

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**



**“CEPAS SOLUBILIZADORAS DEL FÓSFORO EN EL  
DESARROLLO DEL FRIJOL CARAOTA (*Phaseolus vulgaris* L.)”**

**Presentada por:**

**CELIA CRUZ SILVERA PABLO**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAGISTER SCIENTIAE EN PRODUCCION AGRICOLA**

**Lima-Perú**

**2017**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

**“CEPAS SOLUBILIZADORAS DEL FÓSFORO EN EL  
DESARROLLO DEL FRIJOL CARAOTA (*Phaseolus vulgaris* L.)”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAGISTER SCIENTIAE**

**Presentada por  
CELIA CRUZ SILVERA PABLO**

**Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado**

**M.S. Rubén Bazán Tapia  
PRESIDENTE**

**Dr. Oscar Loli Figueroa  
PATROCINADOR**

**Dra. Doris Zúñiga Dávila  
CO-PATROCINADORA**

**Dr. Félix Camarena Mayta  
MIEMBRO**

**Mg.Sc. Gilberto Rodríguez Soto  
MIEMBRO**

## DEDICATORIA

A DIOS, mi guía constante  
de cada día, a mi PADRE  
y ABUELA, por su enseñanzas  
de vida, que desde el cielo  
cuidan mis pasos..

A mi madre y hermanos, por su  
comprensión y apoyo brindado,  
por creer en mí para cumplir un  
sueño más en esta vida.

En los retos de la vida, la fuerza de voluntad y la perseverancia, son principios  
para lograr lo que te propones.

*“Los compromisos se cumplen, los sueños también...”*

## **AGRADECIMIENTOS**

- A la Dra. Doris Zúñiga Dávila y Dr. Oscar Loli Figueroa, patrocinadores del presente trabajo, por su asesoramiento e invaluable apoyo en este proceso.
- Al Ing. Rubén Bazán Tapia, por su apoyo incondicional y acertadas sugerencias.
- A todas las personas del laboratorio de Ecología Microbiana “Marino Tabusso” y el laboratorio de Análisis de Suelos, Aguas, Plantas y Fertilizantes, de la Universidad Nacional Agraria la Molina, por su colaboración y asesoría.
- A Jessica, Jashila, Joshelin e Isabel, por su apoyo incondicional en todo este tiempo y brindarme aprendizajes de vida.
- A todas las personas que de una u otra forma me alentaron y colaboraron desinteresadamente e hicieron posible que hoy pueda decir misión cumplida.

## ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
I INTRODUCCION.....	01
II REVISION DE LITERATURA.....	03
2.1 EL FOSFORO EN LA NUTRICION DE LAS PLANTAS.....	03
2.2 FOSFORO EN EL SUELO.....	05
2.2.1 Formas de fósforo en el suelo.....	06
2.2.2 Factores que influyen en la disponibilidad de P en el suelo....	07
2.3 ROCA FOSFATADA COMO FERTILIZANTE.....	09
2.4 LOS BIOFERTILIZANTES EN LA AGRICULTURA.....	10
2.4.1 Los Microorganismos PGPR.....	10
2.4.2 Mecanismos de solubilización de fósforo por los PGPR.....	13
2.4.3 El <i>Rhizobium</i> como solubilizadora de fósforo.....	15
2.4.4 Factores que influyen la nodulación .....	16
2.5 FRIJOL ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	19
2.5.1 Fisiología del frijol Caraota (frijoles negros).....	19
2.5.2 Importancia del P en la nutrición del frijol.....	20
III MATERIALES Y METODOS.....	22
3.1 Ubicación.....	22
3.2 Materiales.....	22
3.2.1 Material biológico.....	22
3.2.1.1 Cepas.....	22
3.2.1.2 Semilla.....	26
3.2.2 Material no biológico.....	26
3.2.2.1 Sustrato.....	26
3.2.2.2 Fuente de fósforo.....	28
3.3 Componentes en estudio.....	28
3.4 Tratamientos en estudio.....	29
3.5 Parámetros evaluados.....	30

3.6	Diseño experimental.....	30
3.7	Disposición del campo experimental.....	32
3.8	Metodología.....	32
3.8.1	Aislamiento y purificación de las cepas.....	32
3.8.2	Prueba biológica en Invernadero.....	33
3.8.3	Determinaciones de laboratorio.....	34
3.8.3.1	Determinación de Nitrógeno total (Método MicroKjeldahl).....	34
3.8.3.2	Determinación de Fósforo total.....	35
IV	RESULTADOS Y DISCUSION.....	36
4.1	Aislamiento y autenticación.....	36
4.2	Interacciones de funciones de las cepas aisladas de nódulos de frijol caraota.....	36
4.3	Efecto de la materia seca.....	38
4.3.1	A nivel de cepas.....	38
4.3.2	A diferentes niveles de fósforo aplicado.....	42
4.3.3	A diferentes tipos de suelo.....	46
4.4	Efecto de la nodulación.....	47
4.4.1	A nivel de cepas.....	47
4.4.2	A diferentes niveles de fósforo aplicado.....	50
4.4.3	A diferentes tipos de suelo.....	52
4.5	Efecto en el contenido de N y P a la floración.....	53
4.5.1	A nivel de cepas.....	53
4.5.2	A diferentes niveles de fósforo aplicado.....	56
4.5.3	A diferentes tipos de suelo.....	59
4.6	Efecto de los factores en estudio en los componentes de rendimiento.....	61
4.6.1	A nivel de cepas.....	61

4.6.2	A diferentes niveles de fósforo aplicado.....	66
4.6.3	A diferentes tipos de suelo.....	69
4.7	En la cantidad de N y P extraído en el grano de frijol.....	70
4.7.1	A nivel de cepas.....	70
4.7.2	A diferentes niveles de fósforo aplicado.....	72
4.7.3	A diferentes tipos de suelo.....	73
V	CONCLUSIONES.....	75
VI	RECOMENDACIONES.....	76
VII	BIBLIOGRAFIA.....	77
VIII	ANEXO.....	86

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 01	Formas y terminología del P.....	07
CUADRO 02	Especies de <i>Rhizobium</i> , clasificadas según velocidad de crecimiento.....	17
CUADRO 03	Caracterización y tiempo de incubación de cepas aisladas a partir del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) (Silvera, 2004).	22
CUADRO 04	Pruebas de pureza y selección de cepas de <i>Rhizobium</i> , aisladas a partir de nódulos del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) (Silvera, 2004).....	24
CUADRO 05	Prueba de solubilización de fósforo de diferentes cepas seleccionadas de <i>Rhizobium</i> , aisladas a partir del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	25
CUADRO 06	Análisis físico químico de los suelos utilizados en el experimento.....	27
CUADRO 07	Disposición de los tratamientos en estudio.....	29
CUADRO 08	Esquema del Análisis de variancia (ANVA).....	31
CUADRO 09	Comportamiento de las cepas de <i>Rhizobium</i> , aisladas de frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.), como fijadoras de nitrógeno, promotoras de crecimiento y solubilizadoras de P.....	37
CUADRO 10	Efecto de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de materia seca a la floración, del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) con diferentes niveles de P aplicado, en ambos tipos de suelos...	38
CUADRO 11	Efecto de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de materia seca a la floración, del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a diferentes niveles de P (Roca Fosfatada) aplicado, en el suelo Entisol de Costa.....	39
CUADRO 12	Efecto de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de materia seca a la floración, del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) con diferentes niveles de P aplicado, en el suelo Inceptisol de Selva.....	40
CUADRO 13	Efecto de los niveles de P (Roca fosfatada) aplicado y cepas solubilizadoras de P en el peso total de la parte aérea del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en ambos tipos de suelos.....	43
CUADRO 14	Efecto de los niveles de P aplicado y cepas de <i>Rhizobium</i> , en la materia seca del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en un suelo Entisol de Costa.....	43
CUADRO 15	Efecto de los niveles de P aplicado y cepas de <i>Rhizobium</i> , en la materia seca del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en un suelo Inceptisol de Selva.....	44
CUADRO 16	Efecto del tipo de suelo en la acumulación de materia seca a la floración del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) inoculada con cepas de <i>Rhizobium</i> solubilizadoras de P, a diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado.....	47



CUADRO 17	Efecto de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en la nodulación del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelos.....	48
CUADRO 18	Efecto de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en la nodulación del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada), aplicado, en un suelo Entisol de Costa.....	49
CUADRO 19	Efecto de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en la nodulación del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Inceptisol de Selva.....	50
CUADRO 20	Comportamiento de las cepas de <i>Rhizobium</i> , inoculadas a diferentes niveles de P (Roca fosfatada), en la nodulación del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelos.....	50
CUADRO 21	Comportamiento de las cepas de <i>Rhizobium</i> , inoculadas a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en la nodulación del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en un suelo Entisol de Costa.....	51
CUADRO 22	Comportamiento de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en la nodulación del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) con diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Inceptisol de Selva..	52
CUADRO 23	Efecto del tipo de suelo, en la actividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> solubilizadoras de P, en la nodulación del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.), con diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado.....	52
CUADRO 24	Efecto de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de N y P acumulado en la materia seca del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a la floración, con diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelos.....	53
CUADRO 25	Efecto de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de N y P acumulado en la materia seca, del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a la floración, a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Entisol de Costa.....	55
CUADRO 26	Efecto de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de N y P acumulado en la materia seca del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en la etapa de floración, a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Inceptisol de Selva.....	56
CUADRO 27	Efecto del P (Roca fosfatada) aplicado y la capacidad solubilizadora de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de N y P (mg/planta) acumulado en la materia seca del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.), en la etapa de floración, en dos tipos de suelo.....	57
CUADRO 28	Efecto de la aplicación fosfatada y la capacidad solubilizadora de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de N y P (mg/planta) acumulado en la materia seca del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.), en la etapa de floración, en un suelo Entisol de Costa.....	58

CUADRO 29	Efecto de la aplicación fosfatada y la capacidad solubilizadora de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de N y P (mg/planta) acumulado en la materia seca del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.), en la etapa de floración, en un suelo Inceptisol de Selva.....	59
CUADRO 30	Influencia del tipo de suelo en la capacidad solubilizadora de P de las cepas de <i>Rhizobium</i> , a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en el contenido de N y P (mg/planta) acumulado en la materia seca del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	59
CUADRO 31	Efecto de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en los componentes de rendimiento del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelos.....	61
CUADRO 32	Efecto de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en los componentes de rendimiento del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Entisol de Costa.....	63
CUADRO 33	Efecto de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en los componentes de rendimiento del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Inceptisol de Selva.....	63
CUADRO 34	Efecto de los niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado y la actividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en los componentes de rendimiento del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelos.....	66
CUADRO 35	Efecto de los niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado y la actividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en los componentes de rendimiento del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en un suelo Entisol de Costa.....	67
CUADRO 36	Efecto de los niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado y la actividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en los componentes de rendimiento del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en un suelo Inceptisol de Selva.....	67
CUADRO 37	Efecto del tipo de suelo y la actividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en los componentes de rendimiento del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) con diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado.....	70
CUADRO 38	Efecto de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en la cantidad de N y P acumulado en el grano del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelo.....	70

CUADRO 39	Efecto de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en la cantidad de N y P acumulado en el grano del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Entisol de Costa.....	71
CUADRO 40	Efecto de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en la cantidad de N y P acumulado en el grano del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Inceptisol de Selva.....	71
CUADRO 41	Efecto de los niveles de P (Roca fosfatada) aplicado y la actividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de N y P acumulado en el grano del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelos.....	72
CUADRO 42	Efecto de los niveles de P (Roca fosfatada) aplicado y la actividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de N y P acumulado en el grano del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en un suelo Entisol de Costa.....	73
CUADRO 43	Efecto de los niveles de P (Roca fosfatada) aplicado y la actividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de N y P acumulado en el grano del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en un suelo Inceptisol de Selva.....	73
CUADRO 44	Efecto del tipo de suelo y la actividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de N y P acumulado en el grano del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a diferentes de P (Roca fosfatada) aplicado.....	74
CUADRO 45	Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en la acumulación de materia seca a la floración (PSPA), del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.....	86
CUADRO 46	Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el peso seco de vainas a la floración (PSV), del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.....	87
CUADRO 47	Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el peso seco total parte aérea (PTPA), del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.....	87
CUADRO 48	Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en la nodulación a la floración, del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.....	88

CUADRO 49	Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en la acumulación de N en la materia seca a la floración (mg/planta), del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.....	88
CUADRO 50	Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en la acumulación de P en la materia seca a la floración (mg/planta), del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.....	89
CUADRO 51	Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en la producción de vainas/planta, del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.....	89
CUADRO 52	Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en la producción de granos/planta, del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.....	90
CUADRO 53	Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el peso de granos/planta, del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.....	90
CUADRO 54	Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el peso 100 semillas, del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.....	91
CUADRO 55	Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el rendimiento (kg/ha) del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.....	91
CUADRO 56	Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de N a nivel de grano (mg N/planta), del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.....	92
CUADRO 57	Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de P a nivel de grano (mg P/planta) del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.....	92

## ÍNDICE DE FOTOS Y FIGURAS

FIGURA 01	Esquema de la movilización del fósforo en el suelo e inmovilización del P por bacterias fijadoras de N.....	14
FIGURA 02	Efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> solubilizadores de P, en la acumulación de materia seca parte Aérea (PSPA) a la floración, del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.), a diferentes niveles de P, en dos tipos de suelos.....	39
FIGURA 03	Efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> solubilizadores de P, en el peso seco de vainas a la floración (PSV) del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.), a diferentes niveles de P, en dos tipos de suelos.....	41
FIGURA 04	Efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> solubilizadores de P, en el peso total parte aérea a la floración (PTPA) del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.), a diferentes niveles de P, en dos tipos de suelos.....	42
FIGURA 05	Comparativo de la efectividad de las cepas solubilizadoras de P con diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en la acumulación de materia seca (PSPA) a la floración, del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelos.....	44
FIGURA 06	Comparativo de la efectividad de las cepas solubilizadoras de P con diferentes niveles de fósforo aplicado, en el peso seco de vainas (PSV) a la floración, del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelos.....	45
FIGURA 07	Comparativo de la efectividad de las cepas solubilizadoras de P con diferentes niveles de fósforo aplicado, en la acumulación de materia seca total (PTPA) del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelos.....	45
FIGURA 08	Influencia de las cepas solubilizadoras de P, en la materia seca (Peso seco parte aérea (PSPA), peso seco de vainas (PSV) y peso total (PTPA)) a la floración, del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a diferentes niveles de P aplicado, en dos tipos de suelos.....	47
FIGURA 09	Efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> en la nodulación del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.), a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos condiciones de suelo.....	48
FIGURA 10	Comparativo de la efectividad de las cepas solubilizadoras de P con diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en la nodulación del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelos.....	51
FIGURA 11	Efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de N acumulado en la materia seca (mg N/planta) del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en la etapa de floración, con diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelos.....	54

