



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución - 4.0 Internacional \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Vea una copia de esta licencia en <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>





**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

Tesis

**Efecto de la inoculación de cepas de *Rhizobium* eficientes en la fijación biológica de nitrógeno sobre los parámetros de rendimiento de *Phaseolus vulgaris* “frejol común” var. panamito bajo condiciones de campo en el sector Aucaloma**

Para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo

**Autor:**

Jean Claude Rodríguez Peralta

<https://orcid.org/0009-0001-5370-6969>

**Asesor:**

Blgo. Dr. Winston Franz Ríos Ruiz

<https://orcid.org/0000-0002-6513-3379>

Tarapoto, Perú

2022



**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

Tesis

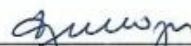
**Efecto de la inoculación de cepas de *Rhizobium* eficientes en la fijación biológica de nitrógeno sobre los parámetros de rendimiento de *Phaseolus vulgaris* “frejol común” var. panamito bajo condiciones de campo en el sector Aucaloma**


Para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo

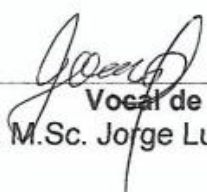
**Autor:**

Jean Claude Rodríguez Peralta

Sustentado y aprobado el 25 de noviembre de 2022, por los jurados:

  
Presidente de Jurado  
Ing Dr. Carlos Rengifo Saavedra

  
Secretario de Jurado  
Ing. Dr. Agustín Cerna Mendoza

  
Vocal de Jurado  
Ing. M.Sc. Jorge Luis Peláez Rivera

  
Asesor  
Bigo. Dr. Winston Franz Ríos Ruiz



## ACTA DE SUSTENTACIÓN VIRTUAL

### Para optar el Título de Ingeniero Agrónomo Modalidad Informe de Tesis

Mediante emisión video conferencia vía plataforma Zoom UNSM, a las 10:00 horas, del día 25 del mes de noviembre del año dos mil veintidós, en virtud a la DIRECTIVA N°01-2020-UNSM-T "Sustentación de Tesis de Pregrado según la Modalidad No Presencial en el Marco de la Emergencia Nacional por la COVID – 19, En la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNSM, aprobado con Resolución N° 266-2021-UNSM/CU-R, de fecha 15/03/2021, se reunió el Jurado de Tesis, integrado por:

**PRESIDENTE** : Dr. Carlos Rengifo Saavedra  
**SECRETARIO** : Dr. Agustín Cerna Mendoza  
**MIEMBRO** : Ing. M. Sc. Jorge Luis Peláez Rivera  
**ASESOR** : Dr. Winston Franz Rios Ruiz

Para evaluar el Informe de Tesis titulado: "Efecto de la inoculación de cepas de *Rhizobium* eficientes en la fijación biológica de nitrógeno sobre los parámetros de rendimiento de *Phaseolus vulgaris* "frejol común" var. Panamito bajo condiciones de campo en el sector Aucaloma", Presentado por el Bachiller en Agronomía: **JEAN CALUDE RODRÍGUEZ PERALTA**.

Los Miembros del Jurado de Informe de Tesis, después de haber observado la sustentación virtual, las respuestas a las preguntas formuladas y terminada la réplica, luego de debatir entre sí, reservada y libremente lo declaran **aprobado** con el calificativo de **MUY BUENO**, en fe de lo cual se firmó la presente acta, siendo las 12:26 horas del mismo día, dándose por terminado el acto de sustentación.

  
Dr. Carlos Rengifo Saavedra  
PRESIDENTE

  
Dr. Agustín Cerna Mendoza  
SECRETARIO

  
Ing. M. Sc. Jorge Luis Peláez Rivera  
MIEMBRO

  
Dr. Winston Franz Rios Ruiz  
ASESOR

  
Jean Claude Rodríguez Peralta  
SUSTENTANTE

RECIBIDO POR: .....  
DNI N.º ..... FECHA: 25 de noviembre de 2022

## Declaratoria de autenticidad


Jean Claude Rodríguez Peralta, con DNI N° 72416705, bachiller de la Escuela profesional de Agronomía, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Martín, autor de la tesis titulada: **“Efecto de la inoculación de cepas de *Rhizobium* eficientes en la fijación biológica de nitrógeno sobre los parámetros de rendimiento de *Phaseolus vulgaris* “frijol común” var. panamito bajo condiciones de campo en el sector Aucaloma”**

Declaro bajo juramento que:

1. La tesis presentada es de mi autoría
2. La redacción fue realizada respetando las citas y referencias de las fuentes bibliográficas consultadas.
3. Toda la información que contiene la tesis no ha sido auto plagiada.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido alterados ni copiados, por tanto, la información de esta investigación debe considerarse como aporte a la realidad investigada.

Por lo antes mencionado, asumo bajo responsabilidad las consecuencias que deriven de mi accionar, sometiéndome a las leyes de nuestro país y normas vigentes de la Universidad Nacional de San Martín.

Tarapoto, 25 de noviembre de 2022



Jean Claude Rodríguez Peralta  
DNI: 72416705

## Ficha de identificación

<p><b>Título del proyecto</b></p> <p>“Efecto de la inoculación de cepas de <i>Rhizobium</i> eficientes en la fijación biológica de nitrógeno sobre los parámetros de rendimiento de <i>Phaseolus vulgaris</i> “frejol comun” var. panamito bajo condiciones de campo en el sector Aucaloma”</p>	<p><b>Área de investigación:</b> Microbiología Agrícola</p> <p><b>Línea de investigación:</b> Gestión Integral y sostenible de los recursos naturales</p> <p><b>Sublínea de investigación:</b> Manejo sostenible de suelos y cultivos</p> <p><b>Grupo de investigación</b> (indicar resolución):</p> <p><b>Tipo de investigación:</b></p> <p>Básica <input checked="" type="checkbox"/>, Aplicada <input type="checkbox"/>, Desarrollo experimental <input type="checkbox"/></p>
<p><b>Autor:</b></p> <p>Jean Claude Rodríguez Peralta</p>	<p>Facultad de Ciencias Agrarias</p> <p>Escuela Profesional de Agronomía</p> <p><a href="https://orcid.org/0009-0001-5370-6969">https://orcid.org/0009-0001-5370-6969</a></p>
<p><b>Asesor:</b></p> <p>Blgo. Dr. Winston Franz Ríos Ruiz</p>	<p><b>Dependencia local de soporte:</b></p> <p>Facultad de Ciencias Agrarias</p> <p>Escuela Profesional de Agronomía</p> <p>Unidad o Laboratorio Microbiología Agrícola</p> <p><a href="https://orcid.org/0000-0002-6513-3379">https://orcid.org/0000-0002-6513-3379</a></p>

## **Dedicatoria**

A Dios, por todo.

A mi esposa Luz Elizabeth Valdiviezo Saavedra, mis hijas Alessia y Fara, a mi mamá Elena Justa Peralta Ruíz y a mi hermano Rory Rodríguez Peralta, quienes son el motivo para poder llegar a esta parte de mi formación profesional. Los amos.

A mis amigos y otros que me dieron su ayuda incondicional, además por los buenos momentos que compartimos durante el tiempo que demoró terminar nuestra carrera.

**Jean Claude**

## **Agradecimiento**

Agradezco al Blgo. Dr. Winston Franz Ríos Ruíz, asesor de esta tesis, por su presencia incondicional, sus apreciados y relevantes aportes, críticas, comentarios y sugerencias durante el desarrollo de este estudio.

Al Blgo. Renzo Alfredo Valdéz Núñez co-asesor de este trabajo, por las facilidades otorgadas, su valiosa orientación y apoyo que brindó durante el tiempo que duró la ejecución de este proyecto de investigación.

A la Universidad Nacional de San Martín y a los docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias que contribuyeron en la formación de mi carrera profesional.

Al Instituto de Investigación y Desarrollo de la Universidad Nacional de San Martín, por el financiamiento otorgado a este trabajo.

A mis padres, esposa, amigos que me impulsaron a culminar con este reto en mi vida.

**A todos ellos, muchas gracias.**



## Índice

Ficha de identificación .....	6
Dedicatoria .....	7
Agradecimiento.....	8
Índice.....	9
Índice de figuras .....	11
Listado de siglas o abreviaturas .....	11
RESUMEN .....	13
ABSTRACT .....	14
CAPITULO I INTRODUCCIÓN A LA INVESTIGACION.....	15
CAPÍTULO II MARCO TEORICO .....	16
2.2. Fundamentos teóricos.....	18
2.2.1. Generalidades del cultivo de frejol .....	18
2.2.3. Inoculación de leguminosas.....	26
CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS .....	30
3.1. Ubicación y caracterización de área de experimental:.....	30
3.2. Procedimientos de la investigación .....	32
CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	47
3.1. Variables morfológicas .....	47
3.1.1. Vaina/planta (unid.).....	47
3.1.2. Peso fresco.....	48
3.1.3. Contenido de clorofila (unid. SPAD).....	50
3.1.4. Peso de 100 semillas.....	52
3.1.5. Rendimiento .....	54
3.2. Variable biológica .....	55
3.2.1. Número de nódulos (unid.) .....	55
CONCLUSIONES.....	58
RECOMENDACIONES.....	59
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

## Índice de tablas

Tabla 1. <i>Tratamientos en estudio</i> .....	30
Tabla 2. <i>Características fisicoquímicas el suelo antes de la siembra</i> .....	33
Tabla 3. <i>Cepas de bacterias en estudio</i> .....	35
Tabla 4. <i>Número de bolsas noduladas con suelo de Aucaloma</i> .....	41
Tabla 5. <i>Numero de rizobio estimado por el recuento de infección de la planta, (After vincent, 1970) diluciones a la cuarta (A = 4)</i> .....	41
Tabla 6. <i>Análisis de varianza para el número de vainas (unid) en Phaseolus vulgaris, evaluados en condiciones de campo</i> .....	47
Tabla 7. <i>Análisis de varianza para el peso fresco (g) de Phaseolus vulgaris, evaluados en condiciones de campo</i> .....	49
Tabla 8. <i>Análisis de varianza para el contenido de clorofila (unid. SPAD) en Phaseolus vulgaris</i> .....	51
Tabla 9. <i>Análisis de varianza para el peso de 100 semillas(g) de Phaseolus vulgaris, evaluados en condiciones de campo</i> .....	52
Tabla 10. <i>Análisis de varianza para el rendimiento (kg) en Phaseolus vulgaris, evaluados en condiciones de campo</i> .....	54
Tabla 11. <i>Análisis de varianza para el número de esporas (unid.) en leguminosas de cobertura, evaluados en condiciones de vivero</i> .....	56

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Partes de una inflorescencia de <i>Phaseolus vulgaris</i> (Valladolid, 2001).....	20
<b>Figura 2.</b> Partes de una vaina de <i>Phaseolus vulgaris</i> (Valladolid, 2001). .....	21
<b>Figura 3.</b> Partes de una semilla de <i>Phaseolus vulgaris</i> (Valladolid, 2001).....	21
<b>Figura 4.</b> Croquis del campo experimental posición de los tratamientos a evaluar.....	32
<b>Figura 5.</b> Preparación y parcelado de terreno en el Fundo Aucaloma de la UNSM. ....	33
<b>Figura 6.</b> Croquis unidad experimental. ....	34
<b>Figura 7.</b> Proceso de elaboración de pre-inoculante de cepas de Rizobium .....	36
<b>Figura 8.</b> Producción de inóculo.....	36
<b>Figura 9.</b> Conteo de colonias de bacterias crecidas.....	37
<b>Figura 10.</b> Proceso para la evaluación de bacterias.....	38
<b>Figura 11.</b> Proceso de determinación de Población de Rizobio en muestra de suelo. ...	40
<b>Figura 12.</b> Inoculación de semilla y siembra en campo experimental.....	43
<b>Figura 13.</b> Proceso de comprobación de la supervivencia de Rizobium en las semillas de Panamito inoculadas. ....	44
<b>Figura 14.</b> Conteo de nódulos en raíces de panamito.....	45
<b>Figura 15.</b> Proceso de fertilización a nítrica a la parcela correspondiente según tratamiento. ....	45
<b>Figura 16.</b> Parcela experimental de <i>Phaseolus vulgaris</i> .....	46
<b>Figura 17.</b> Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) para el número de vainas/planta (unid.) en <i>Phaseolus vulgaris</i> , evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo.....	47
<b>Figura 18.</b> Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) para peso fresco (g) de <i>Phaseolus vulgaris</i> , evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo.....	49
<b>Figura 19.</b> Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) para contenido de clorofila (unid. SPAD) de <i>Phaseolus vulgaris</i> , evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo.....	51
<b>Figura 20.</b> Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) para el peso de 100 semillas (g) de <i>Phaseolus vulgaris</i> , evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo. ....	53
<b>Figura 21.</b> Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) para rendimiento (kg) de <i>Phaseolus vulgaris</i> , evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo.....	54
<b>Figura 22.</b> Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) para el número de nódulos (unidades) en <i>Phaseolus vulgaris</i> , evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo.....	56

## Listado de siglas o abreviaturas

ATP	: Adenosín trifosfato
DBCA	: Diseño en Bloques Completamente al Azar
DDI	: Días después de inocular
FBN	: Fijación Biológica de Nitrógeno
N <sub>2</sub>	: Nitrógeno atmosférico
NH <sub>3</sub>	: Amoniaco
SPAD	: Soil Plant Analysis Development
UNALM	: Universidad Nacional Agraria La Molina

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación de *Rhizobium* eficientes en la fijación biológica de nitrógeno sobre los parámetros de rendimiento de *Phaseolus vulgaris* var. Panamito en condiciones de campo, para ello se utilizó 5 cepas de *Rhizobium* que fueron donados por el laboratorio de Ecología Microbiana “Marino Tabusso”, a cargo de la Dra. Doris Zúñiga Dávila, de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Las cepas fueron las siguientes: CIAT 899 (*Rhizobium tropici*), Colombia (*Rhizobium* sp.), PRF81 (*R. freirei*), E10 (*Rhizobium* sp.) y Hg (*Rhizobium* sp.). Los cuales fueron distribuidas mediante un diseño DBCA con tres bloques. Se evaluaron variables morfológicas (Vaina/planta y peso fresco), biológicas (Contenido de Clorofila en planta y N° de nódulos) y de rendimiento (Peso de 100 semilla y rendimiento). Se concluyó que el efecto de la inoculación de *Rhizobium* fue eficiente en la fijación biológica de nitrógeno sobre los parámetros de rendimiento de *Phaseolus vulgaris* var. Panamito en condiciones de campo, mostrando mejores resultado en las variables morfológicas, biológicas y de rendimiento. Se logró la producción de inoculantes líquidos para las cepas CIAT 899 (*Rhizobium tropici*), PRF81 (*Rhizobium freirei*) originaria de Brasil, cepa E10 (*Rhizobium* sp.) de origen Peruano-Lima, cepa Colombia (*Rhizobium* sp) y la cepa Hg (*Rhizobium* sp. originaria de Cuba) que fueron utilizadas en la etapa metodológica de la investigación. Además, el desempeño simbiótico de la cepa E10 resaltó en los parámetros morfológicos, biológicos y de rendimiento, seguido de las cepas Hg, CIAT899, Colombia y PRF81, diferenciándose del tratamiento nitrogenado y testigo. Esto debido al origen de la cepa y su facilidad de adaptarse al ecosistema.

