOGRAFÍA

ADESEMOYE, A.O., TORBERT, H.A. y KLOPPER, J.W. Plant growth-promoting

rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microb. Ecol.*, 58: 921-929, 2009.

AHMED, I., KHAN, M.A., AHMED, N., KHAN, N., KHAN, S. y MARWAT, F.Y.S. Influence of Rhizobium inoculation nodules, growth and yield of French beans cultivars. *International Journal of Bioscience*, 9 (6): 226-233, 2016.

BRADSTREET, R.B. The Kjeldahl method for organic nitrogen. *Anal. Chem.*, 26 (1): 185-187, 1954.

INSTITUTO NACIONAL de ESTADÍSTICAS y CENSO. Encuesta de Superficie y Producción - Agropecuaria - Continua (BBD) (ESPAC). 2014. En sitio web: http://www.inec.gob.ec/estadisticas/?option=com_content&view=article&id=103&Itemid=75 Consultado el 14/12/2016.

FIEDLS, S. Global Nitrogen: Cycling out of Control. *Environmental Health Perspectives*, 112: 556-563, 2004.

GRANDA-MORA, K.I., NÁPOLES, M.C., ROBLES, A.R., ALVARADO-CAPÓ, Y. y TORRES-GUTIÉRREZ, R. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* cv. Mantequilla a la inoculación de cepas de *Rhizobium* nativas de Ecuador en casas de cultivo. *Centro Agrícola*, 43 (4): 49-56, 2016.

- GROPPA, M.D., ZAWOZNIK, M.S. y TOMARO, M.L. Effect of co-inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* on soy bean plants. *Eur. J. Soil Biol.*, 34: 75-80, 1998.
- HAAG, A.F., ARNOLD, M.F.F., MYKA, K.K., KERSCHER, B., DALLANGELO, S. (et al.). Molecular insight into bacteroid development during Rhizobium-legume symbiosis. *FEMS Microbiol. Rev.*, 37: 364-383, 2013.
- HAMAOU, B., ABBADI, J.M., BURDMAN, S., RASHID, A., SARIG, S., OKON, Y. Effects on inoculation with *Azospirillum brasilense* on chickpeas (*Cicer arietum*) and faba beans (*Vicia faba*) under different growth conditions. *Agron*, 21: 553-560, 2001.
- HARDARSON, G. y ATKINS, C. Optimizing biological N₂ fixation by legumes in farming systems. *Plant Soil*, 252: 41-54, 2003.
- HUNGRÍA, M., CAMPOS, R.J. y MENDES, I.C. Benefits of inoculation of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. *Biology and Fertility of Soils*, 39: 88-93, 2003.
- HUNGRIA, M. and Mendes, I. C. Nitrogen Fixation with Soybean: The Perfect Symbiosis? In: de Bruijn, F.J. Biological Nitrogen Fixation. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA. 2015. doi: 10.1002/9781119053095.ch99.
- MADSEN, E.L. Microorganisms and their roles in fundamental biogeochemical cycles. *Current opinion in biotechnology*, 22 (3): 456-464, 2011.
- NANNIPIERI, P. y ELDOR, P. The chemical and functional characterization of soil N and its biotic components. *Soil Biology and Biochemistry*, 41 (12): 2357-2369, 2009.
- SINAGAP (Sistema de Información Nacional de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca). Estadísticas Agropecuarias 2014. En sitio web: <http://sinagap.agricultura.gob.ec/ano2014bpi-agroq/descargables-2014> Consultado el 14/12/2016.
- SULIEMAN, S. y TRAN, L.S. Legume Nitrogen Fixation in a Changing Environment. Springer International Publishing Switzerland, 2015, 136 p. ISBN 978-3-319-06212-9. DOI 10.1007/978-3-319-06212-9.
- TRABELSI, D., MENGONI, A., AMMAR, H. B. y MHAMDI, R. Effect of on-field inoculation of *Phaseolus vulgaris* with rhizobia on soil bacterial communities. *FEMS microbiology ecology*, 77 (1): 211-222, 2011.
- VAN HAMEREN, B., HAYASHI, S., GRESSHOFF, P.M. y Ferguson, B.J. Advances in the identification of novel factors required in soybean nodulation, a process critical to sustainable agriculture and food security. *J. Plant Biol. Soil Health*, 1 (1): 6, 2013.
- WOLYN, D.J., ATTEWELL, J., LUDDEN P.W. y BLISS, F.A. Indirect measures of N₂ fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under field conditions: the role of lateral root nodules. *Plant Soil*, 113: 181-187, 1989.

Recibido el 24 de marzo de 2016 y aceptado el 10 de noviembre de 2016