FIGURA 12	Efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> , en el contenido de P acumulado en la materia seca (mg P/planta) del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) a la etapa de floración, a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelos.....	54
FIGURA 13	Comparativo de la efectividad de las cepas solubilizadoras de P con diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en la cantidad de N (mg N /planta) acumulado en la materia seca del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelo.....	57
FIGURA 14	Comparativo de la efectividad de las cepas solubilizadoras de P con diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en la cantidad de P (mg P /planta) acumulado en la materia seca el frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos condiciones de suelo.....	58
FIGURA 15	Influencia del tipo de suelo en la capacidad solubilizadora de P de las cepas de <i>Rhizobium</i> , a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en el contenido de N (mg/planta) acumulado en la materia seca del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	60
FIGURA 16	Influencia del tipo de suelo en la capacidad solubilizadora de P de las cepas de <i>Rhizobium</i> , a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en el contenido de P (mg/planta) acumulado en la materia seca del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	60
FIGURA 17	Efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> en el número de vainas/planta en el frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.), a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelo.....	62
FIGURA 18	Efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> en la cantidad de granos/planta del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.), a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelos.....	64
FIGURA 19	Efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> en el peso de granos/planta del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.), a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelos.....	65
FIGURA 20	Efectividad de las cepas de <i>Rhizobium</i> en el rendimiento (kg/ha) del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.), a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelos.....	65
FIGURA 21	Efectividad de las cepas solubilizadoras de P y diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en la producción de vainas/planta del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelos.....	67
FIGURA 22	Efectividad de las cepas solubilizadoras de P a diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en el número de granos/planta del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelos.....	68

FIGURA 23	Efectividad de las cepas solubilizadoras de P a diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en la producción de granos (gr/planta) del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelos.....	68
FIGURA 24	Efectividad de las cepas solubilizadoras de P a diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en el rendimiento de grano (kg/ha) del frijol Caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en dos tipos de suelo.....	69
FOTO 01	Pruebas de solubilización de fosfato a nivel de laboratorio.....	26
FOTO 02	Disposición de los tratamientos.....	30
FOTO 03	Comparativo de crecimiento en diferentes niveles de P aplicado...	46

## RESUMEN

El empleo de los biofertilizantes en la agricultura, es una de las alternativas para enfrentar la baja disponibilidad de nutrientes, como es el caso del P en los suelos agrícolas. En el presente estudio, se tiene como objetivo evaluar la capacidad de la bacteria *Rhizobium* como solubilizadora de P y su efecto en el crecimiento, la biomasa total a la floración, rendimiento de grano, cantidad de N y P extraído (mg/planta), utilizando como cultivo indicador el frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). Para este proceso, se utilizó bacterias del mismo género, que fueron aisladas de los nódulos del frijol Caraota. Previamente a nivel de laboratorio, éstas cepas fueron caracterizadas, purificadas, evaluadas y luego seleccionadas por su capacidad de solubilizar fosfato tricálcico, Se inoculó en las semillas de frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y fueron sembradas en dos tipos de suelos (Entisol de Costa e Inceptisol de Selva) con diferentes niveles de P (100 y 200 ppm), utilizando como fuente la roca fosfatada. Las variables evaluadas fueron: incremento de la materia seca, contenido de N y P a la floración; formación y producción de grano/planta; rendimiento y contenido de N y P en el grano. Los resultados obtenidos muestran mayores incrementos de materia seca y rendimiento de grano en las mezclas combinadas de cepas **C3**= (C1-1R2C1+C3-1R2C1-2) y **C4** = (C5-1R1C2-2+C6-1R2C2). La efectividad del *Rhizobium* como solubilizadora de P, dependió de la presencia del P no disponible y de las características físico-químicas de los suelos evaluados, presentando mayor solubilización de P, en el suelo Inceptisol ácido. En el suelo Entisol de Costa durante la etapa de floración, se logró un mayor incremento de la biomasa vegetal, rendimiento de grano y el contenido de N y P (mg/planta).

Palabra clave: *Rhizobium*, biofertilizante, solubilizadora de P, roca fosfatada, Entisol, Inceptisol.



## ABSTRACT

The use of bio-fertilizers in agriculture, is one of the alternatives to address the low availability of nutrients, such as is the case of the P in agricultural soils. In the present study, aims to assess the ability of the bacteria *Rhizobium* how solubilizing of P and its effect on growth, total biomass at flowering, grain yield and amount of N and P removed (mg/plant), using as a control crop beans Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). Bacteria of the same genus, which were isolated from bean nodules Caraota was used for this process. Previously at laboratory level, these strains were characterized, purified, evaluated and then selected for their ability to solubilize tricalcium phosphate, was inoculated bean seeds Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) and were seeded in two types of soil (Entisol of Costa and Inceptisol of Forest) with different levels of P (200 and 0.100 ppm), using as a source phosphate rock. The variables evaluated were: increase in dry matter; content of N and P to flowering; formation and production of grain/plant; yield and content of N and P in the grain. The results show greater increases of dry matter and grain yield in the combined mixtures of strains C3= (C1-1R2C1+C3-1R2C1-2 and C4 = (C5-1R1C2-2+C6-1R2C2). The effectiveness of *Rhizobium* as solubilizer of P, dependent upon the presence of the P not available and physical-chemical characteristics of the soils evaluated, presenting greater solubilization of P in the soil Inceptisol acid.. In the soil Entisol Costa during the flowering stage, there was a greater increase in plant biomass, grain yield and content of N and P (mg/plant).

**Keywords:** *Rhizobium*, biofertilizers, solubilizing, P, phosphate rock, Entisol, Inceptisol.

## I. INTRODUCCIÓN

El fósforo (P) es un elemento escaso en la naturaleza. Actualmente diversos investigadores advierten sobre una inminente crisis de fósforo, ya que las reservas mundiales de este elemento se encuentran en un proceso de agotamiento (Cordell et al. 2009, Vaccari 2009, Gilbert 2009). Las mayores reservas de este elemento se encuentran en los sedimentos marinos que constituyen una fuente muy difícil de utilizar (Cramer 2010) y en la mayoría de suelos, el P<sub>i</sub> en solución es insuficiente para cubrir los requerimientos de la planta (Kirkby y Johnston, 2008).

Los yacimientos de roca fosfatada, materia prima empleada en la producción de fertilizantes fosfóricos ha disminuido y al ser un insumo no renovable, se vislumbra un encarecimiento de este tipo de abonos sintéticos en un futuro no muy lejano. Otros de los aspectos limitantes es la baja disponibilidad de P en los suelos agrícolas, presentes en los suelos formando compuestos (FePO<sub>4</sub> y AlPO<sub>4</sub> en suelos ácidos y Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> en suelos básicos), lo que hace que la disponibilidad sea aún menor, y al ser un nutriente regulado por el pH (Scheffer y Schachtschabel, 1992) su disponibilidad en la mayoría de los suelos este limitada.

La insuficiencia de este elemento en el suelo puede influir en el retraso de la cosecha, en el desarrollo y en la madurez, disminuyendo los rendimientos. A raíz de estos inconvenientes, el mundo microbiano es una de las alternativas que está cobrando interés como medio de adquisición del fósforo por la planta, investigaciones actuales están orientadas a identificar microorganismos con capacidad para solubilizar fosfatos no solubles del suelo, como son FePO<sub>4</sub> y AlPO<sub>4</sub> en suelos ácidos y Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> en suelos básicos. Por esta razón, los microorganismos solubilizadores de fosfatos vienen desarrollando un papel fundamental en cuanto a la movilización y disponibilidad de este elemento; además, presentan ventajas frente a los fertilizantes químicos, colaborando con la preservación del medio ambiente, generando de esta manera una agricultura sostenible (Chen, et al., 2006).

El presente trabajo de investigación está orientado a determinar si los microorganismos del género *Rhizobium*, aisladas del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) tienen la capacidad de solubilizar fosfatos procedentes de la roca fosfatada y fosfatos no solubles en el suelo.

**Objetivos:**

- Evaluar la efectividad de las cepas de *Rhizobium*, aisladas del Frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) como solubilizadoras de fósforo y otras cualidades a nivel de laboratorio.
- Evaluar la capacidad solubilizadora de P de las cepas seleccionadas de *Rhizobium*, en condiciones de invernadero, utilizando como planta indicadora el Frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelo (Suelo Inceptisol ácido y suelo Entisol ligeramente alcalino).

**Objetivos específicos:**

- Seleccionar cepas solubilizadoras de P a partir del aislamiento de bacterias del género *Rhizobium* procedentes del Frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)
- Determinar las características de las cepas *Rhizobium* y su comportamiento como biofertilizantes y/o promotoras de crecimiento.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 EL FÓFORO EN LA NUTRICIÓN DE LAS PLANTAS

Luego del elemento nitrógeno, el fósforo es el nutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Su principal función fisiológica es intervenir en procesos de acumulación y liberación de energía durante el metabolismo celular (Coyne, 2000). Las plantas absorben el elemento de la solución suelo, donde se encuentra en muy baja concentración, en niveles que varían entre 5 a 30 ppm. Estos bajos índices del nutriente se deben a que el fósforo soluble reacciona con iones como el calcio, el hierro o el aluminio que provocan su precipitación o fijación, disminuyendo su disponibilidad para los vegetales (Fernández *et al.*, 2005).

Las plantas absorben el P en forma inorgánica en estado soluble, esta fracción se ve limitada por el pH del suelo, cuando se aplica un fertilizante fosfatado soluble, casi el 90% de la fracción pasa rápidamente a formas de P no disponible, no siendo utilizados por la planta (Fernández *et al.*, 2005).

A valores de pH 6.5, la mayoría del  $P_i$  está presente como ión  $H_2PO_4^-$ , forma que puede ser absorbida por las plantas debido a su solubilidad en agua, a este pH la precipitación de los fosfatos de aluminio y calcio disminuye (Fuhrmann *et al.*, 1995) A pH entre 6.5 y 7.5, el  $P_i$  en la solución del suelo está presente principalmente como  $H_2PO_4^-$  y  $HPO_4^{2-}$ , esta última forma también puede ser absorbida por las raíces de las plantas. En el otro extremo, es decir, debajo de pH 4.5, el P está presente como  $H_3PO_4$ , una forma química extremadamente reactiva, por lo que en suelos altamente ácidos, la fijación o reversión del fosfato es bastante rápida (Arai y Spark, 2007).

En las plantas, los principales procesos bioquímicos, la fotosíntesis y la respiración, son activados por el  $P_i$  y/o sus derivados orgánicos. Los ésteres de fosfato actúan, en general, como portadores energéticos en varias rutas metabólicas y como precursores de los ácidos nucleicos, mientras los fosfolípidos juegan papel importante en la integridad y función de las membranas celulares (Calderón-Vásquez *et al.*, 2009; Sánchez, 2007).

Las semillas son el principal reservorio de P, particularmente en las vacuolas. Allí, este elemento se almacena en forma de ácido fítico, el cual quelata la mayor parte de los cationes contenidos en la semilla como es el caso del  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{K}^+$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Zn}^{2+}$  (Maathuis, 2009).

La absorción de fósforo por las plantas, está influenciada por la temperatura y el pH, reduciéndose la absorción en temperaturas bajas y en pH mayor de 7.2 y menores de 5.5. La absorción de ion  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  se incrementa en valores más bajos, mientras que en valores más altos se incrementa la absorción  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Otros factores que intervienen son la humedad, la aireación y la disponibilidad del nutriente (Suñer *et al.*, 2005).

La mayoría de los ecosistemas presentan baja disponibilidad de P asimilable en el suelo, su concentración varía en forma considerable temporal y espacialmente (Robinson, 2005) y las plantas para incrementar la adquisición del  $\text{P}_i$  y/o para mejorar la eficiencia de su utilización interna, han desarrollado diferentes estrategias morfológicas, bioquímicas y simbióticas adaptativas (Vance *et al.*, 2003; Lambers *et al.*, 2006).

Las plantas toman P casi  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$  en la solución del suelo y lo concentran hasta cerca de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  en la savia bruta, además, pueden acumular hasta casi  $4000 \text{ mg kg}^{-1}$  en las semillas. Debido a su importancia para los procesos biológicos, los cambios en la disponibilidad de P en el suelo pueden tener efectos muy significativos sobre la función y estructura de los ecosistemas, por ejemplo, sobre la fijación de  $\text{N}_2$  y/o el secuestro del C (Tiessen, 2008).

Las plantas pueden absorber pequeñas cantidades de anhídrido fosfórico ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) por contacto directo de las raíces con los elementos sólidos, pero la mayor parte del anhídrido fosfórico ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) que necesitan lo toma de la solución del suelo, en forma de iones fosfatos. El ácido fosfórico no sólo es parte integrante de numerosos componentes de la planta, sino que también participa directamente en los fenómenos metabólicos y energéticos. El metabolismo de los hidratos de carbono es regulado en la planta por los fosfatos ricos en energía (Gros, 1996).

La absorción de P se da mediante gradiente de concentración, vía absorción activa, la concentración de fosfato en células radiculares y en la savia del xilema es de 100 a 1000 veces mayor que el de la solución suelo (Faquín, 2005).

## 2.2 FOSFORO EN EL SUELO

Más del 90% del P total se encuentra en el sistema suelo, y menos del 10% en el resto de sistemas biológicos. El contenido de P en la litosfera es de aproximadamente 1200 mg kg<sup>-1</sup>, mientras en los suelos se presenta en un rango de 200 a 5000 mg Kg<sup>-1</sup>, con un promedio de 600 mg Kg<sup>-1</sup>. En las rocas primarias y en los suelos jóvenes, el P se encuentra unido principalmente al Ca y Mg, dando al P una solubilidad típica cercana a 0.5 mg L<sup>-1</sup>. La meteorización de los minerales cambia la solubilidad del P, dado que los compuestos del Ca se lavan de manera preferencial, incrementándose la abundancia relativa del Fe y Al, por cuanto la solubilidad del P llega a ser controlada por los fosfatos de Fe (Fe-P) y de aluminio (Al-P), la cual es mucho más baja que los fosfatos de Ca (Tiessen, 2008; Arai y Sparks, 2007).