**Palabras clave:** *Phaseolus vulgaris*, *Rhizobium*, Panamito, Fijación biológica de nitrógeno, simbiosis.

## ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the effect of the inoculation of Rhizobium efficient in biological nitrogen fixation on the yield parameters of Phaseolus vulgaris var. Panamito under field conditions. For this purpose, 5 strains of Rhizobium were used, which were donated by the "Marino Tabusso" Microbial Ecology Laboratory, in charge of Dr. Doris Zúñiga Dávila, from the National Agrarian University La Molina. The strains were the following: CIAT 899 (Rhizobium tropici), Colombia (Rhizobium sp.), PRF81 (R. freirei), E10 (Rhizobium sp.) and Hg (Rhizobium sp.). These were distributed using a RCBD design with three blocks. Morphological (pod/plant and fresh weight), biological (chlorophyll content in plant and number of nodules) and yield (100-seed weight and yield) variables were evaluated. It was concluded that the effect of Rhizobium inoculation was efficient for biological nitrogen fixation on yield parameters of Phaseolus vulgaris var. Panamito under field conditions, revealing better results in morphological, biological and yield variables. Liquid inoculants were produced for strains CIAT 899 (Rhizobium tropici), PRF81 (Rhizobium freirei) from Brazil, strain E10 (Rhizobium sp.) from Peru-Lima, strain Colombia (Rhizobium sp) and strain Hg (Rhizobium sp. from Cuba), which were used in the methodological stage of the research. In addition, the symbiotic performance of strain E10 stood out in morphological, biological and yield parameters, followed by strains Hg, CIAT899, Colombia and PRF81, differing from the nitrogen treatment and control. This was due to the origin of the strain and its ability to adapt to the ecosystem.

**Keywords:** Phaseolus vulgaris, Rhizobium, "Panamito", Biological nitrogen fixation, symbiosis.



## CAPITULO I INTRODUCCIÓN A LA INVESTIGACION

El cultivo de frejol (*Phaseolus vulgaris*) a nivel nacional se encuentra distribuido en costa, sierra y selva, en unas 70 175 has al 2021, siendo su producción de 87 140,35 toneladas y un rendimiento promedio de 1,33 t/ha. En la región selva su cultivo es de autoconsumo, enmarcada en la agricultura familiar, asociado principalmente a otros cultivos y sin el empleo de innovaciones tecnológicas, con una producción regional 3414,95 toneladas (MIDAGRI, 2021).

Los suelos de Aucasoma son ácidos y deficientes en nitrógeno; por lo que los productores de frejol utilizan productos químicos para mejorar la fertilidad de suelo y por ende su producción, trayendo consigo contaminación del ecosistema. Siendo las bacterias fijadoras de nitrógeno son capaces de nodular y a través de ello captar el nitrógeno no disponible y transformarlo en nitrógeno asimilable para la planta, estas bacterias actúan mejor con las leguminosas, quienes en simbiosis favorecen su desarrollo sin contaminar el ambiente.

A raíz de la problemática mencionada se formuló el problema general: ¿Cuál es el efecto de la inoculación de cepas de *Rhizobium* eficientes en la fijación biológica de nitrógeno sobre los parámetros de rendimiento de *Phaseolus vulgaris* “frejol común” var? ¿Panamito bajo condiciones de campo en el sector Aucasoma?

En este sentido el estudio analizó la adaptabilidad de las cepas de rhizobios aislados de diferentes países, para la identificación de las mejores cepas que son capaces de crecer y desarrollarse en nuestra zona los cuales tienen un uso potencial como biofertilizantes. Planteando el objetivo principal Evaluar el efecto de la inoculación de *Rhizobium* eficientes en la fijación biológica de nitrógeno sobre los parámetros de rendimiento de *Phaseolus vulgaris* var. Panamito en condiciones de campo; cuyos objetivos específicos: Producir inoculantes líquidos y evaluar el desempeño simbiótico de cada cepa de *Rhizobium*.

Para ello, se utilizó 5 cepas de *Rhizobium* que fueron donados por el laboratorio de Ecología Microbiana “Marino Tabusso”, a cargo de la Dra. Doris Zúñiga Dávila, de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Las cepas fueron las siguientes: CIAT 899 (*Rhizobium tropici*), Colombia (*Rhizobium sp.*), PRF81 (*R. freirei*), E10 (*Rhizobium sp.*) y Hg (*Rhizobium sp.*). Este proyecto de investigación se ejecutó en dos fases; en el laboratorio de Microbiología Agrícola “Raúl Ríos Reátegui” y el fundo Aucasoma de la Universidad Nacional de San Martín (UNSM).

## CAPÍTULO II MARCO TEORICO

### 2.1. Antecedentes de la investigación

El estudio se respalda en antecedentes internacionales Nápoles García et al. (2016), evaluaron la obtención de moléculas de señales inducidas por la isoflavona genisteína en cepas de *Rhizobium leguminosarum* y su efecto de esta inducción sobre el inóculo de *Phaseolus vulgaris* L.; donde concluyeron que, relacionado con el enriquecimiento de esta molécula señalizadora, el inóculo inducido por genisteína mostró un resultado positivo en las plantas de frijol de Cubacueto 25-9, el número de nódulos radiculares en comparación con las plantas no inoculadas (testigo) fue superior en contenido de clorofila; además, la aplicación de este inóculo a las leguminosas comunes resultó en una mayor nodulación y disponibilidad de nitrógeno para las plantas.

Aguilar Ramírez et al. (2019) en su trabajo “Incidencia y severidad del tizón común en plantas de frijol inoculados con *Rhizobium phaseoli*”, menciona que la inoculación de frijol con *Rhizobium phaseoli* puede tener efectos benéficos en el cultivo en términos de valor nutricional y fitosanitario.

Granda-Mora et al. (2017), mencionan en el trabajo “Efecto en campo de la cepa nativa COL6 de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* sobre frijol común cv. Percal”, en lo que encontraron que los inoculantes bacterianos y los fertilizantes artificiales aumentaron el rendimiento agrícola en un 62 % y un 64 %, respectivamente, en comparación con los controles. Además los análisis del suelo indican que varían dependiendo de las propiedades fisicoquímicas iniciales. Los primeros resultados demuestran que con el inoculante bacteriano y la estimulación efectiva del frijol abrieron la posibilidad de su potencial uso en suelos ecuatorianos y con ello el rendimiento potencial esperado.

Argaw (2016), en su investigación evaluó el efecto de la fertilidad inherente del suelo sobre la efectividad de aislamientos seleccionados de *Rhizobium* sobre nodulación y productividad de frijol común. Mediante un diseño DBCA de 30 tratamientos con 10 niveles de inoculación de *Rhizobium*, en 3 variedades de frejol común, el experimento se llevó a cabo en 4 lugares de Etiopía. Concluyó que la mayoría de los aislamientos de *Rhizobium* probados aumentaron significativamente el número de nódulos y el peso seco de nódulos en comparación con el tratamiento de control debido a las variaciones en el rendimiento de frijol, el rendimiento de frijol común y la productividad según la variedad de frijol en diferentes sitios ambientales. La inherente fertilidad del suelo afecta la eficacia *Rhizobium* inoculado y la productividad del frijol común. Por lo tanto, mejorar la fertilidad inherente del



suelo es esencial para mejorar el rendimiento de la inoculación de *Rhizobium* y la productividad del cultivo en general.

En el Perú Cantaro-Segura et al. (2019), en su trabajo “Efectividad simbiótica de dos cepas de *Rhizobium* sp. en cuatro variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)”, siendo el propósito “determinar la efectividad simbiótica de dos cepas de *Rhizobium* sp., LMT10 y LMT15”; “establecer el efecto de la fijación biológica del nitrógeno en el desarrollo y el rendimiento de grano seco” y “comparar el efecto de la fertilización nitrogenada en la simbiosis y el rendimiento”. Los autores concluyeron que todos los cultivares inoculados con *Rhizobium* tuvieron un mayor rendimiento y un mayor número de nódulos en comparación con los cultivares no inoculados o fertilizados con nitrógeno.

López-Alcocer et al. (2020), en su trabajo “Eficiencia en fijación biológica de nitrógeno de cepas de *Rhizobium* spp. recolectadas en frijol cultivado y silvestre”, determinaron la eficiencia de la fijación biológica de nitrógeno (FBN) de 27 cepas de *Rhizobium* spp. cosechado de frijoles silvestres y cultivados en México, logrando en sus resultados que las cepas obtenidas a partir de leguminosas cultivadas tuvieron mayor eficiencia en FBN.

Hidalgo Rodríguez et al. (2019), en su trabajo de investigación “Coinoculación de *Rhizophagus irregularis* y *Rhizobium* sp. en *Phaseolus vulgaris* L. var. canario (Fabaceae)”, realizaron la inoculación de plantas de frijol con ambos microorganismos y fueron cultivadas en hidroponía. Concluyeron que “*Rhizobium* sp. mejoró el crecimiento vegetativo (diámetro de tallo, peso seco de la parte aérea, área foliar y contenido de proteínas), así como el rendimiento (número y peso de semillas)”.

Chipana et al. (2017), en su trabajo “Inoculación de vainita (*Phaseolus vulgaris* L.) con diferentes concentraciones de *Rhizobium etli* y su influencia sobre el rendimiento del cultivo”, reportaron que el tratamiento con una concentración de inóculo de  $2,5 \times 10^9$  células g<sup>-1</sup> en el suelo produjo el mayor número total de nódulos con un promedio de 47,67 y una tasa efectiva de 84,02%, este tratamiento fue más importante para el rendimiento por unidad.

Cuadros Negri (2016), en su investigación “Evaluación del rendimiento en grano de cinco cultivares de ñuña (*Phaseolus vulgaris* L.) por efecto de la fijación biológica del nitrógeno en simbiosis con *Rhizobium phaseoli*”, encontró que los parámetros de rendimiento mejorados de FBN usando simbiosis y fertilización pueden ser reemplazados por urea sin dañar el medio ambiente (suelo-agua) y a un menor precio.

En la región San Martín, no se desarrolló un trabajo de investigación utilizando cepas de *Rhizobium* en la inoculación de *Phaseolus vulgaris*. Sin embargo, Neira Santa Cruz (2019), realizó un trabajo que aisló, caracterizó y evaluó la eficiencia simbiótica de cepas de rizobios de *Leucaena leucocephala* y *Centrosema macrocarpum* de suelos de pastizales degradados en el distrito de Cuñumbuque.

## **2.2. Fundamentos teóricos**

### **2.2.1. Generalidades del cultivo de frejol**

#### **2.2.1.1. Cultivo de frejol en el Perú**

Las leguminosas peruanas (*Phaseolus vulgaris* sp.) son uno de los alimentos básicos de la soja porque, entre otras cosas, tienen un alto contenido de carbohidratos y proteínas en la dieta humana (Valderrama Pacho, 2021).

En la zona de San Martín, el bajo rendimiento de las legumbres es un problema evidente, ya que tradicionalmente las familias campesinas cultivan este cultivo solo para consumo propio (Ramírez et al., 2020).

#### **2.2.1.2. Importancia del cultivo.**

Los frijoles pertenecen a la familia de las leguminosas y son las especies más importantes en la dieta humana. Proporciona fuente de proteína y de alta calidad que está disponible para las industrias que más la necesitan. Muchos factores contribuyen a la baja productividad de los cultivos (Ormaza Catuto, 2018).

Quicaliquín Tacuamán (2019), menciona que el *Phaseolus vulgaris* r. en su trabajo de investigación resultó con el mayor contenido de hierro en harina (92 mg/kg) a diferencia de la “habichuela” (*Phaseolus lunatus baby lima bean*), “haba pallar” (*Phaseolus lunatus* L.), “maca” (*Lepidium meyenii*). Asimismo, Cruzado Valderrama (2016) menciona que dentro de las variedades de *Phaseolus vulgaris* el frijol canario es la variedad con mayor contenido en hierro - 156,17 mg/100 g. seguido del panamito con 42,67 mg/100 g, garbancillo con 24,47 mg/100 g y caballero con 153 mg/100 g.

#### **2.2.1.3. Clasificación taxonómica.**

Según Pérez-Jaramillo et al., (2017), el frejol tiene la siguiente clasificación:

**Reino:** Plantae

**División:** Tracheophyta

**Clase:** Magnoliopsida

**Orden:** Fabales

**Familia:** Fabaceae

**Género:** *Phaseolus* L.

**Especie:** *Phaseolus vulgaris* L.

#### **2.2.1.4. Morfología del frejol.**

A continuación, se presenta una sinopsis descrita por Valladolid (2001) de los caracteres morfológicos principales de la planta de frijol.

##### **a) Raíz**

En la etapa inicial, está formado por una radícula, que luego se convierte en una raíz pivotante. De aquí sale otra raíz, de estas raíces una tercera y así sucesivamente. Estos puntos de crecimiento tienen pelos absorbentes que juegan un papel importante en la absorción de agua y nutrientes del suelo. El volumen máximo del sistema radicular se concentra en los primeros 20 cm de profundidad del suelo. Pero en suelos sueltos con buena fertilidad, las raíces de variedades bien adaptadas pueden alcanzar hasta un metro. Las raíces a menudo tienen nódulos multifacéticos de 2 a 5 mm de diámetro, colonizados por bacterias del género *Rhizobium*. Fija nitrógeno en la atmósfera, que luego es utilizado por las plantas y también contribuye al suelo (Valladolid, 2001).

##### **b) Tallo**

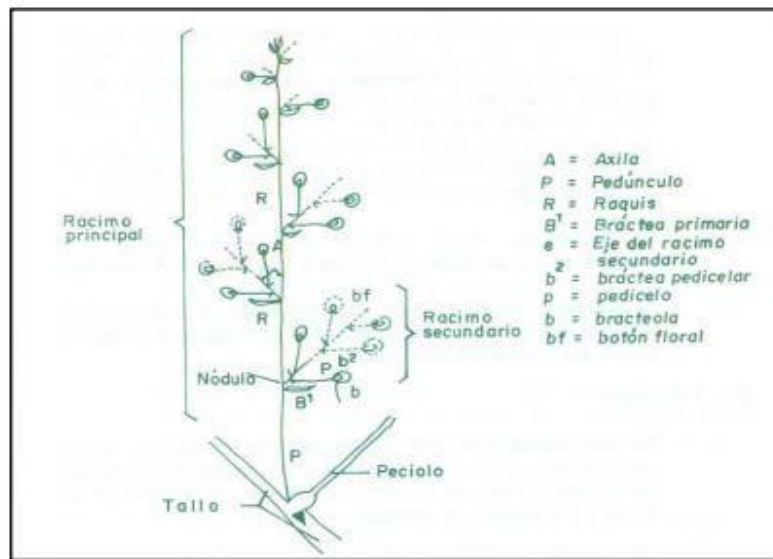
“Es el eje central de la planta y está constituido por una sucesión de nudos y entrenudos. Un nudo, es el punto de inserción de las hojas (o de los cotiledones) en el tallo. El ángulo formado entre el tallo y el peciolo de la hoja se denomina axila” (Valladolid, 2001).

##### **c) Hoja**

“La planta de frijol tiene dos tipos de hojas: simples y compuestas. Las simples, son las hojas primarias, están en posición opuesta en el segundo nudo; las compuestas, son las hojas trifoliadas típicas del frijol” (Valladolid, 2001).