La cantidad total de fósforo en el suelo puede ser alta, sin embargo este puede estar presente en forma no disponible o en formas que estén solo disponibles fuera de la rizósfera. En algunos suelos, más del 80% del fósforo aplicado al suelo se vuelve inmóvil, y por lo tanto no asimilable para la absorción por parte de las plantas. Entre el 20 al 80% del fósforo del suelo está en forma orgánica, el remanente se puede encontrar en la fracción inorgánica, contenido en cerca de 170 formas minerales de fósforo (Schachtman, 1998).

Se puede encontrar dos formas de fósforo en el suelo: orgánico e inorgánico. En el caso del P orgánico, entre un 3 a 85% y se puede obtener después de un proceso de descomposición bacteriana, pasando a formas disponibles entre un 15 u 85% del fósforo total del suelo, siendo la mayoría de bajo peso molecular (Arzuaga, 2005). El P inorgánico, se presenta en gran parte en forma insoluble, dificultando su proceso de solubilización. El ion fosfato puede ser absorbido por los coloides que se encuentran en el suelo y formar enlaces de gran estabilidad con los hidróxidos de Ca, Fe, Mn y Al (Meuer *et al.*, 2006; Fassbender, 1987).

### 2.2.1 Formas de fósforo en el suelo.

El fósforo presente en el suelo se puede dividir en tres grandes grupos y son:

a) Fósforo en solución, representado por el fósforo que está inmediatamente disponible para las plantas y se encuentra en las formas  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  de acuerdo al pH, este grupo se encuentra en cantidades bajas comparadas con el fósforo total. Lo extraído por las plantas es repuesta de la fracción del fósforo lábil. b) Fósforo asimilable, representado por el fósforo débilmente adsorbido, se encuentra en equilibrio directo con el fósforo en solución. c) Fósforo no asimilable, representado por la mayor parte del fósforo del suelo e incluye a los fosfatos quimiadsorbidos a los coloides del suelo, principalmente en óxidos de hierro y aluminio, formando compuestos de baja solubilidad (Raij, 1991). De acuerdo a Mello *et al.* (1988), la máxima solubilidad de este elemento en el suelo se verifica a pH próximo a la neutralidad y la fijación aumenta con el aumento de la acidez o de la alcalinidad.

Son tres los grupos de compuestos que forman la reserva de  $\text{P}_o$  en el suelo: los inositol fosfato (ésteres de inositol fosfato), ácidos nucleicos y fosfolípidos. Estas formas dan cuenta del 50 al 70% del  $\text{P}_o$  del suelo (Kögel-Knabner, 2006). Debido a su gran estabilidad en el suelo, el inositol fosfato (también llamado ácido fítico o fitato), almacena más del 50% del  $\text{P}_o$ , mientras el contenido de fosfolípidos comprende entre 0.5 – 7% del  $\text{P}_o$  total. Los ácidos nucleicos, se originan a partir de la descomposición de microorganismos, animales y restos vegetales, es la fracción más pequeña (< 3% del  $\text{P}_o$  total) (Arai y Sparks, 2007).

En los suelos tropicales altamente meteorizados predomina la formación complejoesfera de P con los óxidos e hidróxidos de hierro y aluminio en los minerales de arcilla (Meurer *et al.*, 2006). La adsorción es un proceso espontáneo que se produce después de la adición de fósforo en el suelo. Al principio, la reacción es reversible y el proceso de la adsorción necesita algún tiempo para alcanzar el equilibrio. Es importante mantener la sustitución de P en la solución para el mantenimiento de la fertilidad suelo. Al estar el fósforo en contacto con el suelo durante mucho tiempo, se vuelve menos disponible apareciendo formas menos lábiles (Reddy *et al.*, 2000).

**CUADRO 01: Formas y terminología del P**

Formas de P	Clasificación	Características	
Inorgánicos	Fosfatos	Ortofosfatos PO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> , HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> y H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Fácilmente extraíble y fácilmente disponible para el metabolismo biológico sin necesidad de conversión a formas más simples
	Polifosfatos	Pirofosfatos y metafosfatos	Moléculas más complejas, se transforman lentamente por el proceso de hidrólisis en ortofosfatos
Orgánicos	Monoesteres de ortofosfatos	Ácido fítico	A lo largo del proceso son convertidos en ortofosfatos por el proceso de mineralización
	Diesteres de ortofosfatos	Lípido, DNA, RNA, glucosa, fosfonatos y ATP	
Disuelto	Inorgánico/Orgánico		Material que pasa a través de un filtro de membrana de 0.45µm
No particulado	Inorgánico/Orgánico		Material que es retenido mediante un filtro 0.45µm
Reactivo	Inorgánico		Responde a la determinación colorimétrica sin proceso de digestión oxidativa
No reactivo	Orgánico		Fracciones que son convertidas a ortofosfatos a través de la descomposición de la materia orgánica (digestión oxidativa)
Lábil	Orgánico/Inorgánico		Fósforo que está adsorbido y que puede ser rápidamente liberado.
No lábil	Orgánico/Inorgánico		Fósforo que está adsorbido y que no puede ser rápidamente liberado, se encuentra en forma no disponible

Fuente: Haygarth & Jarvis, (1999); McDowell *et al.*, (2004).

### 2.2.2 Factores que influyen en la disponibilidad de P en el suelo

Varios son los factores que están involucrados en la disponibilidad del fósforo para el crecimiento, tales como el tipo y cantidad de arcilla, la época de aplicación del fertilizante, la aireación del suelo, la compactación del suelo, humedad del suelo, nivel de fosfato en el suelo y presencia de otros nutrientes. Otro factor determinante de la disponibilidad es el pH, a mayor acidificación, mayor será la cantidad de fósforo que fijará el suelo (Fatecha, 2004).

El fósforo fijado en las arcillas puede contener compuestos fosfatados inorgánicos que son muy insolubles y compuestos orgánicos que sean resistentes a la mineralización por microorganismos presentes en el suelo. Esta fuente de fósforo puede permanecer en



el suelo por muchos años sin estar disponible para las plantas y no aporta a la fertilidad del suelo (Busman, 2002).

Las arcillas 1:1 en los suelos son las responsables de la fijación del fósforo, tales como la caolinita, óxidos e hidróxidos de Fe y Al (comunes en zonas de trópico), y arcillas amorfas como alófana, imogolita y complejos humus-Al (comunes en suelos de ceniza volcánica), retienen o fijan más fósforo que otros suelos. Sin embargo, sin importar el tipo de arcilla presente, el fósforo aplicado al suelo pasa rápidamente a formas menos disponibles (Gros, 1996).

El factor decisivo para el aprovechamiento de los fosfatos en el suelo es sin duda el valor del pH, puesto que de él depende la existencia de diferentes fosfatos. El fosfato dicálcico es el más fácilmente aprovechable, existen sólo entre pH 6.0 y 7.8; por debajo del pH 6.0 aumenta la solubilidad de (los compuestos) fierro y aluminio, formándose fosfatos de Fe y Al insolubles, y por encima de pH 7.5 se forman fosfotricálcico prácticamente insolubles (Tisdale y Nelson, 1991; Domínguez, 1984).

La solubilidad de los hidróxidos de Fe y Al dependen de los grupos OH y decrece cuando el pH aumenta. Los aniones molibdato y sulfatos absorbidos del complejo de cambio así como el fosfato ligado al hierro y aluminio, incrementan su solubilidad cuando sube el pH (Cramer, 2010; Arzuaga, 2005).

Otros nutrientes pueden estimular la absorción de fósforo, como es el calcio en suelos ácidos y el azufre en suelos alcalinos. La presencia de estos nutrientes parece incrementar la disponibilidad de fósforo para la planta, similar caso sucede con la incorporación de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) (Gros, 1996).

Un provisión adecuada de P es importante para las fase de crecimiento de la planta, las limitaciones por deficiencia de P en el inicio vegetativo puede resultar en restricciones en su desarrollo, las cuales la planta no se recupera posteriormente a pesar de incrementar y aplicar el P en niveles adecuados (Furtini *et al.*, 2001).

### 2.3 ROCA FOSFATADA COMO FERTILIZANTE

La roca fosfatada es utilizada en la industria de los fertilizantes cerca del 90%. El 10% restante se usa en la industria de suplementos para alimentación animal y detergentes (Hamond y Day, 1992). Se define como aquella que contiene 30% del  $P_2O_5$  total soluble en ácido cítrico al 2% bajo condiciones estándares. Comparado con el ácido cítrico al 2% y el citrato de amonio neutro y el método del ácido fórmico al 2%, este último predice mejor la efectividad agronómica de las rocas fosfóricas de diversa reactividad y tamaño de partículas (Bolan y Hedley, 2003).

Las rocas fosfóricas son altamente recomendadas para la fertilización en suelos ácidos con alta capacidad de fijación de P. Son más económicas, sin embargo presenta problemas de solubilidad. En este contexto se han desarrollado varias investigaciones para mejorar la efectividad agronómica de la roca fosfatada en suelos agrícolas. Una alternativa es inocular la roca fosfatada con microorganismos solubilizadores de  $P_i$ , los cuales pueden mejorar su disolución, incrementando así la cantidad de  $P_i$  para las plantas (Cramer, 2010; Khan *et al.*, 2009).

Con el fin de incrementar la solubilidad del fosforo y mejorar la efectividad de la roca fosfatada, existen varios métodos, tales como:

- ✓ Acidulación química con ácido sulfúrico y fosfórico (Gyaneshwar *et al.*, 2002; Reddy *et al.*, 2000).
- ✓ Acidulación (bioacidulación) con microorganismos solubilizadores de fosfato (Whitelaw, 2000; Vassilev y Vassileva, 2003; Ramírez, 2005; Osorio, 2009; Reddy, 2000) que son capaces de producir ácidos orgánicos.
- ✓ Mezcla de la roca fosfatada con enmiendas orgánicas: estiércol, residuos de cosecha, abonos verdes, compost (Msolla *et al.*, 2007; Yusdar *et al.*, 2007).

El uso de los microorganismos solubilizadores de fosfato para disolver la roca fosfatada y volverla más soluble está enfocado en una agricultura sostenible, con prácticas más amigables con el ambiente que mantienen un balance ecológico en el

suelo. El uso de inoculantes microbianos o biofertilizantes es considerado como una alternativa al uso de los fertilizantes químicos (Khan *et al.*, 2009). Con el uso de los microorganismos solubilizadores de fosfato se disminuyen los costos de proceso de acidulación y se puede usar de una manera más efectiva la roca fosfatada, evitando el consumo excesivo de ésta (Vassilev *et al.*, 2003).

Para una efectiva utilización de los microorganismos solubilizadores de fosfato, es importante conocer los factores que afectan su efectividad para disolver la roca fosfatada tales como: el tipo de microorganismo (Narsia y Patel, 2000), factores nutricionales, fisiológicos, condiciones de crecimiento en el medio de cultivo y del tipo de roca fosfatada empleada (Schneider *et al.*, 2010).

## **2.4 LOS BIOFERTILIZANTES EN LA AGRICULTURA**

### **2.4.1 Los Microorganismos PGPR**

En los últimos 20 años, el conocimiento sobre los microorganismos solubilizadores de fosfato se ha incrementado significativamente, encontrándose actualmente grupos funcionales como son las bacterias solubilizadoras de fosfato (BSF) que incluyen algunos géneros de actinomicetos. Estas BSF pueden ser de vida libre o establecer relaciones simbióticas con algunas plantas, son capaces de adaptarse, colonizar y persistir en la rizósfera de la planta, favorecer su crecimiento y desarrollo por medio de la solubilización de fosfato bicálcico, tricálcico y de rocas fosfatadas (Patiño, 2010).

Estos microorganismos, especialmente los asociados con las raíces, tienen la habilidad de incrementar el crecimiento de las plantas y su productividad; estos son reconocidos como PGPM por sus siglas en inglés (Plant growth promoting microorganisms) (Rosas *et al.*, 2006). Este grupo de bacterias llamadas rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas (PGPR) incluye el género *Rhizobium* (Sessitsch *et al.*, 2002).

Asimismo, los microorganismos PGPR producen ciertas hormonas promotoras del crecimiento como el ácido indol acético, las giberelinas y las citoquininas, presentes ya sea en la rizósfera o en los tejidos de las plantas. Estas sustancias estimulan el mayor desarrollo de la raíz y facilitan la capacidad de absorción de nutrientes de la raíz en beneficio de la planta no leguminosa (Yanni *et al.*, 2001)

Para su crecimiento y actividades, los microorganismos del suelo requieren P. Si los materiales orgánicos que oxidan para obtener energía contienen menos P que el requerido, los microorganismos inmovilizan P de la solución suelo. Si los materiales orgánicos contienen suficiente o mayor contenido de P que el requerido por el organismo, los microorganismos mineralizan P a la solución del suelo (Condrón, 2004).

Los tamaños de los microorganismos solubilizadores de P proveniente del suelo y la materia orgánica, son menores a 100  $\mu\text{m}$  de diámetro, entre los cuales se cuentan bacterias, hongos, cromista, protozoos y algunos nematodos. Aunque las bacterias son los microorganismos más numerosos del suelo, en términos de biomasa, los hongos representan los mayores aportes (Oberson y Joner, 2005).

Las bacterias presentan una gran capacidad para “solubilizar” el fosfato; que consiste en liberar este anión de aquellos complejos químicos a los que se encuentra estrechamente unido, mediante la excreción de ácidos orgánicos o enzimas hidrolíticas. Así, la presencia de estos microorganismos en la rizósfera incrementa la disponibilidad de fósforo asimilable para la planta. Esta actividad da lugar al desarrollo alternativo de biofertilizantes, como complementario a la fertilización química tradicional, siendo de importancia tanto económica como ecológica, para la agricultura moderna (Kirkby y Johnston 2008).

Entre las bacterias que presentan estas cualidades, destacan el *Rhizobium sp*; *Azotobacter sp*, *Pseudomonas sp*; *Azospirillum sp*, entre otros, quienes tienen la habilidad de incrementar el crecimiento de las plantas al igual que su productividad. En algunos casos este efecto se cree que involucra la solubilización de algunos nutrientes minerales no disponibles (Loredo, 2004).

Goldstein (1986), también reportó especies bacterianas con capacidad para solubilizar fosfatos insolubles como el fosfato tricálcico, dicálcico, hidroxapatita proveniente de las rocas fosfatadas. Entre los géneros con esta capacidad se conocen a: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aereobacter*, *Flavobacterium* y *Erwinia*.

Los microorganismos solubilizadores de fosfato pueden liberar sustancias conocidas como hormonas vegetales, que cumplen el papel de promoción de crecimiento vegetal como son, la producción de ácido indolacético (AIA), ácido giberélico, citoquininas, etileno, ácido cianhídrico (HCN) y resistencia a patógenos del suelo (Banerjee *et al.*, 2010).

En suelos con bajos niveles de fósforo disponible, al existir ciertos microorganismos del suelo con la capacidad de disolver relativamente compuestos insolubles de fósforo, puede darse la posibilidad de inducir la solubilización microbiana de los fosfatos del suelo (Gyaneshwar *et al.*, 2002).

Las mezclas de bacterias diazotróficas y solubilizadoras de fósforo se ha practicado con éxito en algunos países, sobre todo para la producción en vivero de especies forestales (Mullen *et al.*, 2005) en garbanzo (Rudresh, 2005); en frijol (Torres, 2000). En pruebas realizadas con cepas de encenillo (*Weinmannia tomentosa* L.), con ensayos en disolución de fosfatos y reducción de acetileno, las bacterias presentaron sinergismo en promoción y solubilización de P, promoviendo el crecimiento cuando fueron combinadas e inoculadas en plántulas de encenillo. Estos resultados indican el potencial como PGPR, solubilizadora de fosfatos y posibles biofertilizantes (Martínez-Nieto *et al.*, 2010).

Otros resultados reportan que la interacción sinérgica con microorganismos solubilizadores de P, incrementa la disponibilidad de P soluble para la planta. Algunas bacterias que pertenecen a los géneros *Mesorhizobium*, *Rhizobium*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Achrobacter*, *Micrococcus*, *Aerobacter* y *Bacillus* presentan capacidad solubilizadora (Villegas y Fortín, 2001).

#### **2.4.2 Mecanismos de solubilización de fósforo por los PGPR**

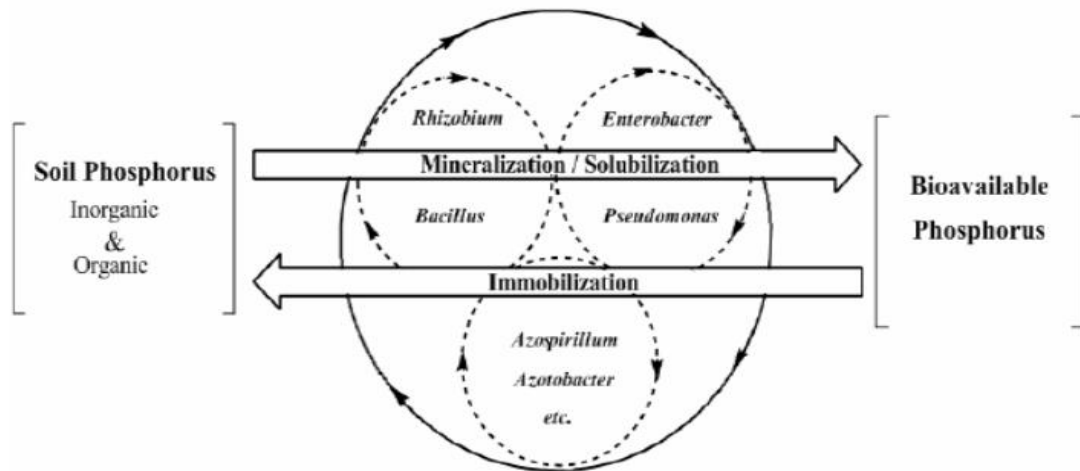
El principal mecanismo microbiológico por el cual los compuestos fosfatados son solubilizados, es la disminución del pH del medio extracelular hasta valores aproximados a 2,0 que son necesarios para que se pueda llevar a cabo la solubilización (Goldstein, 1986; Chen *et al.*, 2006). Este fenómeno se origina debido a la liberación de ácidos orgánicos de bajo peso molecular por parte de los microorganismos, cuyas propiedades quelantes favorecen la formación de complejos insolubles con metales, con la consecuente liberación del fosfato (Fernandez *et al.*, 2005).

La solubilización puede producirse por dos mecanismos diferentes: por la acción de ácidos orgánicos producidos por microorganismos o por quelación de los elementos responsables de la insolubilidad de los fosfatos presentes; un mecanismo indirecto para la solubilización ocurre cuando los microorganismos asimilan directamente los fosfatos insolubles acumulándola en sus células y liberándolos posteriormente (Rashid *et al.*, 2004).

El tipo de raíces y el volumen radicular, influyen en la cantidad de ácidos orgánicos y fosfatasas ácidas o básicas liberadas, que incrementan la disponibilidad de P<sub>i</sub> en la zona inmediata a estas raíces al mismo tiempo que la absorción eficiente del nutriente P (Smith, *et al.*, 2003; Wey *et al.*, 2009; Tran *et al.*, 2010). Asimismo, la concentración de los exudados de las raíces influyen en la relación con los ligandos orgánicos (Figura 01), las que pueden llegar a alterar la concentración de fósforo en la solución suelo (Hinsinger, 2001).

Diversos Investigadores han reportado un efecto sinérgico entre las micorrizas y las bacterias del género *Rhizobium* como microorganismos solubilizadores de fosfatos para incrementar la solubilidad del P de la roca fosfatada y su aprovechamiento por la planta (Toro *et al.*, 1998); esto demuestra la aplicación potencial de esta forma de P combinado con microorganismos solubilizadores para el suministro sostenible de nutrientes para las plantas (Vassilev *et al.*, 2003).

**FIGURA 01:** Esquema de la movilización del fósforo en el suelo e inmovilización del P por bacterias fijadoras de N.



En zonas alto andinas, la adición de P mejora las condiciones del suelo y la rizósfera, la que a su vez favorece el crecimiento de los microorganismos como hongos y bacterias, tales como las bacterias mesófilas, hongos, *Rhizobium* y *Azotobacter*, además de un mayor desarrollo de las plantas (Pahuara y Zúñiga, 2002).

Se ha demostrado que algunos microorganismos pueden solubilizar fosfatos insolubles, sin producir cualquier tipo de ácido orgánico. En estos casos, se ha propuesto que el mecanismo principal responsable de la solubilización es la producción de protones durante la asimilación del  $\text{NH}_4^+$ , o a través de las actividades respiratorias (Mullen, 2005).

El microorganismo solubilizador de P utiliza la fuente de C como energía para liberar ácidos orgánicos y solubilizar P. Patel *et al.* (2008), demostró que a partir del aislamiento del *Citrobacter sp* de la rizósfera de caña de azúcar, fue capaz de crecer en medios de cultivo con sucrosa, glucosa y roca fosfórica como fuentes únicas de C y P, respectivamente. Asimismo fue capaz de utilizar fructosa como fuente de C. Los ácidos producidos fueron ácido acético; ácido pirúvico y ácido glucónico respectivamente.

### 2.4.3 El *Rhizobium* como solubilizadora de fósforo

En la naturaleza se observa que la solubilización de fosfato por parte de los microorganismos ocurre en la rizósfera, siendo las bacterias más efectivas que los hongos en los procesos de solubilización de fosfatos, constituyendo 1 al 50% de la población (Chen *et al.*, 2006).

Las cepas de *Rhizobium* presentan características PGPR, es decir tienen la capacidad de influir positivamente en la fenología del cultivo, promoviendo procesos, tales como germinación, crecimiento, pueden lograr incrementos entre 124 y 159% de materia seca en la germinación y crecimiento del tomate. (Santillana, 2005). Reporta incrementos en materia seca y el contenido de N en el cultivo de Pallar (*Phaseolus lunatus* L.), inoculado con cepas de *Rhizobium*, (Matos, 2002).

La inoculación combinada de *Rhizobium sp.* y *Pseudomonas. striata* o *Bacillus polymyxa*, incrementó la nodulación, la actividad de la nitrogenasa, el contenido de materia seca, el rendimiento de grano y la absorción de N y P, en relación al control sin inocular. Los efectos de la inoculación fueron más evidentes en presencia del fertilizante proveniente de roca fosfatada. Las posibilidades de ahorro de la mitad de la dosis de N, la sustitución del superfosfato con roca fosfórica y la inoculación con fosfato solubilizadores merecen especial atención (Alagawadi y Gaur, 1988).

Asimismo, la inoculación combinada de la bacteria fijadora de nitrógeno *Rhizobium*, la bacteria solubilizadora de fosfato *Bacillus, Megaterium sp. Phospaticum cepa-PB* y el hongo controlador biológico *Trichoderma sp.*, en el crecimiento, la absorción de nutrientes y el rendimiento de garbanzo (*Cicer aritenium* L.), fue estudiado bajo condiciones de invernadero y de campo. La inoculación combinada de estos tres organismos en garbanzo originó mayor germinación, absorción de nutrientes, altura de planta, número de ramas, nodulación, biomasa total y rendimiento, obteniéndose mejores resultados cuando *T. harzianum* PDBCTH10 fue inoculado con la bacteria solubilizadora de fosfatos y *Rhizobium* (Rudresh *et al.* 2005).



En una evaluación de medios de cultivo para bacterias solubilizadoras de P del género *Rhizobium*, demostró que la inoculación de bacterias de *Rhizobium* 9bIII aislada de un suelo cubano y la CIAT 899, fueron capaces de solubilizar fosfato de apatita, aunque con diferencias entre las mismas siendo el proceso de solubilización dependiente del tiempo de interacción (Toscano, 2001).

El *Rhizobium etli*, inoculada en plantas de maíz, logró incrementos en materia seca a nivel de toda la planta, entre un 42% en la parte aérea y 49% a nivel de raíz. El efecto benéfico de *R. etli* en plantas de maíz puede deberse a los mecanismos de liberación de ácidos orgánicos en la rizósfera de la planta. (Gutiérrez & Martínez, 2001)

#### **2.4.4 Factores que influyen en la nodulación**

La asociación rizobia-leguminosa ha sido estudiada con mayor énfasis por su importancia desde el punto de vista agrícola, económico y social, debido a la importancia de las leguminosas a nivel mundial. Se benefician mutuamente de la interacción, reflejada con la formación de nódulos fijadores de nitrógeno en las raíces. Los nódulos son órganos especializados que se desarrollan de la quimiotaxis por parte del *Rhizobium* y la leguminosa (Gibson *et al.*, 2008).

Una cepa de *Rhizobium* que nodula y fija una gran cantidad de nitrógeno en asociación con una especie, puede también hacer lo mismo cuando se asocia con otras especies de leguminosas. Las leguminosas que muestran esa tendencia de responder en forma similar frente a determinadas cepas de rizobio, se denominan “Grupo de efectividad” (Bauer, 1998; Fischer, 1994; Halliday, 1984).

Las cepas nativas de *Rhizobium* tiene efectos positivos, sobre parámetros fenotípicos y rendimiento agrícola en dos variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) así como sobre propiedades físicas, químicas y microbiológicas del suelo, reportándose incrementos hasta 0.26 t ha<sup>-1</sup> (Granda, 2014).

Coyne (2000); reporta un sistema de clasificación de especies de *Rhizobium* basado en la taxonomía numérica; este sistema se muestra en el siguiente cuadro:

**CUADRO 02:** Especies de *Rhizobium*, clasificadas según velocidad de crecimiento.

Bacteria	Géneros de Plantas
<b>Crecimiento Rápido (productores de ácido)</b>	
<i>R. meliloti</i>	<i>Medicago, Melilotus y Trigonella</i>
<i>R. leguminosarum</i>	<i>Lens, Pisum, Vicia</i>
<i>R. leguminosarum b. y phaseoli</i>	<i>Phaseolus</i>
<i>R. leguminosarum b. y trifolii</i>	<i>Trifolium</i>
<b>Crecimiento lento (productores de bases)</b>	
Especies de <i>Bradyrhizobium</i>	<i>Lupinus, Vigna</i> , otros.
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	<i>Glicine</i> (soja)
Especies de rizobios (frijoles diversos)	<i>Vigna</i> (ciertos caupíes),
<i>Phaseolus</i> (frijoles de Lima),	
<i>Arachis</i> (cacaahuetes),	
<i>Pueraria</i> (kudzú),	
<i>Prosopis</i> (mezquite)	

Entre las características más importantes que se deben considerar en la selección de cepas de rizobios están: 1) La habilidad para formar simbiosis efectiva con el hospedante, 2) Competencia con las cepas nativas del suelo y 3) Persistencia en ausencia del hospedante (Halliday, 1984).

El pH es el factor edáfico más importante en la nodulación del frijol, sin embargo, no está totalmente comprendido si los valores de pH bajos en el suelo, tienen un efecto directo sobre el sistema simbiótico, a través de una alta concentración de protones sobre el crecimiento de la planta, desarrollo de la raíz y/o propiedades simbióticas del *Rhizobium* o un efecto indirecto sobre la disponibilidad de nutrientes minerales, los cuales pueden ser esenciales o tóxicos (Gibbson y Jordan, 1983). Se ha identificado a la acidez del suelo como

un factor influyente en la sobrevivencia y nodulación del rizobio y esto depende directamente de la especie de rizobio. Las cepas de *R. phaseoli* son tolerantes (Bushby, 1982).

La deficiencia de fósforo en la planta puede afectar la fijación y la nodulación por tener un rol vital en la transferencia de energía, requerida para la reducción del nitrógeno atmosférico a amoníaco. La deficiencia de este mineral se ve afectada por la adsorción de óxidos de hierro y aluminio, partículas de arcilla, aluminio intercambiable y manganeso. El suministro de fósforo al suelo causa un aumento de la concentración de éste y de nitrógeno en el tejido vegetal (Freire, 1984)

Las cepas de *Rhizobium* son eficientes, cuando éstas presentan ciertas características específicas tales como infectividad (habilidad para infectar las raíces de las plantas), persistencia, tolera las condiciones locales, compite por sitios de infección con otros organismos de la rizósfera y, manifiesta estabilidad genética y efectivas cuando tiene la habilidad de fijar nitrógeno (Silvester *et al.*, 1983).