#### d) Inflorescencia

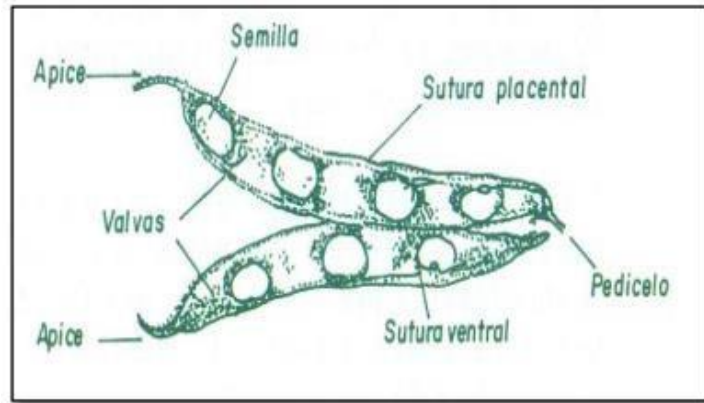
Pueden ser terminales o axilares. Los terminales surgen en un hábito de crecimiento tipo I. Se pueden distinguir tres componentes en una inflorescencia: el pedúnculo, que consiste en el tallo y el bulbo, las bractéolas primarias y los botones florales. El tallo se estira rápidamente antes de que se abran las primeras flores. Un eje es una serie de nodos. Los nodos se caracterizan por las brácteas primarias contenidas dentro de ellos. En el eje formado entre bráctea y bráctea, existe un complejo de 3 yemas (tríada de flores). En cada tríada, normalmente dos yemas laterales se convertirán en flores (Valladolid, 2001).



**Figura 1.** Partes de una inflorescencia de *Phaseolus vulgaris* (Valladolid, 2001).

#### e) Fruto

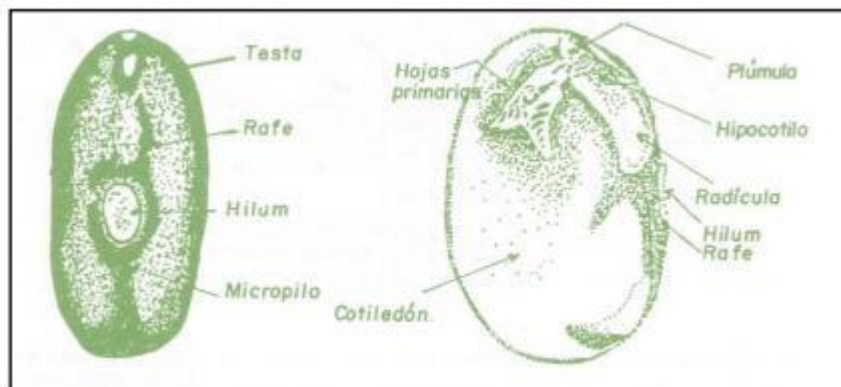
Es una vaina con dos válvulas de ovarios comprimidos. Los pliegues unidos forman dos costuras. Las semillas de sutura placentaria o posterior y las suturas abdominales están conectadas. La existencia de la costura y el bolso de fibra determina la brecha. Esta es una característica morfológica importante utilizada para clasificar las variedades. Las vainas, que tienen muchas fibras en las costuras y las valvas, tienden a abrirse cuando se cosechan cuando están maduras. Las variedades con tales vainas se utilizan para cosechar forraje seco; mientras tanto, las vainas no tienen fibras en las suturas y muy pocas fibras en las valvas, y se comen como frijoles crudos (Valladolid, 2001).



**Figura 2.** Partes de una vaina de *Phaseolus vulgaris* (Valladolid, 2001).

### f) Semilla

Procede de un óvulo fecundado. Puede ser de diferentes colores y formas: ovalada, esférica, arriñonada, etc. Las principales partes externas son: testa, hilum, micropilo y rafe (Valladolid, 2001) Figura 3.



**Figura 3.** Partes de una semilla de *Phaseolus vulgaris* (Valladolid, 2001).

#### 2.2.1.5. Características variedad Panamito.

Es una planta arbustiva que crece de 40 a 45 cm de altura, aparecen inflorescencias en inflorescencias terminales, flores de color blanco a morado, vainas verdes con rayas moradas, granos rojos, de 4 a 6 semillas (Del Aguila Ponce, 2004).

#### 2.2.1.6. Condiciones edafoclimáticas del cultivo

### **a. Precipitación**

La precipitación óptima es de alrededor de 400 a 600 mm. La humedad proviene de la lluvia y debe distribuirse bien en las diferentes etapas de la temporada de crecimiento, principalmente durante la floración y la fructificación de las vainas (Valladolid, 2001).

### **b. Temperatura**

Los frijoles necesitan un clima con poca humedad, por lo que se considera adecuado un 50 %. Si el calor nocturno y la baja humedad relativa causan una floración anormal, caída de flores, llenado de vainas y retención prematura de vainas; semillas pequeñas y menos vigorosas (Pérez-Jaramillo et al., 2017).

### **c. Luminosidad**

Esta es una cultura de día corto; por ello, fotoperiodos inferiores a 12 horas y largos periodos de oscuridad favorecen la floración (Valladolid, 2001).

### **d. Suelos**

Los frijoles se adaptan a diferentes tipos de suelo, pero esto se aplica a suelos con una textura medianamente gruesa (suelo arenoso), mediana (arcillosa, franca) y medianamente fina (arcillosa-arena). El suelo debe estar bien aireado, moderadamente profundo, con una pendiente del 8% y bien drenado. Sensible a las reacciones del suelo, prefiere suelos medios y ligeramente ácidos (pH 5,6 - 6,5), así como suelos con una reacción neutra (pH 6,6 - 7,3). No se recomienda suelo salado o húmedo, ya que el cultivo es muy sensible a estos factores (Valladolid, 2001).

## **2.2.2. Bacterias Fijadoras de Nitrógeno**

### **2.2.2.1. Tipos de bacterias simbióticas**

Entre las bacterias fijadoras de nitrógeno simbióticas, encontramos dos grupos de organismos. El primer grupo pertenecía a las bacterias móviles del suelo, que fueron atraídas a las raíces por los compuestos liberados. Pertenecen al grupo de los organismos organotróficos aeróbicos. Esta categoría incluye rizobios (nódulos en raíces de leguminosas en climas templados y subtropicales), bacterias fijadoras

de nitrógeno (nódulos en tallos y raíces) y bradirizobios (nódulos en raíces de soja). Existen otros posibles rizobios fijadores de nitrógeno, como: *Phylobacterium* (que forma nódulos radiculares en tallos y hojas de Rubiaceae y Rubiaceae) y *Agrobacterium*. El segundo grupo está formado por los *Actinomicetos* (bacterias grampositivas), que forman nódulos en las raíces de muchos árboles y arbustos. Son bacterias filamentosas que viven en simbiosis con plantas radiantes (angiospermas capaces de formar nódulos) y pertenecen al género *Frankia* (García, 2011).

### 2.2.2.2. Clasificación de bacterias simbióticas

#### □ *Rizobium*

Las bacterias del género *Rhizobium*, además de establecer relaciones simbióticas con las leguminosas, también se encuentran como organismos de vida libre en el suelo y la rizosfera, donde el volumen del suelo está directamente influenciado por las raíces de las plantas. y/o asociado con raíces y pelos de raíces y sustancias producidas por plantas (Bringhurst et al., 2001). “Este espacio incluye suelo unido a las raíces de la planta, que a menudo se extiende unos pocos mm desde la raíz” (Mahaffe & Kloepper, 1997).

Los exudados de las plantas en la rizosfera, como los aminoácidos y los azúcares, proporcionan a las bacterias abundantes fuentes de energía y nutrientes, lo que da como resultado una mayor población bacteriana en esta zona que fuera de la rizosfera; la mayoría de los organismos de la rizosfera, incluidas las bacterias del género *Rhizobium*, se encuentran dentro de los 50  $\mu\text{m}$  de la superficie, las poblaciones a 10  $\mu\text{m}$  son de hasta  $1,2 \times 10^8$  células  $\text{cm}^{-3}$  o  $10^9 - 10^{12}$  células microbianas por g de suelo; aunque las bacterias abundan en la rizósfera, por lo general sólo el 7-15% de la superficie total de la raíz está ocupada por células microbianas (Mora de Zayas, 2005).

Los rizobios crecen muy lentamente en suelo sin leguminosas. Sin embargo, el suelo es un reservorio de poblaciones nativas de rizobios que son ideales para vivir en ambientes como los microorganismos del humus. Como miembros de vida libre de la microbiota del suelo, los rizobios se ven afectados por las condiciones

fisicoquímicas y biológicas del suelo y se ven obligados a competir con otros microorganismos para sobrevivir (Mora de Zayas, 2005).

### **2.2.2.3. Proceso de simbiosis**

La simbiosis comienza con el intercambio de señales moleculares entre los dos organismos; la planta produce compuestos a partir de flavonoides e isoflavonoides, que las bacterias revelan cuando se activa un conjunto de genes llamados "genes de nodo", que los genes sintetizan y ayudan a secretar el llamado nod. factores que consisten en compuestos que contienen oligosacáridos de lipoquitina. Las bacterias tienen huéspedes específicos y cada una puede infectar una especie de planta o un número limitado de ellas, lo que implica una especificidad de huésped. ¿Cuál es la clasificación de las bacterias? (Acosta, 2005).

### **2.2.2.4. Fijación biológica del nitrógeno**

La fijación de nitrógeno se define como la oxidación o reducción de nitrógeno a amonio u óxidos. Implica convertir el nitrógeno atmosférico en una forma metabolizable que pueda ser absorbida por los organismos vivos. Estas formas son iones de amonio ( $\text{NH}_4$ ) o nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ). Otras sustancias, como el dióxido de nitrógeno ( $\text{NO}_2$ ), reaccionan fácilmente y provocan algunos de los anteriores. (García, 2011; Villalobos Flórez & Niño Céspedes, 2020)

La fijación biológica de nitrógeno es donde algunos organismos usan directamente el nitrógeno en el aire a través de bacterias para formar nódulos de raíz y fijar nitrógeno. Los nódulos son estructuras de raíces que crecen simbióticamente entre plantas y bacterias. Estas bacterias forman parte de la llamada rizosfera, una zona única y dinámica de interacción entre las raíces de las plantas y los microbios del suelo. La comunidad de la rizosfera está formada por microbiota (bacterias, hongos y algas) y microfauna (protozoos, nematodos, insectos y ácaros). Las bacterias que viven en simbiosis con la planta huésped fijan nitrógeno del aire, es decir, forman compuestos solubles en plantas como el amoníaco. Luego, el amoníaco ingresa a la cadena alimentaria, incorporando aminoácidos y proteínas. Un enlace que conecta dos átomos de nitrógeno requiere mucha energía para romperse. Se necesita mucha energía para romper este triple enlace. La nitrogenasa es



responsable de romper este enlace y requiere 16 moléculas de ATP por reducción de N<sub>2</sub> (Paredes, 2013).

Sin embargo, a pesar del aumento dramático en la producción de FBN en los últimos años, la traducción de este conocimiento a la agricultura práctica ha identificado limitaciones de biofijación y simbiosis a nivel ambiental, biológico, metodológico y de producción (Fernández Pascual et al., 2002).

#### **2.2.2.5. Importancia de los *Rhizobium* en la agricultura**

En la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa, los rizobios proporcionan a las legumbres amonio a cambio de otros nutrientes, lo cual es importante porque la reducción de nitrógeno suele ser el factor limitante más importante en el crecimiento de las plantas. De esta manera, la creación de simbiosis es de gran importancia tanto desde el punto de vista agrícola como ecológico (Paredes, 2013).

#### **2.2.2.6. Simbiosis *Rhizobium* - Planta**

Entre las plantas simbióticas, las leguminosas destacan por su importante papel en la evolución humana, proporcionando alimento (lentejas, alubias y guisantes), forraje para la nutrición de animales (trébol, arveja, alfalfa...), obtención de madera (Acacia, Leucaena) o para colonizar suelos pobres faltos de nutrientes (retama, tojo, escoba) (García, 2011).

Muchas plantas pueden entrar en relaciones simbióticas con más de un tipo de rizobios efectivos y viceversa. Solo ciertas combinaciones de estos simbioses formarán nódulos fijadores de nitrógeno; la especificidad entre simbioses compatibles reduce la posibilidad de formar asociaciones infecciosas (nódulos vacíos o buenos nódulos con bacterias incapaces de fijar nitrógeno) que son incómodas para cualquiera de los simbioses (Paxi Churata, 2017).

Se puede distinguir una gama estrecha de huéspedes (que infecta un género de plantas específico) y una amplia gama de huéspedes (que infecta a más de 50 géneros de plantas); además, algunas bacterias se adaptan a ciertas variedades de plantas hospedantes (Manobanda et al., 2019).

### 2.2.2.7. Especies de Rizobios en estudio

- ***Rhizobium tropici***, es un simbiote de leguminosas bien estudiado caracterizado por alta estabilidad genética del plásmido simbiótico y tolerancia a tensiones ambientales tropicales tales como alta temperatura y bajo pH del suelo. “Este es el simbiote más distribuido a nivel global, ha sido reportado a ser más dominante en la nodulación del frijol en suelos de diversas regiones tropicales, incluidas las regiones América del Sur y Central” (K. Granda Mora, 2010)
- ***Rhizobium freirei***, Puede establecer asociaciones simbióticas con varios *Phaseolus vulgaris*; sin embargo, la eficacia de la mayoría de las cepas en la fijación de nitrógeno en condiciones de campo es muy baja. PRF 81 es una cepa muy eficaz y es muy utilizado con éxito en miles de dosis de inoculantes comerciales para el cultivo de frijol común capaz de establecer simbiosis efectivas nódulos de la raíz con *Phaseolus vulgaris*, *Leucaena leucocephala*, *L. esculenta*, *Crotalaria juncea* y *Macroptilium atropurpureum* (Dall’Agnol et al., 2013)
- ***Rhizobium ssp.***, son especies que forma nódulos que fijan el nitrógeno con más leguminosas que cualquier otro microsimbionte, estas especies puede adaptarse rápidamente a los cambiantes estímulos del medio ambiente en los suelos, rizósfera y plantas (Schmeisser et al., 2009).

### 2.2.3. Inoculación de leguminosas

El sistema leguminosa-*Rhizobium*, un ejemplo clásico de simbiosis entre plantas y bacterias, que conduce a la fijación del nitrógeno atmosférico en forma orgánica disponible para las plantas. Es desde este aspecto que reconocemos la importancia de este sistema en la agricultura. El método utilizado para implementar este sistema en la agricultura a menudo se denomina "inoculación". Esto se refiere a colocar ciertas cepas de bacterias *Rhizobium* en el suelo o en la superficie de la semilla de la planta huésped, que son altamente infecciosas para leguminosas específicas y muy eficientes en la fijación de nitrógeno. El injerto da un buen rendimiento en condiciones limitadas de nitrógeno sin fertilización con nitrógeno. En la mayoría de los casos, esto beneficia enormemente a los agricultores de todo el mundo debido

al alto costo y la baja disponibilidad de fertilizantes. Esto es particularmente importante porque las leguminosas se utilizan en todo el mundo como una valiosa fuente de alimentos (Hubbell, 1986).