El *Rhizobium* participa en la simbiosis utilizando los azúcares sacarosa, glucosa y algunos ácidos orgánicos de la savia de la planta como fuente de energía y la planta a su vez se beneficia con los compuestos nitrogenados que provienen de la fijación del nitrógeno elemental, captado del aire circundante en la atmósfera del suelo. Las leguminosas y las bacterias aisladamente, no poseen la capacidad de fijar nitrógeno independiente para convertirlo en amonio (Fischer, 1994).

En la simbiosis, las bacterias se encuentran en las raíces de las plantas dentro de estructuras llamadas nódulos. La formación de un nódulo radicular engloba varias etapas como el reconocimiento mutuo entre una planta y una bacteria en donde están implicados un gran número de genes, la infección donde los rizobios se adhieren a la superficie de los pelos radiculares e inducen su deformación y curvatura, formándose una estructura tubular llamada cordón de infección y la penetración en la cual las bacterias invaden el tejido de la raíz (Long, 1989; Bauer, 1998; Orive y Temprano, 1983).

En las primeras etapas de la interacción, las raíces de la planta forman un exudado, sustancias llamadas flavonoides, que inducen la expresión de genes rizobiales para dar comienzo a la simbiosis. El *Rhizobium* libera una proteína codificada por el gen NodD que va a interactuar con las sustancias flavonoides dando inicio al reconocimiento hospedador-específico de una especie bacteriana dada (Gutfert, 1993).

En cultivo de soja y frijol inoculados con las bacterias del género *Rhizobium*, han posibilitado incrementos en el crecimiento y rendimiento, la aplicación de *Rhizobium* en suelos con bajo contenido de nitrógeno, puede aumentar los rendimientos de plantas leguminosas (Torres, 2000).

## **2.5 FRIJOL CARAOTA (*Phaseolus vulgaris* L.)**

### **2.5.1 Fisiología del frijol Caraota (frijoles negros)**

La familia Leguminosae es vital en la base nutricional actual, debido a que alimenta la mayoría de la población mundial. El frijol común (*Phaseolus vulgaris*, L.) es la leguminosa que ha sido objeto de más estudios en América Latina, por ser la fuente principal de proteína, así como por formar parte importante de los hábitos alimentarios de la población (Lewis *et al.*, 2005).

Su importancia proviene desde épocas precolombinas y es una de las principales fuentes alimenticias en Latinoamérica. Concretamente en Perú, el frijol tiene gran importancia en la cesta básica familiar por su alto contenido en proteínas, carbohidratos y minerales (Castañeda, 2000).

Este cultivo requiere nutrientes, demanda mayor cantidad de nitrógeno que otros nutrimentos, ya que éste interviene en la formación de las proteínas que contiene la semilla (20 a 22%) y los requerimientos del nitrógeno aumentan durante las fases de formación y llenado de vainas, además de ser considerado el nutrimento que tiene mayor movilidad en el suelo y alta solubilidad, (Flor y Tung, 1994).

Una cosecha de frijol aparte del grano y paja, deja en el suelo de 60 a 120 Kg. de nitrógeno / Ha. aprovechable para el cultivo siguiente. El aporte de nitrógeno al suelo está dado por la capacidad simbiótica entre cepas de bacterias del género *Rhizobium*, específicamente la especie *Rhizobium phaseoli* y el sistema radicular de los frijoles, caracterizado por la formación de nodulación en el sistema radicular (Morales, 1983).

Sin embargo, el mayor aporte de N al suelo se realiza, cuando son incorporadas como abono verde en la etapa de floración, dado a que la mayor parte del nitrógeno fijado que se encuentra en la parte aérea y la planta se encuentra en su máxima capacidad de fijación de N (Gibson *et al* 2008). La cantidad de nitrógeno fijado está entre 40 a 45 Kg. N<sub>2</sub>/ Ha / año, además presentan una capacidad mejoradora de las propiedades del suelo. Los rastrojos incorporados al suelo contribuyen en la formación de humus a razón de más de 500 Kg./Ha, útil para mejorar las propiedades físicas, químicas y biológicas de suelo (Arca, 1981).

### **2.5.2 Importancia del P en la nutrición del frijol.**

El fósforo cumple un papel importante en muchos procesos fisiológicos, principalmente durante la germinación y desarrollo de la plántula, desarrollo radicular, fecundación e inicio de la fructificación. Los altos niveles de fósforo en el suelo, que son innecesarios, puede causar la contaminación de las aguas superficiales (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 2000).

Estudios sobre el efecto de la fertilización con P, Ca y Mo en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) logró un incremento significativo en la nodulación de la línea WBR 22-34, pero no encontró diferencias en el rendimiento, aun usando dosis altas (0, 150 Y 300 kg P<sub>2</sub>O/ha), en suelos con contenido bajo a medio de P (Robleto, 1988).

La acidez del suelo, limita el crecimiento del frijol, sobre todo cuando la acidez se asocia a niveles tóxicos de aluminio y manganeso, el cual limita la disponibilidad de P. Los valores de pH recomendados para el cultivo de frijol varían entre 6.0 y 7.5, es decir ligeramente ácidos a ligeramente alcalinos. Sin embargo, existen variedades adaptadas a diversas condiciones de suelo (Rosas, 2003).

Verneti (1983), refiere que el elemento P influye en los componentes de rendimiento en las leguminosas alimenticias, tales como: en el peso vainas/planta, granos/vaina, peso 1000 semillas, además de la influencia de los factores genético y ambientales, aspectos evaluados en el cultivo de soya.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Ubicación

El presente estudio se realizó entre los meses de Agosto del 2003 y Setiembre del 2004, en los ambientes del Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología Marino Tabusso - Dpto. de Biología, y en el invernadero del Dpto. de Suelos y Fertilizantes- Universidad Nacional Agraria la Molina, ubicado en el distrito de La Molina, provincia y departamento de Lima, con una altitud aproximada de 247,3 m.s.n.m., longitud 76°57'Oeste y Latitud 12°05'Sur. Las temperaturas máximas y mínimas promedio fueron aproximadamente entre 24 y 16 °C y las humedades relativas promedio diario entre 78% a 92% respectivamente.

#### 3.2 Materiales

##### 3.2.1 Material Biológico

###### 3.2.1.1 Cepas

Se utilizaron cepas de *Rhizobium* aisladas y autenticadas de los nódulos del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), para la activación, purificación y autenticación se realizó los siguientes procesos a nivel de campo y laboratorio:

###### Obtención de las Cepas

El ámbito de recolección de los nódulos del frijol Caraota fue la localidad de Huachipa, distrito del Ate Vitarte. Los nódulos fueron recolectados en la etapa de floración, en campos conducidos orgánicamente.

Se realizaron las siguientes pruebas:

- 1. Pruebas de caracterización, pureza y autenticación de las cepas.-** Efectuadas en el laboratorio de Ecología Microbiana "Marino Tabusso". Los resultados se presentan en el **Cuadro 03**. Utilizándose el medio Levadura –Agar Manitol (LMA), para el aislamiento y caracterización de los rizobios.

**CUADRO 03:** Caracterización y tiempo de incubación de cepas aisladas a partir del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) (Silvera, 2004).

Nro.	Identificación	Origen	Planta Hospedera	Tiempo de incubación medio LMA	Características culturales
1	C5-1R1C3	Huachipa	F. Caraota	4 días	g, red, gm, t
2	C9-1R1C1	Huachipa	F. Caraota	4 días	g, red, gm, t
3	C3-1R1C1	Huachipa	F. Caraota	3 días	g, red, gm, t
4	C5-1R1C2	Huachipa	F. Caraota	6 días	p, gm, t
5	C5-1R1C2-2	Huachipa	F. Caraota	3 días	g, red, gm, t
6	C6-1R1C1	Huachipa	F. Caraota	10 días	p, s, b, t.
7	C1-1R2C1	Huachipa	F. Caraota	9 días	p, s, b, l.
8	C10-1R2C2	Huachipa	F. Caraota	4 días	g, gm, ros, t
9	C3-1R2C1-2	Huachipa	F. Caraota	8 días	p, gm, red, t
10	C6-1R2C2	Huachipa	F. Caraota	8 días	p, sec, l
11	C6-R2C1	Huachipa	F. Caraota	7 días	m, gm, red, t
12	C9-1R2C1-2	Huachipa	F. Caraota	4 días	m, red, gm, l
13	C7-1R2C1	Huachipa	F. Caraota	3 días	m, red, gm, t.
14	C8-1R2C1	Huachipa	F. Caraota	4 días	m, ros, ag, gm
15	C9-1R1C2-2	Huachipa	F. Caraota	3 días	g, red, gm, l
16	C1-1R1C1	Huachipa	F. Caraota	4 días	p, red, gm, l
17	C3-1R2C1	Huachipa	F. Caraota	5 días	g, red, gm, l

g: grandes; red:redonda, gm: gomosa; t: translúcida; b: blancas; l: lechosas; s: secas; p:pequeñas; m: medianas

**2. Prueba de pureza** .- Este proceso se realizó bajo la Metodología del **CIAT (1987)**, que permite descartar la presencia de microorganismos contaminantes, utilizándose las siguientes pruebas:

- **Prueba de ketolactasa:(LLA= Levadura-Lactosa-Agar):** Esta prueba permite diferenciar las bacterias del género *Agrobacterium* de las pertenecientes al género *Rhizobium*. Esta diferenciación se efectúa debido que el *Agrobacterium*, es un género de bacterias que también pertenece a la familia Rhizobiaceae, y tiene características similares a las de los rizobios de crecimiento rápido. En algunas leguminosas puede formar nódulos, pero que no tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (**Cuadro 04**).



- **Prueba Peptona-Glucosa (PG):** Los rizobios no se desarrollan bien en este medio, por tanto un crecimiento notorio en este medio acompañado de un cambio de pH, indica la presencia de un contaminante. Los contaminantes no crecen bien en el LMA y puede confundirse que el cultivo está puro, siendo necesario la prueba de PG (**Cuadro 04**).

**CUADRO 04:** Pruebas de pureza y selección de cepas de *Rhizobium*, aisladas a partir de nódulos del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) (Silvera, 2004).

Orden	Identificación	LLA	PG
1	C10-R2C1	++	+++
2	C5-1R1C2	++	----
3	C5-1R2C1	-----	++
4	C5-1R1C3	+++	-----
5	C9-1R1C1	++	----
6	C9-1R2C2-2	++	++
7	C1-1R1C1	+	-----
8	C9-1R1C2-2	-----	-----
9	C5-1R1C2-2	++	----
10	C4-1R2C2	-----	++
11	C6-1R2C1	++	-----
12	C3-1R1C1	++	-----
13	C8-1R2C1	++	-----
14	C6-1R1C1	+	-----
15	C7-1R2C1	+	-----
16	C1-1R2C1	+	-----
17	C3-1R2C1	+	-----
18	C9-1R2C1-2	++	-----
19	C6-1R2C2	++	---
20	C10-1R2C3	+	+++
21	C3-1R2C1-2	+	-----
22	C10-R2C2	++	-----

LLA =Prueba de ketolactasa PG=Prueba de Peptona Glucosa

**3. Prueba de solubilización de Fósforo:** Esta prueba fue realizada con la finalidad de determinar la capacidad solubilizadora de las bacterias del genero *Rhizobium*. Los resultados se presentan en el **Cuadro 05**.

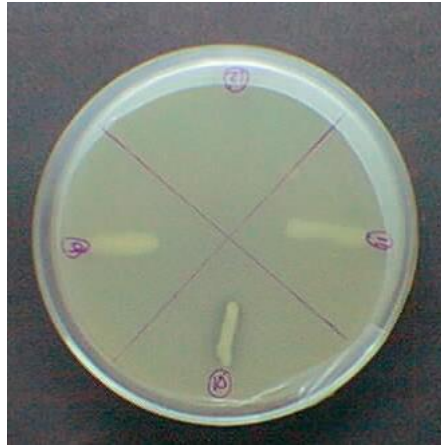
**3.1** Pruebas de solubilización con difosfato de Ca.

**3.2** Pruebas de solubilización con fluorhidroxicarbonato de P:  $Ca_{9.64}Na_{0.23}Mg_{0.02}(PO_4)_{3.12}(CO_3)_{0.88}F_{1.79}(OH)_{0.50z}$

**CUADRO 05:** Prueba de solubilización de fósforo de diferentes cepas seleccionadas de *Rhizobium*, aisladas a partir del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.).

Nro.	Cepas	28/08/2003		01/11/2003	
		Difosfato	Trifosfato	Difosfato	Trifosfato
1	C8-1R2C1	++	+++	-----	+++
2	C9-1R1C2-2	-----	+++	+	+++
3	C3-1R2C1-2	-----	+++	+	+++
4	C1-1R2C1	-----	+++	-----	+++
5	C9-1R2C1-2	++	+++	+	++
6	C3-1R1C1	++	++	+	++
7	C5-1R1C2	-----	++	-----	+
8	C7-1R2C1	-----	-----	-----	-----
9	CIAT 899	+	+	-----	-----
10	C5-1R1C2-2	++	+++	-----	+++
11	C9-1R1C1	++	-----	+++	-----
12	CONTROL	-----	-----	-----	-----
13	C6-1R1C1	-----	-----	-----	-----
14	C6-1R2C2	-----	-----	-----	-----

= Ninguno; + = Crecimiento incipiente; ++=Crecimiento moderado; +++=Crecimiento alto



**Foto 01:** Pruebas de solubilización de fosfato a nivel de laboratorio.

**4. Selección de las cepas.-** Una vez autenticadas las cepas aisladas del Frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), para el experimento a nivel de invernadero, se seleccionaron las siguientes cepas: Cepa C1-1R2C1, Cepa C3-1R2C1-2, C5-1R1C2-2 y C6-1R2C2.

### **3.2.1.2 Semilla**

Se utilizaron semillas de Frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) adquiridas del Programa de Leguminosas y Oleaginosas de Grano de la Facultad de Agronomía de la UNALM.