La producción de inoculantes implica una primera fase de selección de estirpes de *Rhizobium* que sean capaces de nodular y establecer simbiosis muy efectivas con las variedades de leguminosas cultivadas. Después de haber seleccionado las estirpes de *Rhizobium* más adecuadas para aplicar a cultivos es preciso proceder al desarrollo de una formulación apropiada para ser utilizada en campo. Hay formulaciones muy diversas de inoculantes para leguminosas que se pueden clasificar, en general, como inoculantes líquidos e inoculantes que utilizan un soporte sólido. Los inoculantes líquidos se elaboran a partir de un cultivo líquido o de un cultivo sobre medio sólido que se suspende en medio líquido adecuado. Los inoculantes sólidos utilizan un soporte, pulverulento o granular, que adsorbe o engloba las células de *Rhizobium* procedentes de un cultivo líquido. La calidad de los inoculantes viene determinada, en primer lugar, por la eficiencia simbiótica de las estirpes de *Rhizobium* que contiene, fruto de una selección rigurosa para obtener estirpes que nodulen y fijen eficientemente nitrógeno bajo una gran diversidad de condiciones ambientales. En segundo lugar, la calidad viene determinada por la formulación del inoculante. No solo ha de facilitar el mantenimiento y aplicación del producto, sino que ha de garantizar un número mínimo de células viables, en el momento de uso, después de un periodo de almacenamiento (Vera et al., 2006).

### **2.2.3.1. Métodos de inoculación**

#### **□ Método del espolvoreado**

Con frecuencia, los agricultores no utilizan pegamentos. Simplemente mezclan los inoculantes en polvo secos tales como el tipo basado en turba, junto con la semilla seca sin líquido. Este método de inoculación es el menos efectivo debido a que el inoculante seco no se adhiere bien a la semilla, y la mayor parte de éste desaparecerá durante la siembra.

### □ **El método de la suspensión “Slurry”**

En el método de suspensión de la aplicación de inoculante, se prepara una suspensión de inoculante y agua u otra solución de sellado. Justo antes de la siembra, las cantidades pre medidas de la solución e inóculo se mezclan a fondo para formar una suspensión fluida. La suspensión se vierte a continuación en un recipiente adecuado con una cantidad de semilla y se agita continuamente hasta que las semillas se recubren uniformemente. El recipiente debe tener un volumen dos veces el volumen de las semillas. Se recomienda un mezclador de cemento para grandes cantidades. La tasa de solución de adhesivos al inoculante depende del tipo de semilla utilizada. Las semillas más pequeñas requieren más solución adhesiva por peso de semilla en la suspensión que las leguminosas con semillas grandes debido a la gran superficie a recubrir. La suspensión se debe agregar a las semillas en cantidades pequeñas porque la solución de la etiqueta engomada demasiado hará que las semillas se agrupen o hinchen.

### □ **El método de dos pasos**

En el método de dos etapas, el adhesivo y el inoculante en polvo se aplican a la semilla por separado. En la primera etapa, las semillas se recubren uniformemente con la solución adhesiva. En la segunda etapa, el inoculante en polvo se añade a las semillas pegajosas. Este método es especialmente útil cuando se debe aplicar un gran número de rizobios a la semilla. Aproximadamente 10 veces más rizobios se pueden unir a la semilla en este procedimiento en comparación con el método de la suspensión.

### □ **Peletización de semillas**

A veces es ventajoso recubrir semillas inoculadas con una capa protectora de cal o fosfato de roca. En primer lugar, el inoculante se aplica como una suspensión espesa o por el método de dos etapas usando una solución adhesiva como un adhesivo. El polvo de cal o fosfato se añade inmediatamente después de la inoculación mientras las semillas están aún húmedas. Se mezclan rápidamente con

el material de granulación hasta que se recubren completamente. Las semillas en gránulo parecerán secas, pero deben ser esparcidas sobre un lienzo en un lugar fresco y sombreado para permitir que el gránulo se solidifique antes de sembrar (Somasegaran & Hoben, 1994)

## CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1. Ubicación y caracterización de área de experimental:

El estudio se ejecutó en dos zonas en el Fundo Aucaloma de la UNSM ubicados con las coordenadas 6°26'17.55" latitud sur y 76°25'28.30" longitud oeste, a una altitud de 333 m.s.n.m.m. y en el Laboratorio de Microbiología

Agrícola de la UNSM-T con las coordenadas Latitud Sur 06° 35° 00" y Longitud Oeste 76° 05'00", a una Altitud de 290 m.s.n.m.m.

#### 3.1.1 Descripción del experimento

El experimento fue en la inoculación de rizobios en frejol común; utilizando un diseño de bloques completamente aleatorizado (DBCA) donde se utilizó 7 tratamientos (05 cepas de *Rhizobium*, 01 control nitrogenado, 01 control sin inoculación), el experimento contó con 5 bloques, lo que equivale a 5 repeticiones. Los tratamientos se muestran a continuación.

**Tabla 1**

*Tratamientos en estudio*

Tratamientos
<i>Rhizobium tropici</i> cepa CIAT 899
<i>Rhizobium freirei</i> cepa PRF81 (Brasil)
<i>Rhizobium sp.</i> cepa E10 (Lima)
<i>Rhizobium sp</i> cepa Colombia
<i>Rhizobium sp</i> cepa Hg (Cuba)
Control Nitrogenado
Control sin inoculante y nitrógeno

### □ **Población**

Las 5 cepas de rizobium (*Rhizobium tropici* cepa CIAT 899, *Rhizobium freirei* cepa PRF81 (Brasil), *Rhizobium sp.* cepa E10 (Lima), *Rhizobium sp* cepa Colombia, *Rhizobium sp* cepa Hg (Cuba)).

### □ **Muestra**

En el experimento, se utilizó 05 cepas seleccionadas de bacterias de *Rhizobium* y 10 Kg de semillas de “frejol común” *Phaseolus vulgaris* var. Panamito.

## **3.1.2 Sistema de variables**

### **a) Clorofila**

Con la finalidad de determinar la adsorción del nitrógeno en la planta y observar en las hojas donde se concentra este elemento y así ver la variabilidad que existen en los tratamientos instalados.

### **b) Numero de vainas**

Se contó el número de vainas existentes por planta a los 131 días después de la inoculación con los tratamientos es estudio.

### **c) Peso de 100 semillas**

Utilizando la balanza analítica se pesó 100 semillas de cada tratamiento en estudio.

### **d) Rendimiento**

Una vez cumplida su ciclo fenológico del cultivo se realizó la cosecha de los granos de frejol, donde se tomó una muestra de 1.95 m<sup>2</sup> (1.5m x1.3m), de cada tratamiento; luego se llevó al Laboratorio para ser pesado

### **e) Técnicas de procesamiento y análisis de datos**

Para analizar los datos de la investigación se utilizó el programa estadístico Insfostad 2019.

### 3.2. Procedimientos de la investigación

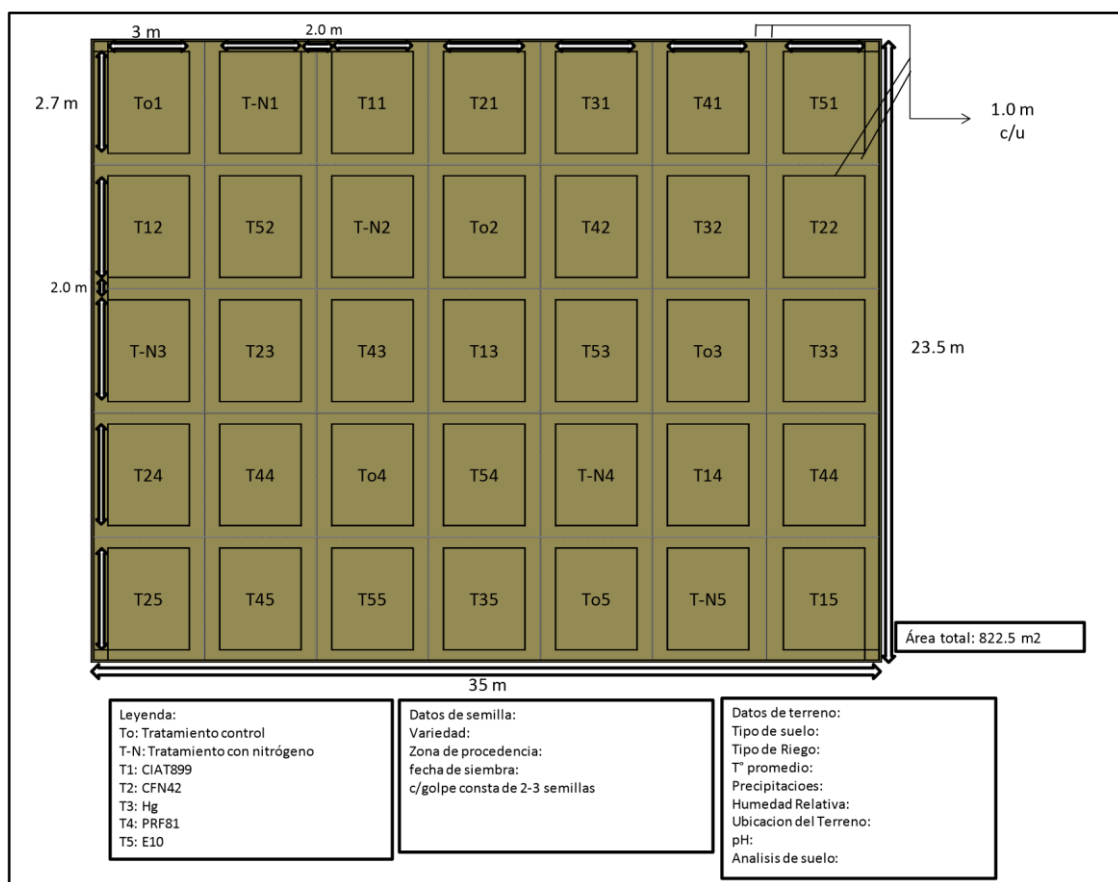
#### a) Conducción del experimento

##### Etapa 1: CAMPO a) Limpieza y cuidado del campo antes de la siembra

Para la ejecución del trabajo se realizó la limpieza del terreno utilizando machete y rastrillo, con la finalidad de eliminar el crecimiento de malezas.

#### b) Preparación del terreno

Utilizando estacas, cordeles y wincha, se realizó la delimitación del terreno de un área total de 822.5 m<sup>2</sup> según el croquis planteado.



**Figura 4.** Croquis del campo experimental posición de los tratamientos a evaluar.





**Figura 5.** Preparación y parcelado de terreno en el Fundo Aucaloma de la UNSM.

### c) Muestreo

Se realizó el muestreo de suelos, colectando en forma de zig zag en el terreno, estas pequeñas cantidades colectadas se unieron y mezclaron para transportar 1 kg al laboratorio.

Los resultados de estos análisis se muestran a continuación:

El análisis físico-químico de la muestra de suelo fue realizado por el laboratorio de Suelos, Aguas y Foliare (Tabla 2) de la UNSM, Tarapoto, en el mes de diciembre del año 2017. Donde se obtuvieron los siguientes datos.

**Tabla 2**

*Características fisicoquímicas el suelo antes de la siembra*

pH (1:1)	C.E %	N %	M.O ppm	P ppm	K Arena	Análisis Mecánico	Clase (1:1)		
	ds/m				Limo	Arcilla	textural		
					%	%	%		
5.86	65.5	0.1	2.71	4.2	58.1	53	19	28	F. Arenoso

\* Metodologías de análisis: Textura: (Hidrómetro Bouyoucos), pH (Potenciómetro suspensión sueloagua 1:2.5), MO=materia orgánica (Walkley y Black), P=fósforo extraíble (Olsen), K=Potasio, N=Nitrógeno y Mg= Magnesio (extracción  $\text{NaHCO}_3$  0.5 M; 8.5 Fotómetro)

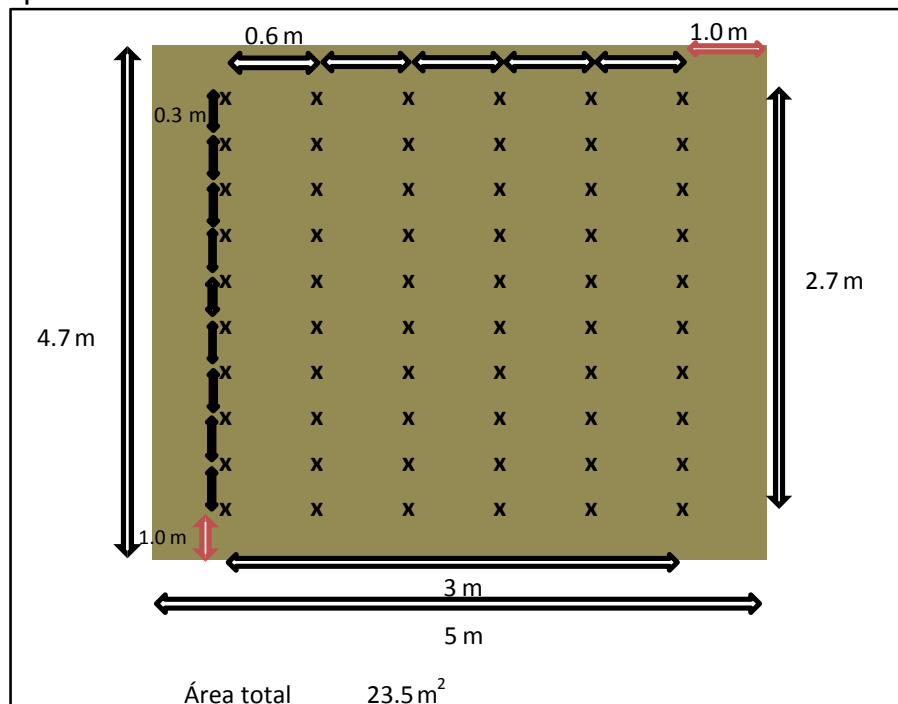
#### d) Parcelado

En el campo experimental se realizó el parcelado según el número de tratamientos y repeticiones, es decir 35 parcelas donde cada una de estas tenía un área total de 23,5 m<sup>2</sup>.

Largo : 2.7 m

Ancho : 3m

Calle : 1 m por lado



**Figura 6.** Croquis unidad experimental.

#### e) Siembra de *Phaseolus vulgaris*

La siembra de *Phaseolus vulgaris* fue 0,3 m entre planta y 0,6 m entre hilera tal como muestra la Figura 6.

### Etapa 2: LABORATORIO

#### a) Obtención de las cepas bacterianas

Las cepas empleadas para el estudio fueron donadas por el laboratorio de Ecología Microbiana Marino Tabusso, a cargo de la Dra. Doris Zúñiga Dávila, de la UNALM. Estas se fueron conservadas con glicerol al 30% a -20°C en el laboratorio de Microbiología Agrícola de la UNSM.

**Tabla 3**  
*Cepas de bacterias en estudio*

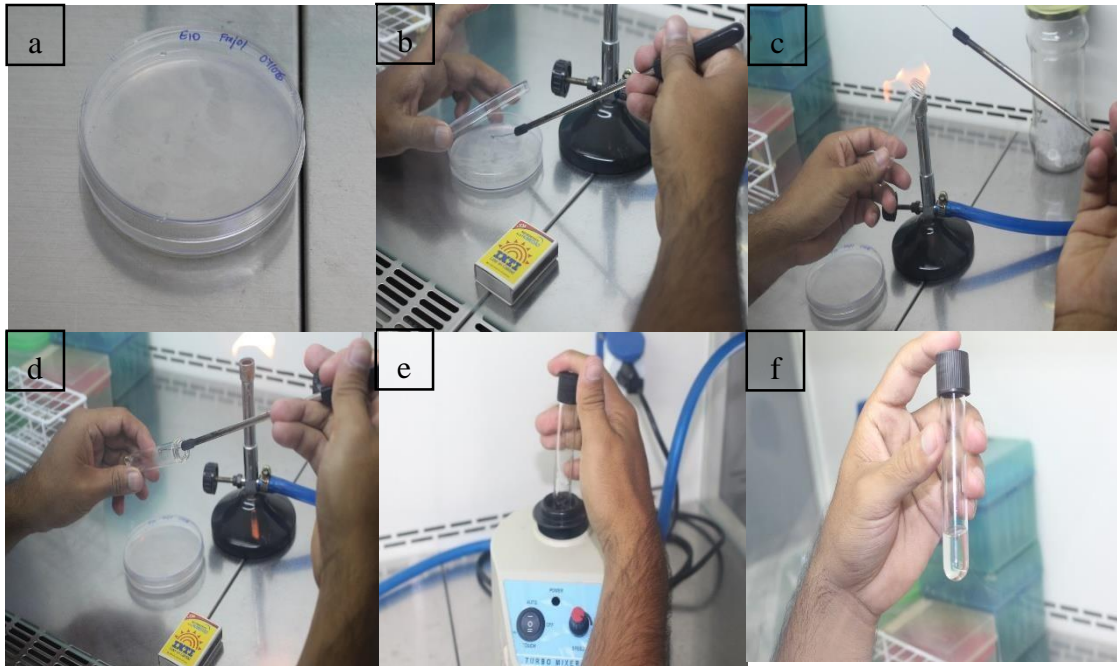
<b>Cepa</b>	<b>Rizobios</b>
CIAT 899	<i>Rhizobium tropici</i>
Colombia	<i>Rhizobium sp.</i>
PRF81	<i>Rhizobium freirei</i>
E10	<i>Rhizobium sp.</i>
Hg	<i>Rhizobium sp</i>

#### **a) Reactivación de cepas**

Se empleó la técnica de estriado y purificación según Somasegaran & Hoben (1994). Las cepas fueron reactivadas del stock en conservación a -20°C, fueron sembradas por estrías en placas de Petri conteniendo agar YEM fresco e incubadas a 30°C por un periodo de 2 a 3 días ya que son rizobios de rápido crecimiento. Luego fueron conservadas en refrigeración hasta su uso.

#### **b) Preparación de pre-inóculo**

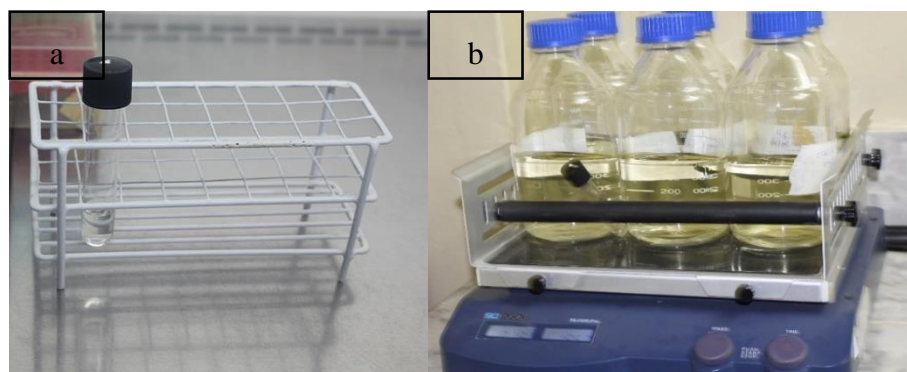
Con el asa bacteriológica se tomaron dos o tres colonias de la placa de Petri conteniendo las rizobios y fueron sembrados en frascos de 10 mm conteniendo 5 mm de caldo YEM (pH 6.8) e incubados a temperatura ambiente, en agitación a 170 rpm por espacio de 2 días.



**Figura 7.** Proceso de elaboración de pre-inoculante de cepas de *Rizobium*. a): Cepa de *Rizobium* placa petri contiene la cepa E10 *Rhizobium* sp. b): Extracción de la cepa E10 *Rhizobium* sp. de la placa petri c) y d): Flameado del tubo de ensayo que contiene caldo YEM e inoculación de la cepa E10 *Rhizobium* sp. en medio del caldo YEM. e): Agitación del pre- inóculo en agitador orbital para la homogenización de la cepa E10 *Rhizobium* sp. en el caldo YEM. f): Obtención del pre-inóculo.

### c) Producción de inóculo

Ya obtenido el pre-inoculante; se prepararon  $\frac{1}{2}$  L de medio de cultivo YEM, en frascos de 1 L; se tomaron 10 $\mu$ L del pre-inoculo y se colocó en el inoculante; luego se llevó al shaker para su crecimiento durante dos días. Se tomaron muestras de cada inoculante para saber la población bacteriana de cada inoculante ( $> 5 \times 10^9$  ufc/ml) al momento de la siembra.

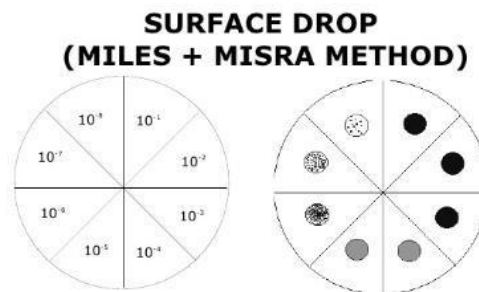


**Figura 8.** Producción de inóculo. a) Pre inóculo b) Inóculo de *Rhizobium*.

#### d) Evaluación de la población bacteriana

Con el objetivo de enumerar la población de bacterias viables por ml de inoculante líquido se realizó la enumeración de la población empleando el método de Miles et al., (1938). Para lo cual se realizaron evaluaciones a las 0, 12, 24, 36, 42, 48, 60 y 72 horas después de la inoculación.

Se tomaron alícuotas de 100  $\mu$ l del caldo YEM (0, 12, 24, 36, 42, 48, 60 y 72 de acuerdo a la hora) y se realizaron diluciones decimales en 900  $\mu$ l de Solución Salina Fisiológica Estéril (en crioviales), así hasta realizar diluciones sucesivas correspondientes ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ...,  $10^{-8}$ ). En una placa de Petri conteniendo medio YEM (20 ml) servida con 2 días de anticipación, se dividió en 8 partes y se inóculo 30  $\mu$ l de la dilución en cada cuadrante. Se realizaron 4 repeticiones.



**Figura 9.** *Conteo de colonias de bacterias crecidas.*

Después de la inoculación, se dejó 15 minutos para que sequen las gotas, luego las placas se invirtieron y se llevó a la incubadora a 30°C por espacio de 3 días. Se contaron el número de colonias crecidas cada día de siembra.



**Figura 10.** Proceso para la evaluación de bacterias a) Placas Petri con medio YEM para la evaluación de población bacteriana, b) Frascos con inoculante c) Extracción de inoculante d) Caldo YEM e) Agitación de medio YEM inoculado f) extracción de alícuota de medio yem inoculado g) Siembra de inoculante en placas.

Para el cálculo de las UFC/ml, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\# \text{ Células } ml^{-1} = 33 \times \# \text{ de colonias } \times \text{ Inverso de la dilución}$$

Siendo 33 el factor resultante de la división de 1ml por 0.03 el cual es 33.

#### **e) Determinación de Población de Rizobio en muestra de suelo**

Se pesó 100 g del suelo muestreado, y se diluyó en 900 ml de solución salina fisiológica estéril, constituyendo una dilución al décimo (1/10). Se homogenizó vigorosamente, durante 5 minutos. Ya obtenida la dilución, se continuó con las diluciones al cuarto (2 ml de dilución anterior en 6 ml de solución salina fisiológica estéril), de esa forma se completó las diluciones hasta  $4^{-8}$ . Cada análisis se realizó con 4 repeticiones. Se preparó con anticipación 32 bolsas de crecimiento como mínimo (8 diluciones x 4 repeticiones), las cuales fueron sembradas con semillas pre germinadas de frejol. Se rotuló la dilución correspondiente, así como el número de tratamiento en cada bolsa de crecimiento, para evitar confusiones posteriores. Luego se inoculó las bolsas a razón de 2 ml de dilución correspondiente por semilla. Se homogenizará el inoculo con la solución nutritiva. Las bolsas inoculadas se llevaron a una cámara de luz con fotoperiodo, en donde permanecieron por 20 a 30 días para la lectura de modulación.



**Figura 11.** Proceso de determinación de Población de Rizobio en muestra de suelo.

Una vez cumplido 25 días se procedió al conteo de bolsas positivas para la obtención de la población de rizobios en el suelo.



**Tabla 4***Número de bolsas noduladas con suelo de Aucasoma*

Diluciones	Repeticiones	TOTAL (+) a la cuarta		I	II	III	IV
4-1	+	+	+	+		4	
4-2	+	+	+	+		4	
4-3	+	+	+	+		4	
4-4	+	+	+	-		3	
4-5	-	+	+	+		3	
4-6	-	+	+	+		3	
4-7	-	+	-	-		1	
4-8	+	--	-	-		1	
<b>TOTAL</b>						<b>23</b>	

**Tabla 5***Numero de rizobio estimado por el recuento de infección de la planta, (After vincent, 1970) diluciones a la cuarta (A = 4)*

Tubos positivos				Diluciones	
n = 4	n = 2	s = 10	s = 8	s = 6	s = 4
40	20	>2.0 x			
39		10 <sup>5</sup>			
38	19	2.0 x 10 <sup>5</sup>			
37		1.2			
36	18	8.1 x 10 <sup>4</sup>			
35		5.5			
34	17	3.8			
33		2.6			
32	16	1.8	>1.3 x		
31		1.3	10 <sup>4</sup>		
30	15	9.1 x 10 <sup>3</sup>	1.3 x 10 <sup>4</sup>		
29		6.3	7.9 x 10 <sup>3</sup>		
28	14	4.5	5.1		
27		3.5	3.5		
26	13	2.2	2.4		
25		1.6	1.7		
24	12	1.1	1.1	>7.9 x	
23		8.0 x 10 <sup>2</sup>	8.0 x 10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	
22	11	5.6	5.6	7.9 x 10 <sup>2</sup>	
21		4.0	4.0	5.0	
20	10	2.8	2.8	3.2	
19		2.0	2.0	2.2	
18	9	1.4	1.4	1.5	

17		1.0	1.0	1.0	
16	8	$7.1 \times 10^1$	$7.1 \times 10^1$	$7.2 \times 10^1$	$>5.0 \times 10^1$
15		5.0	5.0	5.1	10 <sub>1</sub>
14	7	3.5	3.5	3.5	$5.0 \times 10^1$
13		2.5	2.5	2.5	3.2
12	6	1.8	1.8	1.8	2.0
11		1.3	1.3	1.3	1.4
10	5	$8.9 \times 10^0$	$8.9 \times 10^0$	$8.9 \times 10^0$	$9.6 \times 10^0$
9		6.3	6.3	6.3	6.6
8	4	4.5	4.5	4.5	4.5
7		3.2	3.2	3.2	3.2
6	3	2.2	2.2	2.2	2.2
5		1.6	1.6	1.6	1.6
4	2	1.1	1.1	1.1	1.1
3		$7.2 \times 10^{-1}$	$7.2 \times 10^{-1}$	$7.2 \times 10^{-1}$	$7.2 \times 10^{-1}$
2	1	4.4	4.4	4.4	4.4
1					
0	0	< 4.4.	< 4.4.	< 4.4.	< 4.4.
		$10^{-1}$	$10^{-1}$	$10^{-1}$	$10^{-1}$
<b>Rango aproximado</b>		$5 \times 10^5$	$5 \times 10^4$	$5 \times 10^3$	$5 \times 10^2$
<b>Factor de 95 % limites Fiducial (X, ÷)</b>			N= 2 N= 4	4.0 2.7	

Para la determinación de la población se aplicó la siguiente formula:

$$X = \frac{m \times d}{v}$$

(2)

**Donde:**

**m = para la obtención de este dato se observó la siguiente 000.**

**n (# de repeticiones) = 4 s (# de diluciones) = 8 d (la dilución) = 4**

**Total, de unidades positivas = 23 d = La dilución**

**v = Aplicación de la solución en las bolsas**

Aplicando la ecuación tenemos:

$$X = \frac{m \times d}{v}$$

$$X = \frac{8.0 \times 10^2 \times 4}{2} = 1,6 \times 10^3$$

### Etapa 3: LABORATORIO - CAMPO

#### a) Inoculación y siembra de semillas en campos experimentales

Se colocó el inoculante y las semillas de frejol en una bolsa de propileno 3 horas antes de la siembra en campo (Figura 12); se tomaron muestras de semillas inoculadas (15 semillas por tratamiento). Para observar la supervivencia de los rizobios sobre la semilla, usando el método de Miles et al., (1938). Se colocaron 5 semillas inoculadas en un frasco de 10mm conteniendo 5mm de solución salina estéril, se agitaron y luego se procedió a hacer diluciones al décimo ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ... ,  $10^{-8}$ ) (Figura 12).

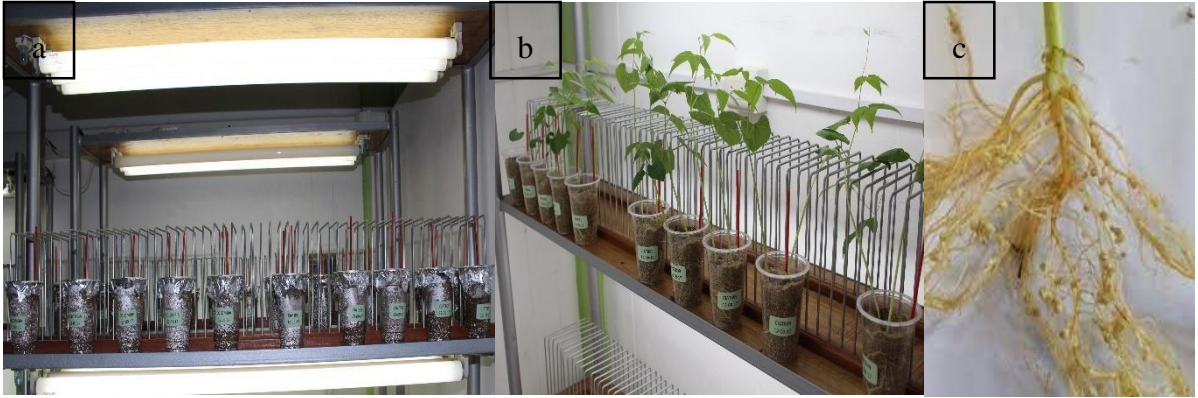


**Figura 12.** Inoculación de semilla y siembra en campo experimental.



**Figura 13.** Proceso de comprobación de la supervivencia de *Rizobium* en las semillas de Panamito inoculadas. a) Inoculación de semillas con *Rizobium* b) 15 semillas extraídas para las pruebas de comprobación c) Placas Petri con medio YEM para la evaluación de población bacteriana, d) e) y f) Extracción de inoculante g) y h) Agitación de medio YEM inoculado i) Siembra de inoculante en placas.