## **3.2.2 Material no biológico**

### **3.2.2.1 Sustrato**

Los sustratos utilizados para el presente estudio, fueron suelos procedentes de campos de cultivos:

- Suelo Inceptisol ácido ( Selva-Tingo María)
- Suelo Entisol ligeramente alcalino (Costa-Huerto UNALM)

El análisis físico-químico de los suelos, fueron realizados en el laboratorio de análisis de Suelos, Aguas, Plantas y fertilizantes de la Universidad Nacional Agraria la Molina. Los resultados se muestran en el siguiente cuadro:

**CUADRO 06:** Análisis físico químico de los suelos utilizados en el experimento.

PARÁMETRO	CANTIDAD		METODO
	SUELO COSTA	SUELO SELVA	
Ao(%)	66	44	Hidrómetro
Li (%)	18	34	Hidrómetro
Ar (%)	16	22	Hidrómetro
Clase Textural	Fco. Arenosa	Franco	Triangulo Textural
pH (1:1)	7.4	5.0	Potenciómetro
CE (1:1)	2.6	0.92	Extracto acuoso
% Ca CO <sub>3</sub>	1.5	0.0	Gasovolumétrico
Mat. Org.(%)	1.35	2.51	Walkley y Black
Fósforo (ppm)	52.0	10.7	Olsen modificado
K(ppm)	146.0	55.0	Acetato NH <sub>4</sub> pH7 1N
CIC (cmol/kg)	11.52	13.28	Acetato NH <sub>4</sub> pH7 1N
Ca, (cmol/kg)	9.31	4.77	Acetato NH <sub>4</sub> pH7 1N
Mg (cmol/kg)	1.39	1.10	Cuantificación por foto-
K, (cmol/kg)	0.60	0.16	metría de llama y/o
Na (cmol/kg)	0.22	0.18	Absorción atómica
Al+H (cmol/kg)	0.00	0.40	Extracción con KCl, 1N

Fuente: Laboratorio de Análisis de Suelos y Plantas UNALM- La Molina.

#### Suelo Entisol de Costa:

La clase textural a la que corresponde el suelo es franco arenoso, con pH ligeramente alcalino, con problema de sales (2.6 dSm/m (1:1)), presenta un bajo contenido de materia orgánica, alta concentración de fósforo (52ppm) y medio en potasio, presenta una CIC<sub>E</sub> medio (11.52cmol/kg). Este suelo fue utilizado para la siembra de cultivos de pan llevar, bajo un sistema de producción convencional. Para efectos del experimento se realizó un lavado de sales.

### **Suelo Inceptisol de Selva:**

La clase textural a la que corresponde el suelo es franco, con pH fuertemente ácido, con un PAI (6%), presenta un contenido medio de materia orgánica, fósforo y bajo en potasio, presenta baja CICE (6.61cmol/kg). Este suelo ha sido utilizado anteriormente para cultivos de hoja de coca y yuca, luego fue abandonado y e incorporado con Kudzú, y permaneció así hasta la extracción del sustrato.

#### **3.2.2.2 Fuente de fósforo**

Se utilizó para el presente estudio la roca fosfatada de Bayóvar, proveniente del Área de Fertilidad de Suelos de la Facultad de Agronomía de la UNALM.

### **3.3 Componentes en estudio**

#### **- Ceba (C)**

- C1 : Ceba C1-1R2C1
- C2 : Ceba C3-1R2C1-2
- C3 : Interacción (C1+C2)
- C4 : Interacción Cepas (C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2)

#### **- Suelo (S)**

- S<sub>1</sub> : Suelo Costa (Entisol ligeramente alcalino)
- S<sub>2</sub> : Suelo Selva (Inceptisol ácido)

#### **- Dosis de Fósforo (P)**

- P<sub>0</sub> : 0 ppm de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>
- P<sub>100</sub> : 100 ppm de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>
- P<sub>200</sub> : 200 ppm de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

### 3.4 Tratamientos en estudio.

En el siguiente cuadro, se presenta los tratamientos en estudio, siendo un total de 30.

**CUADRO 07:** Disposición de los tratamientos en estudio.

Nro.	Cepas	Niveles de Fósforo	Tipo de suelo	Codificación
1	(C0)Testigo	0 ppm P	Costa (S1)	<b>C<sub>0</sub>P<sub>0</sub>S<sub>1</sub></b>
2	(C1) Cepa C1-1R2C1	0 ppm P	Costa (S1)	<b>C<sub>1</sub>P<sub>0</sub>S<sub>1</sub></b>
3	(C2)Cepa C3-1R2C1-2	0 ppm P	Costa (S1)	<b>C<sub>2</sub>P<sub>0</sub>S<sub>1</sub></b>
4	(C3)Interacción C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	0 ppm P	Costa (S1)	<b>C<sub>3</sub>P<sub>0</sub>S<sub>1</sub></b>
5	(C4)Interacción C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	0 ppm P	Costa (S1)	<b>C<sub>4</sub>P<sub>0</sub>S<sub>1</sub></b>
6	(C0)Testigo	100 ppm P	Costa (S1)	<b>C<sub>0</sub>P<sub>100</sub>S<sub>1</sub></b>
7	(C1) Cepa C1-1R2C1	100 ppm P	Costa (S1)	<b>C<sub>1</sub>P<sub>100</sub>S<sub>1</sub></b>
8	(C2)Cepa C3-1R2C1-2	100 ppm P	Costa (S1)	<b>C<sub>2</sub>P<sub>100</sub>S<sub>1</sub></b>
9	(C3)Interacción C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	100 ppm P	Costa (S1)	<b>C<sub>3</sub>P<sub>100</sub>S<sub>1</sub></b>
10	(C4)Interacción C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	100 ppm P	Costa (S1)	<b>C<sub>4</sub>P<sub>100</sub>S<sub>1</sub></b>
11	(C0)Testigo	200 ppm P	Costa (S1)	<b>C<sub>0</sub>P<sub>200</sub>S<sub>1</sub></b>
12	(C1) Cepa C1-1R2C1	200 ppm P	Costa (S1)	<b>C<sub>1</sub>P<sub>200</sub>S<sub>1</sub></b>
13	(C2)Cepa C3-1R2C1-2	200 ppm P	Costa (S1)	<b>C<sub>2</sub>P<sub>200</sub>S<sub>1</sub></b>
14	(C3)Interacción C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	200 ppm P	Costa (S1)	<b>C<sub>3</sub>P<sub>200</sub>S<sub>1</sub></b>
15	(C4)Interacción C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	200 ppm P	Costa (S1)	<b>C<sub>4</sub>P<sub>200</sub>S<sub>1</sub></b>
16	(C0)Testigo	0 ppm P	Selva (S2)	<b>C<sub>0</sub>P<sub>0</sub>S<sub>2</sub></b>
17	(C1) Cepa C1-1R2C1	0 ppm P	Selva (S2)	<b>C<sub>1</sub>P<sub>0</sub>S<sub>2</sub></b>
18	(C2)Cepa C3-1R2C1-2	0 ppm P	Selva (S2)	<b>C<sub>2</sub>P<sub>0</sub>S<sub>2</sub></b>
19	(C3)Interacción C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	0 ppm P	Selva (S2)	<b>C<sub>3</sub>P<sub>0</sub>S<sub>2</sub></b>
20	(C4)Interacción C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	0 ppm P	Selva (S2)	<b>C<sub>4</sub>P<sub>0</sub>S<sub>2</sub></b>
21	(C0)Testigo	100 ppm P	Selva (S2)	<b>C<sub>0</sub>P<sub>100</sub>S<sub>2</sub></b>
22	(C1) Cepa C1-1R2C1	100 ppm P	Selva (S2)	<b>C<sub>1</sub>P<sub>100</sub>S<sub>2</sub></b>
23	(C2)Cepa C3-1R2C1-2	100 ppm P	Selva (S2)	<b>C<sub>2</sub>P<sub>100</sub>S<sub>2</sub></b>
24	(C3)Interacción C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	100 ppm P	Selva (S2)	<b>C<sub>3</sub>P<sub>100</sub>S<sub>2</sub></b>
25	(C4)Interacción C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	100 ppm P	Selva (S2)	<b>C<sub>4</sub>P<sub>100</sub>S<sub>2</sub></b>
26	(C0)Testigo	200 ppm P	Selva (S2)	<b>C<sub>0</sub>P<sub>200</sub>S<sub>2</sub></b>
27	(C1) Cepa C1-1R2C1	200 ppm P	Selva (S2)	<b>C<sub>1</sub>P<sub>200</sub>S<sub>2</sub></b>
28	(C2)Cepa C3-1R2C1-2	200 ppm P	Selva (S2)	<b>C<sub>2</sub>P<sub>200</sub>S<sub>2</sub></b>
29	(C3)Interacción C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	200 ppm P	Selva (S2)	<b>C<sub>3</sub>P<sub>200</sub>S<sub>2</sub></b>
30	(C4)Interacción C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	200 ppm P	Selva (S2)	<b>C<sub>4</sub>P<sub>200</sub>S<sub>2</sub></b>



**FOTO 02:** Disposición de los tratamientos

### **3.5 Parámetros evaluados**

- Materia Seca a la floración (PSPA )
- Peso seco de vainas a la floración (PSV)
- Peso seco total parte aérea a la floración (PTPA)
- Nodulación (42 días).
- mg N/planta y mg P/planta a la floración.
- Nro. de vainas/planta. (95 días)
- Nro. de granos/planta.(95 días)
- Peso de granos/planta (g)
- Peso de 100 semillas (g)
- Rendimiento de grano (kg/ha)
- mg N y mg. P a nivel de grano.

### **3.6 Diseño experimental**

Para analizar estadísticamente los parámetros evaluados del presente estudio, se utilizó un Diseño de Bloques Completo al Azar con arreglo factorial (5C x 3P x 2S) y 3 repeticiones.

Los parámetros evaluados en el presente experimento, se sometieron al análisis de variancia y la prueba de significación de Duncan ( $\alpha = 0.05$ ).

**Modelo Aditivo Lineal:**

$$Y_{m(ijkl)} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \phi_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\phi)_{ik} + (\beta\phi)_{jk} + (\alpha\beta\phi)_{ijk} + \epsilon_{m(ijk)}$$

Donde:

- $Y_{m(ijk)}$  = Promedio de una unidad experimental.
- $\mu$  = Media general.
- $\alpha_i$  = Efecto de la i - ésima tipos de cepas.(C)
- $\beta_j$  = Efecto de la j – ésima niveles de fosforo.(P)
- $\phi_k$  = Efecto de la j – ésima tipos de suelo. (S)
- $(\alpha\beta)_{ij}$  = Efecto de la interacción CP
- $(\alpha\phi)_{ik}$  = Efecto de la interacción CS
- $(\beta\phi)_{jk}$  = Efecto de la interacción PS
- $(\alpha\beta\phi)_{ijk}$  = Efecto de la interacción CPS
- $\epsilon_{m(ijk)}$  = Error experimental

**CUADRO 08:** Esquema del Análisis de variancia (ANVA)

<b>Fuentes de Variación</b>	<b>Grados de Libertad</b>
Bloques	<b>2</b>
Tratamientos	<b>29</b>
Cepas ( c )	4
Suelo ( s )	1
Fosforo (f)	2
C*S	4
C*F	8
S*F	2
C*S*F	8
Error exp	<b>58</b>
Error total	<b>89</b>



### 3.7 Disposición del campo experimental (Foto 02):

#### De los bloques:

Numero de bloques	:	5
Largo del bloque	:	10.0 m
Ancho del bloque	:	5.0 m
Área del bloque	:	50.0 m <sup>2</sup>
Calle entre bloques	:	1.0 m
Numero de calles	:	4

#### De la parcela:

Largo efectivo	:	10.0 m
Ancho efectivo	:	0.5 m
Área efectiva	:	5.0 m <sup>2</sup>
Número total de macetas	:	160.0
Número de plantas/maceta	:	2.0

### 3.8 Metodología.

#### 3.8.1 Aislamiento y purificación de las cepas:

De acuerdo a la metodología del **CIAT (1987)**, las cepas a probar en el presente experimento, fueron aisladas, purificadas y autenticadas, determinándose su capacidad de formar nódulos y fijar nitrógeno en un estudio anterior (Silvera, 2004). Posteriormente con las cepas seleccionadas se procedió a realizar las pruebas de solubilización de fósforo utilizándose para ello dos fuentes fosfatadas; difosfato de calcio y fluorhidroxicarbonato de P:  $\text{Ca}_{9.64}\text{Na}_{0.23}\text{Mg}_{0.02}(\text{PO}_4)_{3.12}(\text{CO}_3)_{0.88}\text{F}_{1.79}(\text{OH})_{0.50z}$ .

Una vez realizadas las pruebas de solubilización de fósforo, se procedió a la selección de las cepas que presentaron mayor halo, indicador de uso de la fuente fosfatada en su proceso metabólico. Las cepas seleccionadas fueron: C<sub>1</sub>-1R<sub>2</sub>C<sub>1</sub>, C<sub>3</sub>-1R<sub>2</sub>C<sub>1</sub>-2, C<sub>6</sub>-1R<sub>2</sub>C<sub>2</sub> y C<sub>5</sub>-1R<sub>1</sub>C<sub>2</sub>-2.

### 3.8.2 Prueba biológica en Invernadero

- **Obtención de las semilla.-** La semilla a sembrar fue proporcionada por el Programa de leguminosas, la variedad utilizada fue el frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), previo a la siembra fueron inoculadas con las cepas seleccionadas y luego sembradas según el tratamiento correspondiente.
- **Preparación del sustrato.-** Obtenido los sustratos, previo a la siembra, fueron secados y molidos, luego tamizados en una malla de 2 mm, obteniéndose tierra fina seca al aire (TFSA). Se seleccionaron macetas con capacidad de 3.0 kilos de suelo, las que fueron acondicionados y debidamente identificados, de acuerdo al tratamiento respectivo.
- **Aplicación de la fuente fertilizante.-** Se procedió a la homogeneización del suelo con el fertilizante fosfatado en estudio (Roca fosfatada de Bayóvar) en niveles de 0, 100 y 200 ppm, de acuerdo a los tratamientos correspondientes.
- **Tratamiento de la semilla.-** Previo a la siembra, se procedió a desinfectar a la semilla en una solución con hipoclorito de Sodio al 2%. Consistió en remojar las semillas en la solución por 3 minutos, desechar la solución y lavar las semillas con igual volumen de agua destilada, repitiéndose la acción de lavado por 6 veces.
- **Multiplicación de las cepas.-** Las cepas de rizobios seleccionados, fueron multiplicadas en medio LMA líquido.
- **Inoculación de la semilla.-** La inoculación de las semillas se realizó con suspensiones densas, fueron inoculadas con una población de bacterias  $32 \times 10^7$  ufc/ml (1ml. /semilla).
- **Siembra de la semilla.-** Las semillas tratadas se sembraron en las macetas (4 semillas/maceta), según el tratamiento correspondiente.
- **Riego.-** Los riegos se realizaron en forma diaria, llegando al 75% de su capacidad de campo, para evitar el efecto de las sales se usó agua de pozo (agua dulce).
- **Control Fitosanitario.-** Se presentó el ataque de insectos como la mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) y la araña roja (*Tetranychus sp.*), las que fueron controlados oportunamente.

- **Floración.-** Aproximadamente entre los 38 y 42 días después de la siembra, presentaron el 50% de flores. Aquí se realizaron las evaluaciones de materia seca parte aérea, materia seca total, nodulación/planta. La forma de evaluación fue cuantitativa. Para este proceso se extrajeron las plantas de los tres primeros bloques.
- **Fructificación.-** El 50% de las plantas presentaron sus primeras vainas a los 52 días después de la siembra.
- **Maduración.-** A los 85-90 días después de la siembra se registró la maduración, cuando aproximadamente el 95% de las vainas presentaron un color beige, característica típica de madurez.
- **Cosecha.-** Esta labor se realizó a los 95-100 días después de la siembra en las primeras horas de la mañana a fin de evitar la dehiscencia de las vainas y/o caída de los granos.

### 3.8.3 Determinaciones de laboratorio

#### 3.8.3.1 Determinación de Nitrógeno total (Método MicroKjeldahl)

Se realizó para determinar el contenido de N en la materia seca y grano del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Se realizó 3 procesos:

- **Digestión.-** Se pesó en un papel filtro 0.1 g. de muestra seca y molida, se envolvió y se introdujo en un balón kjeldahl de 100 ml; agregándose 2 ml. De H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y 0.5 g. de catalizador. Se colocó en el digestor microkjeldahl para su proceso, el color claro verdoso, indica el término de la digestión de la muestra.
- **Destilación.-** Se añadió 2 ml. de agua destilada para disolver los sólidos, luego se pasa al balón de destilación, añadiéndose NaOH al 50% poco a poco hasta que la solución tome un color rojo carmesí. Antes de la destilación se colocó un erlenmeyer conteniendo 20 ml. de ácido bórico. EL punto final del proceso es cuando la solución tomó un color verde.

- **Titulación.-** Se realizó con HCl 0.1N hasta lograr un color gris azulado. El gasto sirvió para realizar los cálculos de N total y Proteína.

### **3.8.3.2 Determinación de Fosforo total.-**

Se realizó mediante el método del Olsen modificado.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Aislamiento y autenticación.-

Se puede observar en el Cuadro 05, que las diferentes cepas aisladas son más eficientes en la solubilización de fosfato tricálcico, Las cepas que lograron solubilizar fosfatos fueron: C8-1R2C1, C9-1R1C2-2, C3-1R2C1-2, C1-1R2C1 y C5-1R1C2-2. Estos resultados nos indican que dentro del nódulo, las cepas existentes son de capacidad metabólica variada, algunas cepas pueden favorecer la solubilización de una fuente fosfatada de lenta solubilidad, como otras que pueden solubilizar fuentes fosfatadas de aluminio o de hierro, lo que permitiría un mejor desarrollo de las bacterias fijadoras de nitrógeno, las mismas que requieren condiciones para desarrollar la actividad de fijación de N (Condrón, 2004).

### 4.2 Interacciones de funciones de las cepas aisladas de nódulos de frijol caraota.

En el **cuadro 09**, se muestran los resultados obtenidos sobre el comportamiento de las cepas de *Rhizobium* como fijadoras de N realizado en un estudio anterior (Silvera, 2004), así como sus características como promotoras de crecimiento. La respuesta obtenida como solubilizadoras de fosfatos, nos indican que las cepas presentan especificidad funcional, es decir puede presentar ciertas características funcionales tal como refiere Sessitsch *et al.* (2002), Rosas *et al.* (2006); Kirkby y Johnston, (2008).

**CUADRO 09:** Comportamiento de las cepas de *Rhizobium*, aisladas de frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), como fijadoras de nitrógeno, promotoras de crecimiento y solubilizadoras de P.

Cepas	Fijadoras de N	Promotoras de Crecimiento	Solubilizadoras de Fósforo
C5-1R1C3	+++	-----	-----
C9-1R1C1	+	++	+++
C3-1R1C1	+	-----	++
C5-1R1C2	+	-----	+
C5-1R1C2-2	++	-----	+++
C6-1R1C1	++	-----	-----
C1-1R2C1	+++	-----	+++
C10-1R2C2	+	-----	-----
C3-1R2C1-2	+	++	+++
C6-1R2C2	++	-----	-----
C6-R2C1	++	-----	-----
C9-1R2C1-2	++	-----	++
C7-1R2C1	++	-----	-----
C8-1R2C1	+	++	+++
C9-1R1C2-2	+	-----	+++
C1-1R1C1	+	++	-----
C3-1R2C1	+++	-----	-----

+= Baja capacidad, ++=Moderada capacidad, +++=Alta capacidad

Este proceso asegura brindar nutrientes y promover el crecimiento a la planta mediante la fijación, solubilización y segregación de ciertas sustancias, demostrado por Toscano (2001); Santillana (2005); Matos (2002). Al ser el elemento P un nutriente altamente reactivo e inmóvil, y de baja disponibilidad en la mayoría de los suelos, la solubilización de P por cepas de *Rhizobium* optimiza la fijación simbiótica de nitrógeno (Sessitsch *et al.*, 2002).

### 4.3 Efecto en la materia seca.-

#### 4.3.1 A nivel de cepas.

Acorde con las observaciones realizadas por Mullen (2005), se determinó diferencias estadísticas en el comportamiento de cepas a diferentes tipos de suelo (Cuadro 45 del anexo). Al realizar la prueba de Duncan en los diferentes componentes relacionados a la floración, (**Cuadro 10; Figuras 02 y 03**) se observa que en la acumulación de materia seca (Peso Seco Parte Aérea y Peso Seco Total) todas las cepas de *Rhizobium*, presentaron resultados superiores frente al tratamiento no inoculado, presentan comportamientos similares entre cepas. Estos resultados indican que la inoculación con cepas de *Rhizobium*, influye en la acumulación de la materia seca en el frijol Caraota, mediante la solubilización de P y otros nutrientes minerales no disponibles en el suelo (Loredo, 2004).

**CUADRO 10:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de materia seca a la floración, del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris L.*) con diferentes niveles de P aplicado, en ambos tipos de suelos.

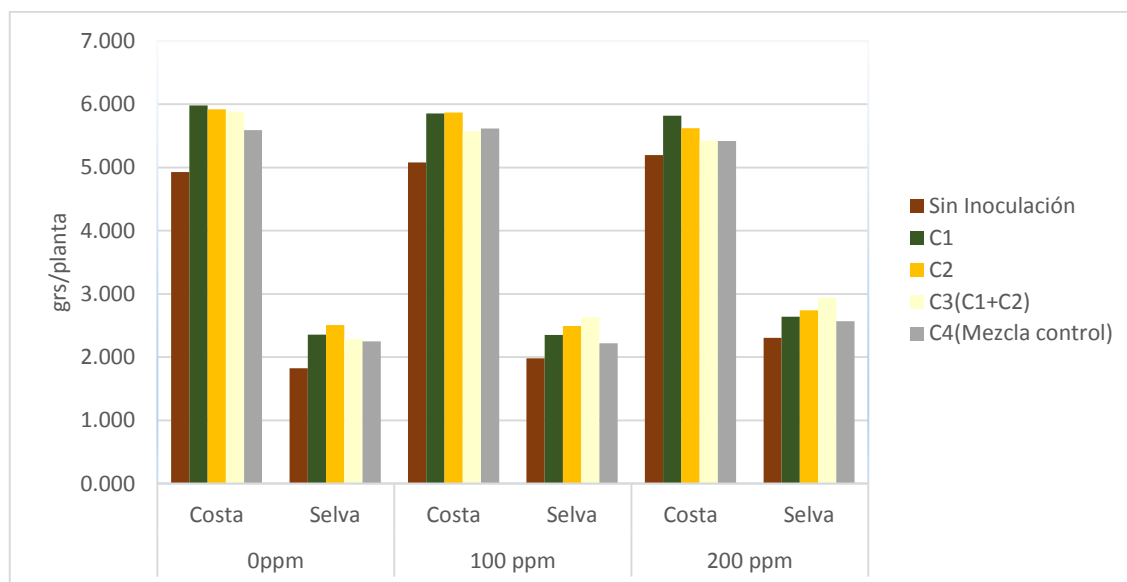
Clave	Cepas	Materia seca aérea de frijol Caraota (g/planta)		
		PSPA g/planta	Peso seco vainas g/planta	Peso total g/planta
C1	C1-1R2C1	4.1679 a	0.51894 c	4.6868 a
C2	C3-1R2C1-2	4.1923 a	0.58928 b	4.7816 a
C3 (Mezcla C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	4.1236 a	0.70278 a	4.8263 a
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	3.9437 b	0.72613 a	4.6699 a
C0	Sin inoculación	3.5532 b	0.24894 d	3.8022 b

En el **Cuadro 11**, los resultados determinan, que las cepas de *Rhizobium*, se comportan acorde a las condiciones físico-químicas que presenta el suelo, la presencia de Fosfato di cálcico en el suelo Entisol de Costa, (52ppm P, pH: 7.4 y 1.8 % CaCO<sub>3</sub>) y la materia orgánica presente, favoreció la actividad de las cepas solubilizadoras de P en la acumulación de materia seca, en sus diferentes componentes (PSPA, PSV), con resultados superiores al tratamiento no inoculado. Al ser mezcladas las cepas C1 y C2, se obtiene

resultados numéricamente superior a las demás cepas, similares a lo reportado por Alagawadi y Gaur (1988), Rudresh *et al.* (2005).

**CUADRO 11:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de materia seca a la floración, del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en el suelo Entisol de Costa.

Clave	Cepas	Materia seca aérea de frijol Caraota (g/planta)		
		PSPA g/planta	Peso seco vainas g/planta	Peso total g/planta
C1	C1-1R2C1	5.8864 a	1.00746 a	6.8939 a
C2	C3-1R2C1-2	5.8041 a	1.13900 a	6.9431 a
C3 (Mezcla C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	5.6286 a	1.33382 b	6.9624 a
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	5.5420 a b	1.37393 b	6.9160 a
C0	Sin inoculación	5.0688 b	0.47898 c	5.5478 b



**FIGURA 02:** Efectividad de las cepas de *Rhizobium* solubilizadoras de P, en la acumulación de materia seca parte Aérea (PSPA) a la floración, del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), con diferentes niveles de P, en dos tipos de suelos.



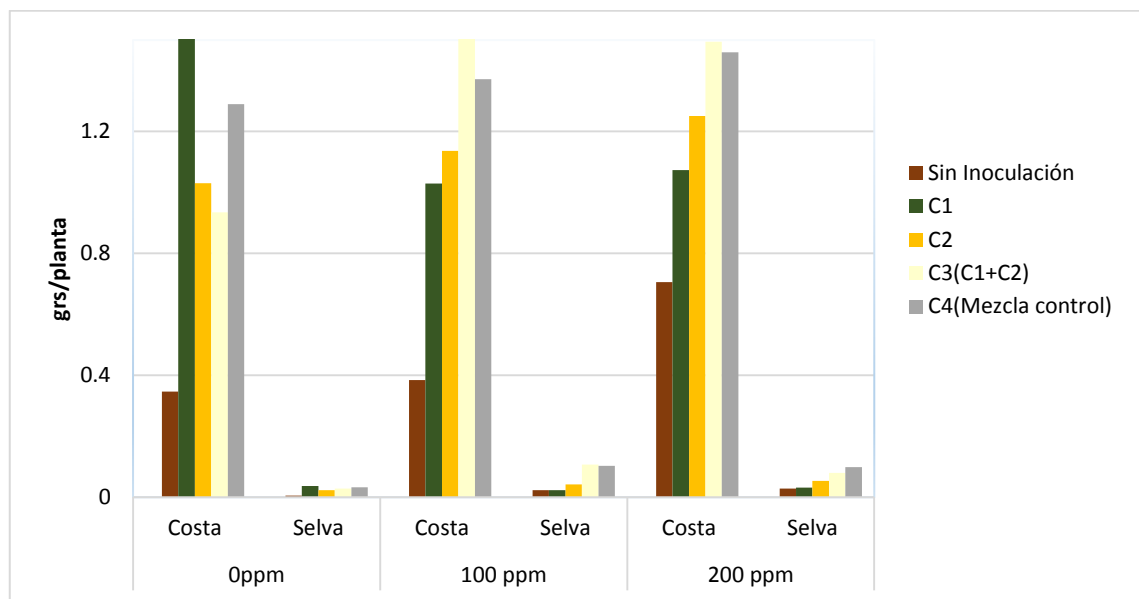
En el **Cuadro 12**, en el suelo Inceptisol de Selva, los resultados obtenidos en la acumulación de materia seca en sus diferentes componentes, refieren que las cepas de *Rhizobium*, se comportan acorde a las condiciones físico-químicas que presenta el suelo, la presencia de fosfatos precipitados e insolubles como P-Al, P-Fe o P-Mn, pH menor de 5.5 (10ppm P, pH: 5.0) y la materia orgánica presente, favorece la actividad de las cepas solubilizadoras de P, es decir puede establecer relaciones simbióticas, adaptarse, colonizar y persistir en la rizósfera, mediante la solubilización del P, resultados acordes con lo reportado por Patiño (2010). La mezcla de las cepas C1 y C2, permitió obtener resultados numéricamente superior a las demás cepas, similares a lo reportado Alagawadi y Gaur (1988), Rudresh *et al.*, (2005).

**CUADRO 12:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de materia seca a la floración, del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) con diferentes niveles de P aplicado, en el suelo Inceptisol de Selva.