También se evaluó, la formación de nódulos usando como sustrato vermiculita y arena (1:2). Tomando las semillas inoculadas (2 semillas por vaso con sustrato de vermiculita y arena con 6 tratamientos con 5 repeticiones). Para este proceso se lavó la vermiculita y se empaquetó en bolsas de propileno para ser llevado a la autoclave durante 60 minutos a 120 °C, se procedió de la misma manera con la arena. Se utilizaron vasos de plásticos desinfectados con hipoclorito de sodio.



**Figura 14.** Conteo de nódulos en raíces de panamito. a) Vasos de plásticos con sustratos y semillas en oscuridad b) Plantas germinadas y desarrolladas c) Raíz de panamito con nódulos.

#### **Etapas 4: CAMPO**

##### **a) Control de malezas**

Se realizó el control mecánico para la eliminación de malezas durante el trabajo experimental.

##### **b) Fertilización**



**Figura 15.** Proceso de fertilización a nitrógeno a la parcela correspondiente según tratamiento.

### c) Cosecha

La cosecha se realizó a los 131 días después de la siembra.



**Figura 16.** Parcela experimental de *Phaseolus vulgaris*.

## CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 3.1. Variables morfológicas

#### 3.1.1. Vaina/planta (unid.)

En Tabla 6 y Figura 17 se muestra el Análisis de Varianza y la Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para el número de vainas/planta (unid.) en *Phaseolus vulgaris*, evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo. Datos transformados  $\sqrt{x}$ .

**Tabla 6**

*Análisis de varianza para el número de vainas (unid) en Phaseolus vulgaris, evaluados en condiciones de campo*

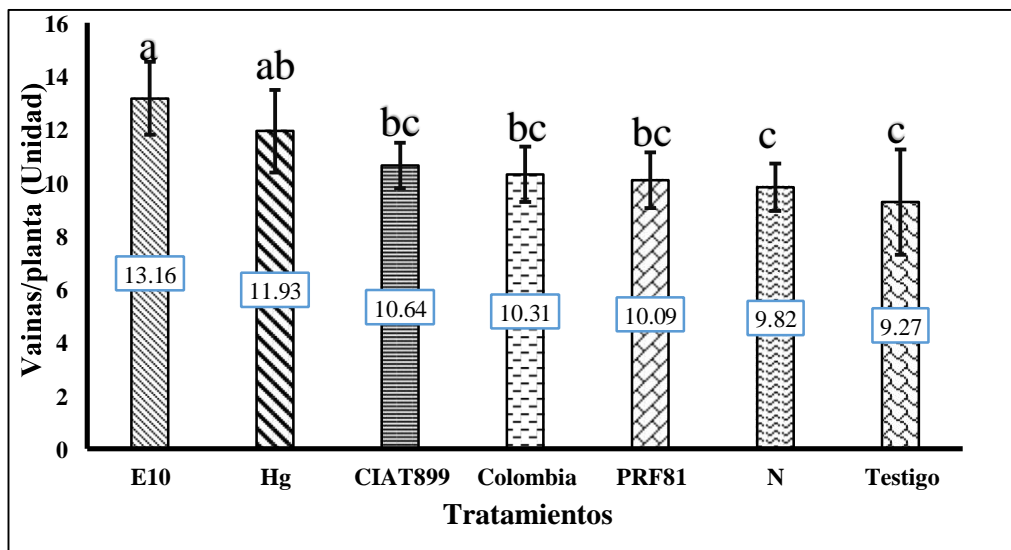
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Sign.
Tratamientos	1,25	6	0,21	4,14	<0,0054	**
Bloques	0,16	4	0,04	0,81	0,5339	NS
Error	1,20	24	0,05			
Total	2,16	34				

NS = No Significativo; \*\* = Altamente significativo

$R^2 = 54\%$

$C.V = 6,85\%$

$\bar{x} = 10,74$  unid.



**Figura 17.** Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) para el número de vainas/planta (unid.) en *Phaseolus vulgaris*, evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo.

El análisis de varianza (Tabla 8) para el número de vainas/planta (unidad) del cultivo de frejol (*P. vulgaris* L.), indica que existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos, mostrando una media de 10,74 unidad con un Coeficiente de Variabilidad (C.V) de 6,85% y un Coeficiente de Determinación ( $R^2$ ) de 54%.

El análisis de comparación de medias de Fisher ( $p < 0,05$ ) (Figura 17) correspondiente al índice morfológico, número de vainas por planta, muestra que el tratamiento E10 (*Rhizobium* sp.), presentó el mayor valor con promedio de 13 unidades; seguido del Tratamiento Hg (*Rhizobium* sp.) con 11 unidades de vainas por planta. Todos los tratamientos inoculados con las cepas, presentaron promedios superiores y estadísticamente diferentes en comparación de los tratamientos con Nitrógeno (N) y el testigo (sin inoculación con las cepas), que presentaron un valor promedio de 9,82 unidad y 9,27 unidad respectivamente. Estos resultados muestran que las cepas tienen un potencial benéfico, favoreciendo el número de vainas por planta de frejol en condiciones de campo, observándose un mayor número de vainas aproximadamente de 141,96% y 120,4% más que el testigo, respectivamente.

El aumento del número de vainas por planta estaría directamente relacionado con la asociación simbiótica establecida entre el sistema radicular del frejol y las cepas de rizobio, datos que son similares a lo obtenido por Chipana et al. (2017) donde el número de vainas por planta fueron de 12.19 ( $2.5 \times 10^9$  cel g<sup>-1</sup> suelo) y 12.05 ( $2.5 \times 10^8$  cel g<sup>-1</sup> suelo). Este resultado confirma lo expresado por CantaroSegura et al. (2019) , en distintas variedades de *P. vulgaris* L. tuvo diferencias altamente significativas frente a los tratamientos nitrogenados y al testigo, además menciona que es una variable muy importante ya que está directamente relacionado con el rendimiento.

### 3.1.2. Peso fresco

En Tabla 7 y Figura 18 se muestra el Análisis de Varianza y la Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para el peso fresco (g) en *Phaseolus vulgaris*, evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo. Datos transformados  $\sqrt{x}$ .



**Tabla 7**

*Análisis de varianza para el peso fresco (g) de Phaseolus vulgaris, evaluados en condiciones de campo*

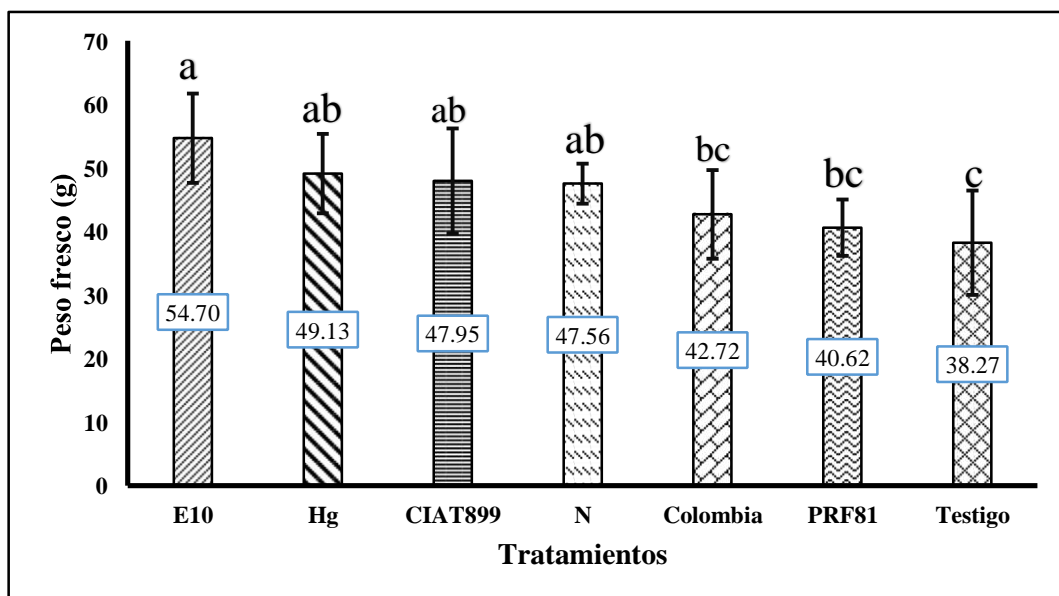
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Sign.
Tratamientos	5,30	6	0,88	2,89	<0,0290	*
Bloques	1,48	4	0,37	1,21	0,3336	NS
Error	7,33	24	0,31			
Total	14,11	34				

\* = Significativo; NS = No significativo

$R^2 = 48\%$

C.V = 8,20%

$\bar{x} = 45,85 \text{ g}$



**Figura 18.** Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) para peso fresco (g) de *Phaseolus vulgaris*, evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo.

El análisis de varianza (Tabla 9) para peso fresco (g) de planta en *P. vulgaris* L., indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos, mostrando una media de 45,85 g con un Coeficiente de Variabilidad (C.V) de 8,20% y un Coeficiente de Determinación ( $R^2$ ) de 48%, resultados que se encuentran dentro del rango de dispersión aceptable para trabajos realizados en vivero según Calzada Benza (1964).

El análisis de comparación de medias de Fisher ( $p < 0,05$ ) (Figura 18) correspondiente al índice morfológico, peso fresco, muestra que el tratamiento E10 (*Rhizobium* sp.), presento el mayor valor con promedio de 54,70 g; seguido de los

Tratamientos Hg (*Rhizobium* sp.) CIAT899 Y N con 49,13 g, 47,95 g y 47,56 g respectivamente. Todos los tratamientos inoculados con las cepas y el nitrogenado, presentaron promedios superiores y estadísticamente diferentes en comparación del testigo (sin inoculación con las cepas), que presentaron un valor promedio de 38,27 g. Estos resultados muestran que las cepas y el control nitrogenado, favorecen en el crecimiento y peso de la planta de frejol en condiciones de campo, observándose un mayor peso fresco aproximadamente de 142,93%; 128,47%; 125,29% y 124,27% más que el testigo, respectivamente.

No obstante Granda Mora et al. (2016), Se observaron mayores diferencias en los parámetros fisiológicos en raíces que en hojas de ambos genotipos, ya que este parámetro no fue significativo entre sus tratamientos. Estas variables se vieron más afectadas positivamente por la inoculación con bacterias que tuvieron un efecto significativo en los parámetros del nódulo, lo que puede estar relacionado con los mecanismos directos por los cuales estas bacterias secretan sustancias para actuar en el sistema radicular e indirectamente en el sistema radicular. Hojas de plantas, excepto que la cantidad de nitrógeno fijado en las hojas aumenta debido a la eficiencia de la interacción. Del mismo modo, Torres Gutiérrez et al., (2009) al estimar la biomasa de los cultivos de leguminosas, no se observaron diferencias significativas en el peso fresco y seco de las hojas entre los tratamientos de inoculación combinada y la inoculación con rizobios.

### **3.1.3. Contenido de clorofila (unid. SPAD)**

En Tabla 8 y Figura 19 se muestra el Análisis de Varianza y la Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para el contenido de clorofila (unid. SPAD) en *Phaseolus vulgaris*, evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo. Datos transformados  $\sqrt{x}$ .

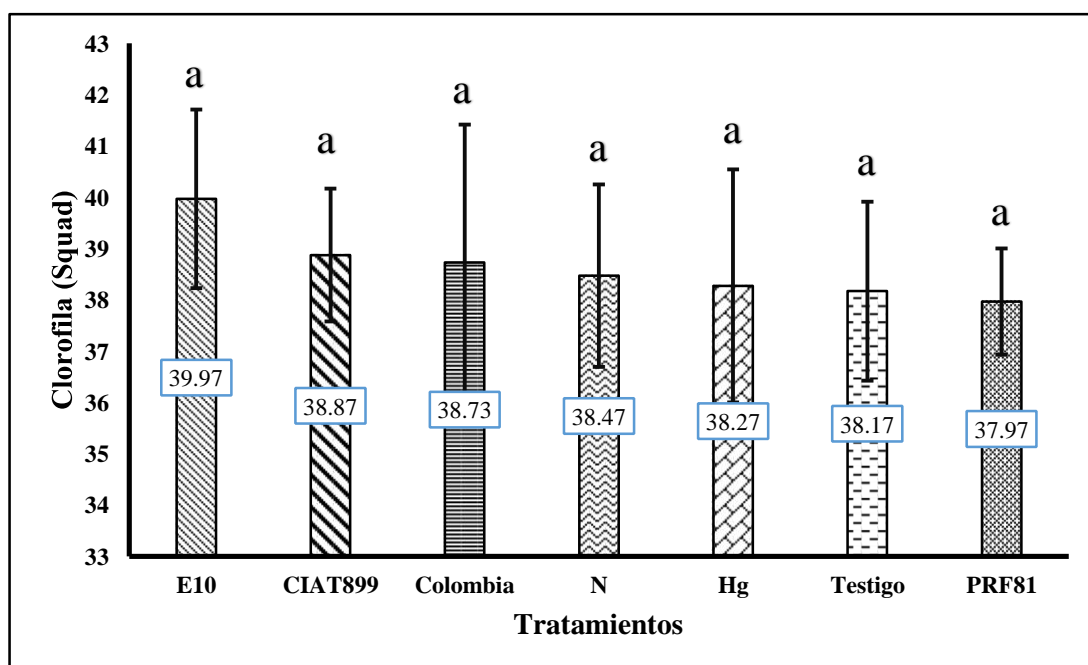
**Tabla 8**

Análisis de varianza para el contenido de clorofila (unid. SPAD) en *Phaseolus vulgaris*.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Sign.
Tratamientos	0,09	6	0,01	0,79	0,5840	N.S
Bloques	0,36	4	0,09	4,88	0,0050	**
Error	0,44	24	0,02			
Total	0,88	34				

N.S = No significativo; \*\* = Altamente significativo

$R^2 = 50\%$       **C.V** = 2,17%       $\bar{x} = 38,64$  unid. SPAD



**Figura 19.** Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) para contenido de clorofila (unid. SPAD) de *Phaseolus vulgaris*, evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo.

El análisis de varianza (Tabla 10) para el contenido de clorofila (unid. SPAD) de planta en *P. vulgaris* L., indica que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, mostrando una media de 38,64 SPAD con un Coeficiente de Variabilidad (C.V) de 2,17% y un Coeficiente de Determinación ( $R^2$ ) de 50%, resultados que se encuentran dentro del rango de dispersión aceptable para trabajos realizados en vivero según Calzada Benza (1964).

El análisis de comparación de medias de Fisher ( $p < 0,05$ ) (Figura 19) correspondiente al contenido de clorofila en el cultivo de *P. vulgaris* L., muestra que el tratamiento E10 (*Rhizobium* sp.), presentó el mayor valor con promedio de 39,97 SPAD. Todos los tratamientos, presentaron promedios estadísticamente iguales, pero numéricamente diferentes. Esto se debe al uso de suelo no esterilizado, por lo que las poblaciones de rizobios asociadas con esta leguminosa probablemente vivirán allí para formar una interacción simbiótica efectiva. Esto prueba que además de formar nódulos en las raíces, también tienen un efecto positivo en el contenido de clorofila de las hojas.

Nápoles García et al. (2016), menciona que mayores valores de nódulos junto con un aumento de clorofila asociado al contenido de N, lo que indica un efecto positivo de la inducción sobre la fijación de nitrógeno. Las leguminosas comunes producen y transportan nitrógeno en forma de urea, alantoína y ácido alantoideo. Se cree que la urea es más favorable para el transporte de N desde los nódulos hasta las hojas. Se ha demostrado que su síntesis requiere solo la mitad del ATP y menos carbonos necesarios para la producción de amidas, lo que otorga a estas leguminosas que contienen ureido una ventaja sobre las amidas.

### 3.1.4. Peso de 100 semillas

En Tabla 9 y Figura 20 se muestra el Análisis de Varianza y la Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para el peso de 100 semillas (g) en *Phaseolus vulgaris*, evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo. Datos transformados  $\sqrt{x}$ .

**Tabla 9**

*Análisis de varianza para el peso de 100 semillas(g) de Phaseolus vulgaris, evaluados en condiciones de campo.*

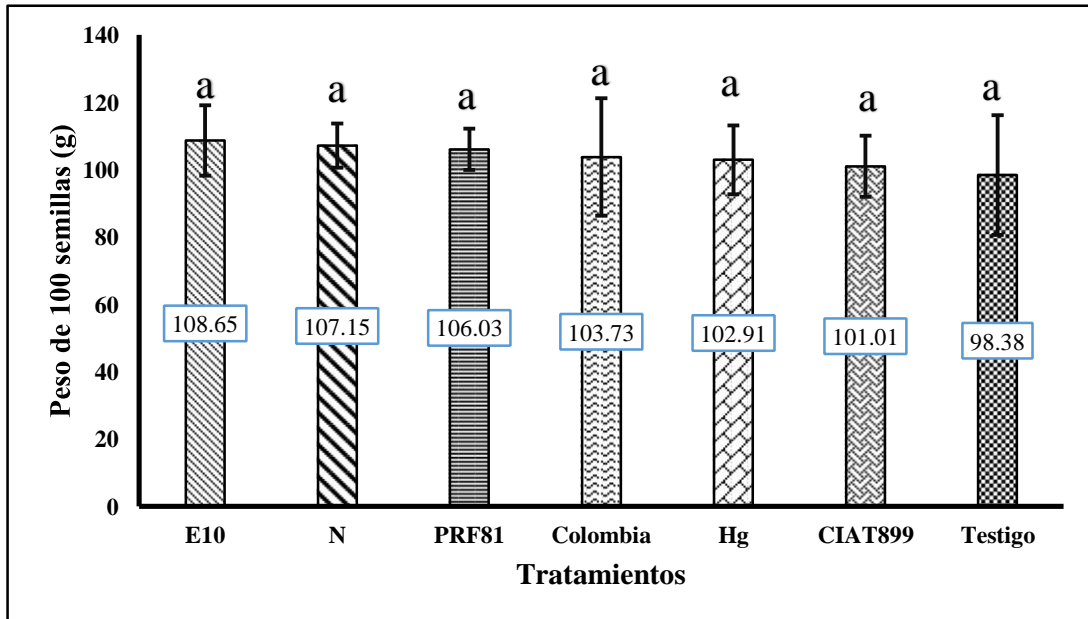
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Sign.
Tratamientos	1,04	6	0,17	0,44	0,8415	N.S
Bloques	2,61	4	0,65	1,67	0,1907	N.S
Error	9,39	24	0,39			
Total	13,04	34				

N.S = No significativo

$R^2 = 70\%$

C.V = 6,15 %

$\bar{x} = 103,97$  g



**Figura 20.** Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) para el peso de 100 semillas (g) de *Phaseolus vulgaris*, evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo.

El análisis de varianza (Tabla 11) para peso de 100 semillas (g) en el cultivo de *P. vulgaris* L., indica que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, mostrando una media de 103,97 g con un Coeficiente de Variabilidad (C.V) de 6,15% y un Coeficiente de Determinación ( $R^2$ ) de 70%, resultados que se encuentran dentro del rango de dispersión aceptable para trabajos realizados en vivero según Calzada Benza (1964).

El análisis de comparación de medias de Fisher ( $p < 0,05$ ) (Figura 20) correspondiente al peso de 100 semillas, todos los tratamientos, presentaron promedios estadísticamente iguales, pero numéricamente diferentes donde se muestra que el tratamiento E10 (*Rhizobium* sp.), presentó el mayor valor con promedio de 108,65 g en comparación del testigo (sin inoculación con las cepas), que presentaron un valor promedio de 98,38 g. Estos resultados muestran que las cepas y el control nitrogenado; tuvieron efecto en el cultivo, favoreciendo en el peso de las semillas de la planta de frejol en condiciones de campo, observándose un mayor peso aproximadamente de 110,4% a comparación del testigo.

Datos similares obtuvieron Cantaro-Segura et al. (2019) donde mencionan que el peso aproximado de cien granos fluctúa entre 49.133 gramos y 61.333 gramos. Siendo el peso de 100 granos promedio de 55.573g. No obstante Olivera

citado por Dulanto (1997), considera el peso de 100 semillas como un factor de producción aparentemente no es importante siempre que otros componentes del rendimiento, como vainas por planta y semillas por vaina, sean de alto valor..

### 3.1.5. Rendimiento

En Tabla 10 y Figura 21 se muestra el Análisis de Varianza y la Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para el rendimiento (kg) en *Phaseolus vulgaris*, evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo. Datos transformados  $\sqrt{x}$ .

**Tabla 10**

*Análisis de varianza para el rendimiento (kg) en Phaseolus vulgaris, evaluados en condiciones de campo*

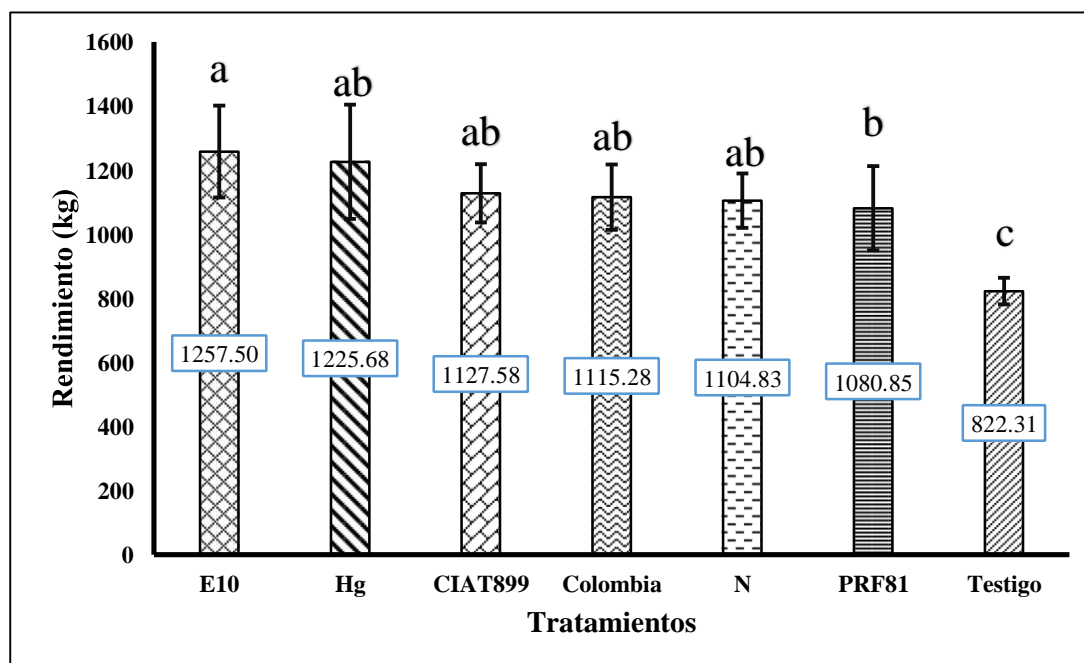
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Sign.
Tratamientos	143,02	6	23,84	6,71	<0,0003	**
Bloques	21,18	4	5,29	1,49	0,2366	N.S
Error	85,30	24	3,55			
Total	249,49	34				

N.S = No significativo; \* = Significativo; \*\* = Altamente significativo

$R^2 = 66 \%$

C.V = 5,69%

$\bar{x} = 1104,86 \text{ kg.}$



**Figura 21.** Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) para rendimiento (kg) de *Phaseolus vulgaris*, evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo.

El análisis de varianza (Tabla 12) para el rendimiento (kg) en el cultivo de *P. vulgaris* L., indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos, mostrando una media de 1104,86 kg con un Coeficiente de Variabilidad (C.V) de 5,69% y un Coeficiente de Determinación ( $R^2$ ) de 66%, resultados que se encuentran dentro del rango de dispersión aceptable para trabajos realizados en vivero según (Calzada Benza, 1964).

El análisis de comparación de medias de Fisher ( $p < 0,05$ ) (Figura 21) correspondiente al índice morfológico, rendimiento, muestra que el tratamiento E10 (*Rhizobium* sp.), presentó el mayor valor con promedio de 1257,5 kg; seguido de los Tratamientos Hg (*Rhizobium* sp.) CIAT899, Colombia y N con 1225,68 kg, 1127,58 kg, 1115,83 kg y 1104,83 kg respectivamente. Todos los tratamientos inoculados con las cepas y el nitrogenado, presentaron promedios superiores y estadísticamente diferentes en comparación del testigo (sin inoculación con las cepas), que presentaron un valor promedio de 822,31 kg. Estos resultados muestran que las cepas y el control nitrogenado, tuvieron mejores resultados en el rendimiento en el cultivo de frejol en condiciones de campo, observándose 152,92 %; 149 %; 137,12 %, 135,69 % y 134,35 % más que el testigo, respectivamente.

### **3.2. Variable biológica**

#### **3.2.1. Número de nódulos (unid.)**

La Tabla 11 y la Figura 22 muestran el Análisis de Varianza y la Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) respectivamente, para el número de nódulos (unid.) en *Phaseolus vulgaris*, evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo. Datos transformados  $\sqrt{x}$ .

**Tabla 11**

*Análisis de varianza para el número de esporas (unid.) en leguminosas de cobertura, evaluados en condiciones de vivero*

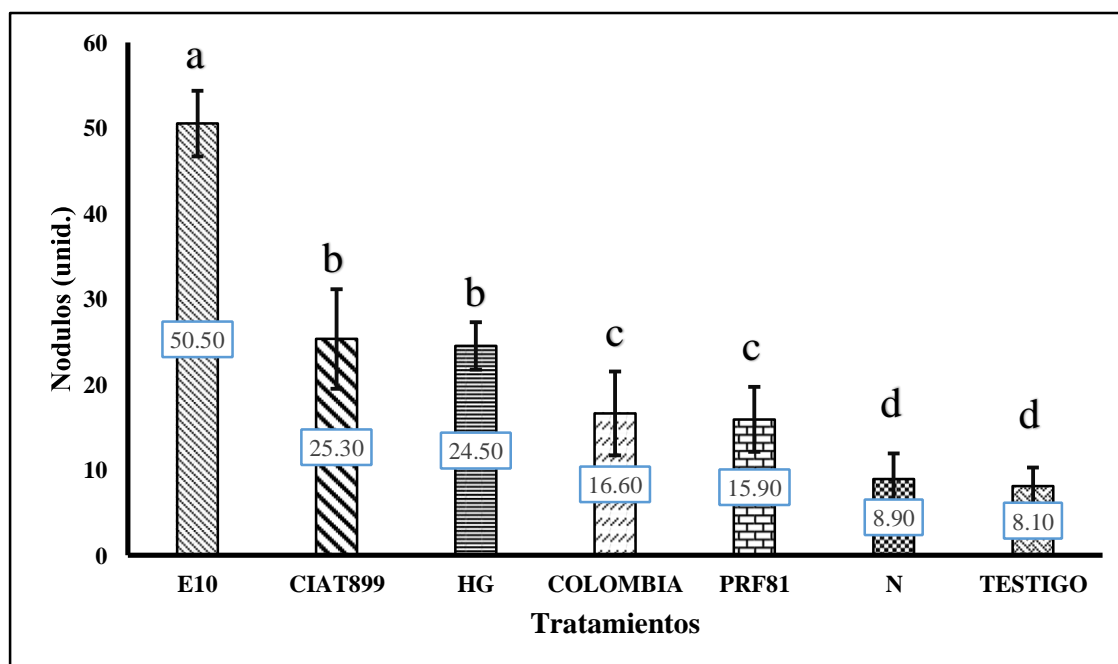
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Sign.
Tratamientos	64,60	6	10,77	36,60	<0,0001	**
Bloques	0,87	4	0,22	0,74	0,5766	NS
Error	7,06	24	0,29			
Total	72,53	34				

N.S = No significativo; \*\* = Altamente significativo

$R^2 = 90 \%$

C.V = 12,34%

$\bar{x} = 21,40$  unid.



**Figura 22.** Prueba de Fisher ( $p < 0,05$ ) para el número de nódulos (unidades) en *Phaseolus vulgaris*, evaluados a los 132 DDI en condiciones de campo.

El análisis de varianza (Tabla 13) para el número de nódulos (kg) en el cultivo de *P. vulgaris* L., indica que existen diferencia altamente significativa entre los tratamientos, mostrando una media de 21,4 unid. con un Coeficiente de Variabilidad (C.V) de 12,34 % y un Coeficiente de Determinación ( $R^2$ ) de 90%, resultados que se encuentran dentro del rango de dispersión aceptable para trabajos realizados en vivero según Calzada Benza (1964).



El análisis de comparación de medias de Fisher ( $p < 0,05$ ) (Figura 22) correspondiente al índice biológico, número de nódulos, muestra que el tratamiento E10 (*Rhizobium* sp.), presentó el mayor valor con promedio de 50,5 unid.; seguido de los Tratamientos CIAT899 (*Rhizobium* sp.) y Hg con 25,30 unid y 24,50 unid respectivamente. Todos los tratamientos inoculados con las cepas, presentaron promedios superiores y estadísticamente diferentes en comparación a los tratamientos nitrogenado y el testigo (sin inoculación con las cepas), que presentaron un valor promedio de 8,9 unid y 8,1 unid respectivamente. Estos resultados muestran que las cepas, tuvieron respuesta a la inoculación en el cultivo de frejol en condiciones de campo. Estos resultados corroboran lo mencionado por Granda-Mora et al., (2017) donde obtuvieron mayor cantidad de nódulos ante la inoculación de frejol con *Rhizobium*. A diferencia de, Trabelsi et al. (2011) y Ahmed et al. (2016) que obtuvieron 27 y 28 nódulos por planta, respectivamente, en este trabajo de investigación el tratamiento E10 (*Rhizobium* sp.) obtuvo 50 unidades de nódulos por planta de *Phaseolus vulgaris* Vr Panamito.

Este proceso de nodulación es explicado por Nápoles García et al. (2016), quien dice que la interacción *Rhizobium*-leguminosas se basa en un complejo intercambio de señales que se mantiene a lo largo de la simbiosis, y solo la combinación adecuada garantiza una simbiosis eficaz. Estas plantas secretan flavonoides que son reconocidos por bacterias compatibles e inducen sus genes nod. Codifican proteínas que sintetizan y exportan lipoquitooligosacáridos, llamados factores Nod. Los factores de asentimiento activan el proceso de infección e inician la división celular en la raíz del nódulo y también están involucrados en la fijación biológica de nitrógeno..

En el caso de los tratamientos que no fueron inoculados, se observaron nódulos en los pelos radicales de las plantas similar a lo encontrado por Chipana et al. (2017), lo que puede evidenciar que existen nativos simbiosis para *P. vulgaris* L.

## CONCLUSIONES

- El efecto de la inoculación de *Rhizobium* fue eficiente en la fijación biológica de nitrógeno sobre los parámetros de rendimiento de *Phaseolus vulgaris* var. Panamito en condiciones de campo, mostrando mejor resultado en las variables morfológicas, biológicas y de rendimiento.
- Se logró la producción de inoculantes líquidos para las cepas CIAT 899 (*Rhizobium tropici*), PRF81 (*Rhizobium freirei*) originaria de Brasil, cepa E10 (*Rhizobium* sp.) de origen Peruano-Lima, cepa Colombia (*Rhizobium* sp) y la cepa Hg (*Rhizobium* sp. originaria de Cuba) que fueron utilizados en la etapa metodológica de la investigación
- El desempeño simbiótico de la cepa E10 resaltó en los parámetros morfológicos, biológicos y de rendimiento, seguido de las cepas Hg, CIAT899, Colombia y PRF81, diferenciándose del tratamiento nitrogenado y testigo. Esto debido al origen de la cepa y su facilidad de adaptarse al ecosistema.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda utilizar la metodología desarrollada en esta investigación para la producción de inoculantes de *Rhizobium* sp. a escala comercial, para sustituir la fertilización nitrogenada del cultivo de *Phaseolus vulgaris*, siendo esta una alternativa ecológica para la agricultura.
- Se recomienda realizar más investigación utilizando al mejor tratamiento (E10) y cepas nativas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, C. (2005). Los árboles fijadores de nitrógeno y sus mecanismos biológicos. *Inventio, la genesis de la cultura universitaria en Morelos*, 1, 23-28.
- Aguilar Ramírez, J. O., Gallegos Morales, G., Hernández Castillo, F. D., Cepeda Siller, M., Sánchez-Aspeytia, D., Aguilar Ramírez, J. O., Gallegos Morales, G., Hernández Castillo, F. D., Cepeda Siller, M., & Sánchez-Aspeytia, D. (2019). Incidencia y severidad del tizón común en plantas de frijol inoculados con *Rhizobium phaseoli*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 10(2), 325-336. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i2.1594>
- Ahmed, I., Khan, M., Ahmed, N., Khan, N., Khan, D., & Marwat, F. (2016). Influence of *Rhizobium* inoculation on nodules, growth and yield of french beans cultivars. *International journal of biosciences ISSN: 2220-6655 (Print) 2222-5234 (Online)*, 9, 226-233. <https://doi.org/10.12692/ijb/9.6.226-233>
- Argaw, A. (2016). Effectiveness of *Rhizobium* inoculation on common bean productivity as determined by inherent soil fertility status. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 19(4), 311-322. <https://doi.org/10.1007/s12892016-0074-8>
- Bringhurst, R. M., Cardon, Z. G., & Gage, D. J. (2001). Galactosides in the rhizosphere: Utilization by *Sinorhizobium meliloti* and development of a biosensor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(8), 4540-4545. <https://doi.org/10.1073/pnas.071375898>
- Calzada Benza, J. (1964). *Metodos estadísticos para la investigacion*. Sesator. <https://www.worldcat.org/title/metodos-estadisticos-para-lainvestigacion/oclc/710880272>
- Cantaro-Segura, H., Huaranga-Joaquín, A., & Zúñiga-Dávil, D. (2019). Efectividad simbiótica de dos cepas de *Rhizobium* sp. En cuatro variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Perú. *Idesia (Arica)*, 37(4), 73-81. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292019000400073>
- Chipana, V., Clavijo, C., Medina, P., & Castillo, D. (2017). Inoculación de vainita (*Phaseolus vulgaris* L.) Con diferentes concentraciones de *Rhizobium etli* y

su influencia sobre el rendimiento del cultivo. *Ecología Aplicada*, 16(2), 91.  
<https://doi.org/10.21704/rea.v16i2.1012>

Cruzado Valderrama, S. T. (2016). *Cuantificación de hierro presentes en phaseolus vulgaris l. variedades: Garbancillo, caballero y canario; y cajanus cajan l. (frijol panamito) comercializados en el mercado Nazaret, distrito La Esperanza - Trujillo, 2015* [Universidad Nacional de Trujillo].  
<http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4316>

Cuadros Negri, M. del R. L. (2016). *Evaluación del rendimiento en grano de cinco cultivares de ÑUÑA (Phaseolus vulgaris L.) por efecto de la fijación biológica del nitrógeno en simbiosis con Rhizobium phaseoli* [Universidad Nacional Mayor de San Marcos].  
<https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/4871>

Dall'Agnol, R. F., Ribeiro, R. A., Ormeño-Orrillo, E., Rogel, M. A., Delamuta, J. R. M., Andrade, D. S., Martínez-Romero, E., & Hungria, M. (2013). *Rhizobium freirei* sp. Nov., a symbiont of Phaseolus vulgaris that is very effective at fixing nitrogen. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(Pt\_11), 4167-4173. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.052928-0>

Del Aguila Ponce, A. (2004). *Determinación del grado de susceptibilidad de cuatro variedades de fríjol (Phaseolus vulgaris L.) al ataque de crisomelidos en Tingo María*. [Teis de grado, Universidad Nacional Agraria de la Selva].  
<http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/530>

Dulanto B., P. A. (1997). *“Efecto del abonamiento foliar orgánico y mineral en el rendimiento de fríjol (Phaseolus vulgaris) y pallar (Phaseolus lunatus)”* [Universidad Nacional Agraria La Molina].  
<http://scielo.sld.cu/img/revistas/cag/v44n2/f0101217.GIF>

Fernández-Pascual, M., María, N. de, & Felipe, M. R. de. (2002). *Fijación biológica del nitrógeno: Factores limitantes*. <https://doi.org/10.13039/501100006280>

García, S. C. (2011). *Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno*. 173-186.

- Granda Mora, K. (2010). *Caracterización e identificación de aislados de Rhizobium: Comportamiento en genotipos de frijol común (Phaseolus vulgaris L.)* [PhD Thesis]. Universidad Central 'Marta Abreu' de Las Villas.
- Granda Mora, K. I., Colás Sánchez, A., Gutiérrez Sánchez, Y., Cupull Santana, R., Alvarado Capó, Y., & Torres Gutiérrez, R. (2016). Efecto de aislados de *Rhizobium* sobre parámetros fenotípicos y la fijación de nitrógeno en genotipos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Centro Agrícola*, 43(1), 62-70.
- Granda-Mora, K. I., Alvarado-Capó, Y., & Torres-Gutiérrez, R. (2017). Efecto en campo de la cepa nativa COL6 de *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* sobre frijol común cv. Percal en Ecuador. *Centro Agrícola*, 44(2), 5-13.
- Hidalgo Rodríguez, J. E. M., Ramos Otiniano, C. C., Lezama Asencio, P. B., Chuna Mogollón, P., & Chaman Medina, M. E. (2019). Coinoculación de *Rhizophagus irregularis* y *Rhizobium* sp. En *Phaseolus vulgaris* L. var. Canario (Fabaceae) "frijol canario. *Arnaldoa*, 26(3), 991-1006. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.263.26309>
- Hubbell, D. H. (1986). Producción y Uso de Inoculantes. *CEIBA*, 27(1), 17-22.
- López-Alcocer, J. de J., Lépiz-Ildelfonso, R., González-Eguiarte, D. R., RodríguezMacías, R., López-Alcocer, E., López-Alcocer, J. de J., Lépiz-Ildelfonso, R., González-Eguiarte, D. R., Rodríguez-Macías, R., & López-Alcocer, E. (2020). Eficiencia en fijación biológica de nitrógeno de cepas de *Rhizobium* spp. Recolectadas en frijol cultivado y silvestre. *Terra Latinoamericana*, 38(4), 841-852. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i4.654>
- Mahaffe, W. F., & Kloepper, J. W. (1997). Microbial changes in the bacterial communities of soil, rhizosphere, and mycorrhiza. *Microbiol. Ecol.*, 43, 58-61.
- Manobanda, M., Gabriel, J., Ayón, F., Castro, C., Vera, M., Morán, J., & Castro, A. (2019). *Nociones de protección vegetal* (Primera edición).
- Miles, A. A., Misra, S. S., & Irwin, J. O. (1938). *The estimation of the bactericidal power of the blood—PubMed*. 38(6), 732-749.

- Mora de Zayas, L. (2005). *Caracterización a nivel genético y molecular de la producción de bacteriocina por «Rhizobium leguminosarum bv. Viciae CEPA Z25»* [Tesis de doctorado]. Universidad de Granada.
- Nápoles García, M. C., Cabrera Pino, J. C., Onderwater, R., Wattiez, R., Hernández Forte, I., Martínez González, L., & Núñez Vázquez, M. (2016). Señales producidas por *Rhizobium leguminosarum* en la interacción con frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Cultivos Tropicales*, 37(2), 37-44.
- Neira Santa Cruz, J. (2019). *Aislamiento y evaluación de la eficiencia simbiótica de rizobios de Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit y Centrosema macrocarpum benth. Bajo condiciones de invernadero* [Universidad Nacional de San Martín]. <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/3597>
- Ormaza Catuto, J. I. (2018). *Respuesta de tres variedades de frejol Phaseolus vulgaris L. a la aplicación de bioestimulante* [Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/36148>
- Paredes, M. C. (2013). *Fijación biológica de nitrógeno en leguminosas y gramíneas* [Tesis de grado, Pontificia Universidad Católica Argentina]. <https://repositorio.uca.edu.ar/handle/123456789/393>
- Paxi Churata, S. E. (2017). *Evaluación de cepas nativas de Rhizobium sp. Aisladas de cultivos de tarwi (Lupinus mutabilis), haba (Vicia faba) y alfalfa (Medicago sativa) en base a tres dosis de manitol en el altiplano norte—La Paz* [Tesis de grado, Universidad Mayor de San Andrés]. <http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/13207>
- Pérez-Jaramillo, J. E., Carrión, V. J., Bosse, M., Ferrão, L. F. V., de Hollander, M., Garcia, A. A. F., Ramírez, C. A., Mendes, R., & Raaijmakers, J. M. (2017). Linking rhizosphere microbiome composition of wild and domesticated *Phaseolus vulgaris* to genotypic and root phenotypic traits. *The ISME Journal*, 11(10), 2244-2257. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.85>
- Quicaliquín Tacuamán, D. F. (2019). *Determinación del contenido nutricional en harinas de habichuela (Phaseolus lunatus baby lima bean), haba pallar (Phaseolus lunatus L.), maca (Lepidium meyenii) y fréjol (Phaseolus vulgaris)*

- como fuentes de carbohidratos y minerales* [Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/30177>
- Ramírez, J. W. A., Vásquez, N. M. Q., Torres, G. V., Ruiz, G. V. F., Duarte, C. K., Espinoza, W. R. R., Dávila-Tafur, K., & Bardales, J. V. (2020). SOPORTE DE *Ricinus communis* (HIGUERILLA) EN EL RENDIMIENTO DE *Phaseolus vulgaris* L. (FREJOL), EN LA REGIÓN SAN MARTÍN, PERÚ. *Folia Amazónica*, 29(1), 161-167. <https://doi.org/10.24841/fa.v29i1.519>
- Schmeisser, C., Liesegang, H., Krysciak, D., Bakkou, N., Le Quéré, A., Wollherr, A., Heinemeyer, I., Morgenstern, B., Pommerening-Röser, A., Flores, M., Palacios, R., Brenner, S., Gottschalk, G., Schmitz, R. A., Broughton, W. J., Perret, X., Strittmatter, A. W., & Streit, W. R. (2009). *Rhizobium* sp. Strain NGR234 Possesses a Remarkable Number of Secretion Systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(12), 4035-4045. <https://doi.org/10.1128/AEM.00515-09>
- Somasegaran, P., & Hoben, H. J. (1994). *Quantifying the Growth of Rhizobia* | SpringerLink. [https://doi.org/10.1007/978-1-4613-8375-8\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4613-8375-8_5)
- Torres Gutiérrez, R. T., Remans, R., Willems, A., Eichler-Loebermann, B., Fernández-Pascual, M., Morales, M. A., Michiels, J., & Vanderleyden, J. (2009). *Morphological Characterisation and Genetic Identification of Rhizobacteria in Cuban Agricultural Soils*. 1.
- Trabelsi, D., Mengon, A., Ben Amar, H., & Mhamdi, R. (2011). *Effect of on-field inoculation of Phaseolus vulgaris with rhizobia on soil bacterial communities* | FEMS Microbiology Ecology | Oxford Academic. 77. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01102.x>
- Valderrama Pacho, V. (2021). “*Caracterización fitoquímica del snack de frijol nativo (Phaseolus sp.) y su potencial para los agronegocios en la provincia de Acobamba – Huancavelica*” [Universidad Nacional de Huancavelica]. <https://repositorio.unh.edu.pe/bitstream/handle/UNH/3997/TESIS-MAESTRIA-CIENCIAS%20DE%20INGENIER%C3%8DA-VALDERRAMA%20PACHO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Valladolid, A. (2001). *Validación de diferenciales de frijol común (Phaseolus vulgaris*



- L.) para evaluar la respuesta a la inoculación con cepas de *Rhizobium* (Noviembre, 1993).  
[https://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/860/1/Valladolid-Cultivo\\_Frijol\\_costa.pdf](https://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/860/1/Valladolid-Cultivo_Frijol_costa.pdf)
- Vera, F. J. T., Rodríguez-Navarro, D. N., & Contreras, M. A. (2006). Inoculantes de «*Rhizobium*»: Tipos, soportes sólidos e inoculación de semillas. *Fijación de nitrógeno: fundamentos y aplicaciones, 2006, ISBN 84-611-1198-2, págs. 304-316, 304-316.*  
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6516285>
- Villalobos Flórez, J. G., & Niño Céspedes, G. A. (2020). *Caracterización de Consumo de Hidrocarburos Totales de Petróleo y Fijación de Nitrógeno Atmosférico por Kribbella sp Nativa del Piedemonte Llanero.*  
<https://repository.usta.edu.co/handle/11634/28200>

Efecto de la inoculación de  
cepas de *Rhizobium* eficientes  
en la fijación biológica de  
nitrógeno sobre los parámetros  
de rendimiento de *Phaseolus*  
*vulgaris* “frejol común” var.  
panamito bajo condiciones

*por* Jean Claude Rodríguez Peralta

---

**Fecha de entrega:** 12-abr-2023 09:05a.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2062531653

**Nombre del archivo:** Vers.\_final\_AGRONOM\_A\_-\_Jean\_Claude\_Rodr\_guez\_Peralta.docx (7.51M)

**Total de palabras:** 12625

**Total de caracteres:** 68677

Efecto de la inoculación de cepas de *Rhizobium* eficientes en la fijación biológica de nitrógeno sobre los parámetros de rendimiento de *Phaseolus vulgaris* "frejol comun" var. panamito bajo condiciones

INFORME DE ORIGINALIDAD

<b>25%</b>	<b>25%</b>	<b>4%</b>	<b>9%</b>
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>hdl.handle.net</b> Fuente de Internet	<b>10%</b>
<b>2</b>	<b>repositorio.unsm.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>2%</b>
<b>3</b>	<b>objetos.univalle.edu.co</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>4</b>	<b>Submitted to Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD,UNAD</b> Trabajo del estudiante	<b>1%</b>