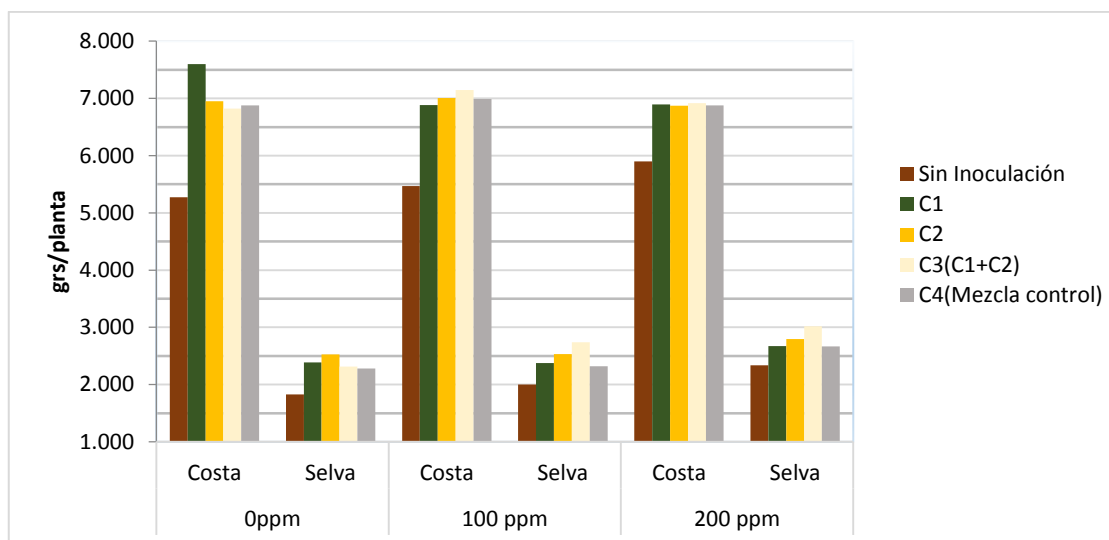
Clave	Cepas	Materia seca aérea de frijol Caraota (g/planta)		
		PSPA g/planta	Peso seco vainas g/planta	Peso total g/planta
C1	C1-1R2C1	2.4494 ab	0.030322 b	2.4797 ab
C2	C3-1R2C1-2	2.5804 a	0.039600 b	2.6200 a
C3 (Mezcla C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	2.6187 a	0.071733 a	2.6904 a
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	2.3453 ab	0.078378 a	2.4236 ab
C0	Sin inoculación	2.0375 b	0.018967 c	2.0564 b

Los análisis estadísticos (**Cuadro 46 del anexo**), en la formación y peso de vainas, determinaron que existen diferencias altamente estadísticas entre los diferentes factores en estudio e interacciones cepa, niveles de P y tipo de suelo. Demuestra que las cepas de *Rhizobium sp* solubilizadoras de P, pueden influir en la formación y peso de vainas, en diferentes condiciones de suelo, observaciones similares reportado por Rudresh *et al.* (2005).

En la prueba de Duncan (**Cuadro 11, y 12**), las cepas de *Rhizobium*, muestran la capacidad de promover la formación y peso de vainas/planta, ,(Figura 03 y 04) sin embargo no actúan de forma similar, resultando estadísticamente superior la combinación de cepas C4(C5-1R1C2-2+C6-1R2C2) y C3 (C1-1R2C1+C3-1R2C1-2), demostrándose que la mezcla combinada de cepas de *Rhizobium*, permiten la interacción sinérgica, promoviendo la formación y mayor peso de vainas y otros componentes de la planta, reportes similares por Matos (2002); Villegas y Fortín (2001).



**FIGURA 03:** Efectividad de las cepas de *Rhizobium* solubilizadoras de P, en el peso seco de vainas a la floración (PSV) del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), a diferentes niveles de P, en dos tipos de suelos.



**FIGURA 04:** Efectividad de las cepas de *Rhizobium* solubilizadoras de P, en el peso total parte aérea a la floración (PTPA) del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), a diferentes niveles de P, en dos tipos de suelos.

#### 4.3.2 A diferentes niveles de fósforo aplicado.

En el proceso del experimento, se pudo observar que los análisis estadísticos de variancia (**Cuadro 45 del anexo**) no muestran diferencias significativas cuando se aplica diferentes niveles de P (Roca fosfatada). En la prueba de Duncan (**Cuadro 13**), los resultados demuestran que existen evidencias de solubilización de P por cepas de *Rhizobium*, lográndose resultados de acumulación de materia seca en 100 y 200 ppm de P, superiores al tratamiento sin P, en ambos tipos de suelo. Esta acción puede deberse a varios factores: liberación de ácidos orgánicos por las cepas de *Rhizobium*, logrando incrementar la disponibilidad de  $P_i$  (Schneider *et al.*, 2010). El P, influye relativamente en la acumulación de la materia seca, peso seco de vainas y peso seco total (gr/planta). Siendo este nutriente muy importante en los procesos fisiológicos de la planta (Calderón-Vásquez *et al.*, 2009)

**CUADRO 13:** Efecto de los niveles de P (Roca fosfatada) aplicado y cepas solubilizadoras de P en el peso total de la parte aérea del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en ambos tipos de suelos.

Clave	Niveles de Fósforo	Materia seca aérea de frijol Caraota (g/planta)		
		PSPA g/planta	Peso seco vainas g/planta	Peso total g/planta
P1	0 ppm P	3.9525 a	0.46474 b	4.4175 b
P2	100 ppm P	3.9678 a	0.57939 a	4.5472 a
P3	200 ppm P	4.0679 a	0.62752 a	4.6953 a

Los resultados en el **Cuadro 14**, a diferentes niveles de P aplicado en un suelo Entisol de Costa, muestran que las cepas de *Rhizobium* han solubilizado P dicálcico presente en el suelo, (52ppm P, pH: 7.4 y 1.8 % CaCO<sub>3</sub>), no presentando diferencias significativas en acumulación de materia seca entre 0 ppm, 100 y 200 ppm de P (Roca fosfatada) aplicada, excepto en el peso seco de vainas, donde los tratamientos de 100 y 200 ppm de P fueron superiores al tratamiento no aplicado. Se demuestra entonces que las cepas de *Rhizobium*, si solubilizan P insoluble, generando mayor formación y peso de vainas a la floración, dado a que algunas funciones del P es promover la floración (Gros, 1996; Suñer *et al.*, 2005).

**CUADRO 14:** Efecto de los niveles de P aplicado y cepas de *Rhizobium*, en la materia seca del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en un suelo Entisol de Costa.

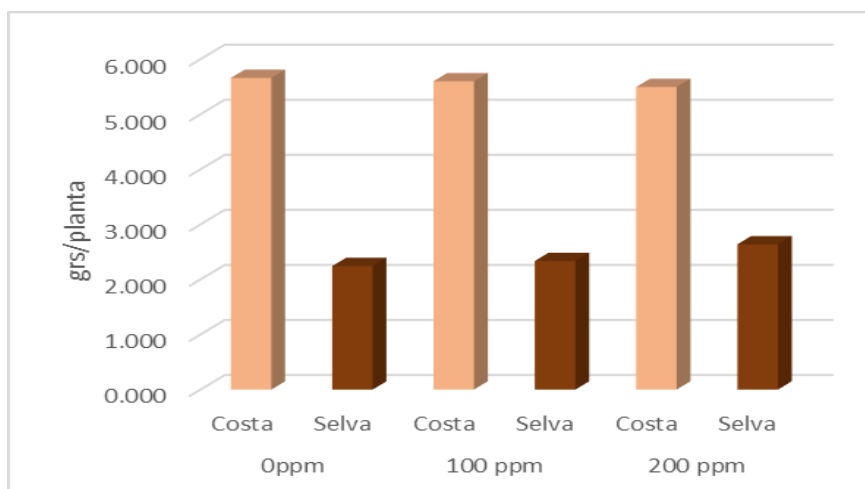
Clave	Niveles de Fósforo	Materia seca aérea de frijol Caraota (g/planta)		
		PSPA g/planta	Peso seco vainas g/planta	Peso total g/planta
P1	0 ppm P	5.6616 a	0.90421 b	6.5658 a
P2	100 ppm P	5.6002 a	1.09892 a	6.6991 a
P3	200 ppm P	5.4962 a	1.19679 a	6.6930 a

Los resultados en el Cuadro 15, a diferentes niveles de P aplicado en un suelo Inceptisol de Selva, muestran que las cepas de *Rhizobium*, han solubilizado P en los diferentes niveles de roca fosfatada. Presenta diferencias significativas en la acumulación de materia seca (PSPA, PSV, PST) con 100 y 200 ppm frente al tratamiento no aplicado. Se demuestra entonces que las cepas de *Rhizobium* si solubilizan P insoluble, proveniente de la

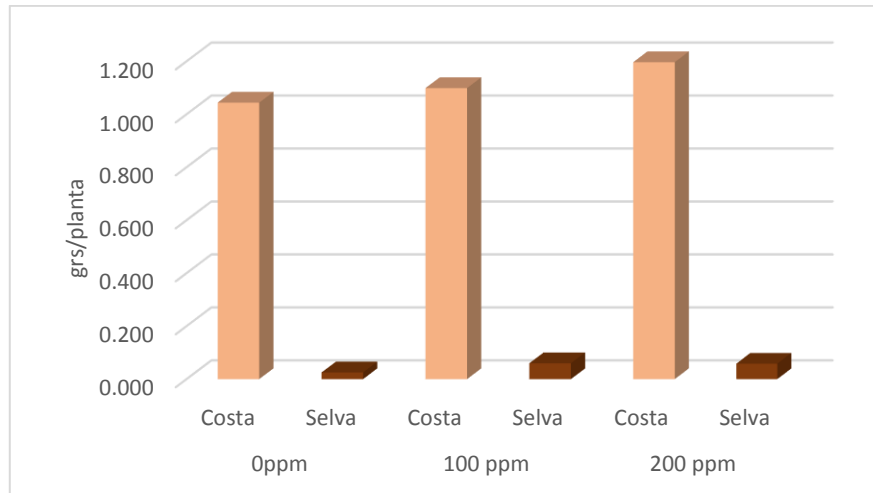
roca fosfatada, generando mayor acumulación de materia seca a la floración, (Santillana, 2005; Matos, 2002)

**CUADRO 15:** Efecto de los niveles de P (Roca fosfatada) aplicado y cepas de *Rhizobium*, en la materia seca del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en un suelo Inceptisol de Selva.

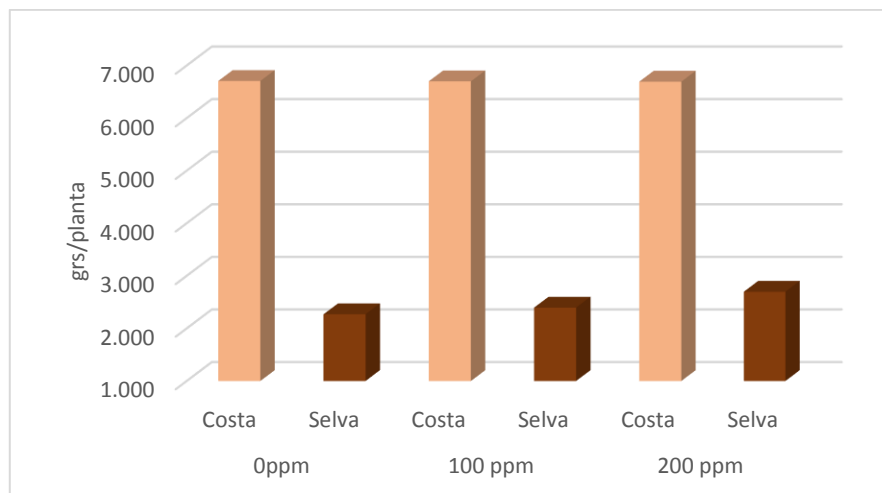
Clave	Niveles de P	Materia seca aérea de frijol Caraota (g/planta)		
		PSPA g/planta	Peso seco vainas g/planta	Peso total g/planta
P1	0 ppm P	2.2439 b	0.025313 b	2.2691 b
P2	100 ppm P	2.3355 a b	0.059800 a	2.3953 a b
P3	200 ppm P	2.6394 a	0.058287 a	2.6976 a



**FIGURA 05:** Comparativo de la efectividad de las cepas solubilizadoras de P con diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en la acumulación de materia seca (PSPA) a la floración, del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelos.



**FIGURA 06:** Comparativo de la efectividad de las cepas solubilizadoras de P con diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en el peso seco de vainas (PSV) a la floración, del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelos.



**FIGURA 07:** Comparativo de la efectividad de las cepas solubilizadoras de P con diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en la acumulación de materia seca total (PTPA) del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelos.



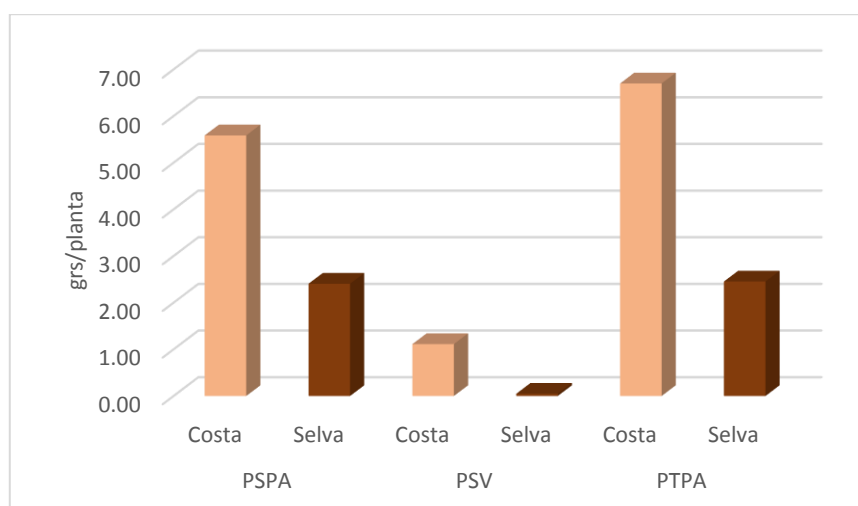
**FOTO 03:** Comparativo de crecimiento en diferentes niveles de Fósforo aplicado.

#### **4.3.3 A diferentes tipos de suelo.**

Los resultados obtenidos mediante el análisis de varianza, (**Cuadros 45, 46 y 47 del anexo**) muestran diferencias altamente significativas, en la acumulación de materia seca (Peso seco parte aérea, peso seco de vainas y peso total). En la prueba de Duncan (**Cuadro 16 y Figura 08**), demuestra que las cepas de *Rhizobium* solubilizadoras de P, se comportan mejor en el suelo Entisol de Costa, por presentar menos restricciones para el crecimiento de la planta, coincidentes con lo reportado por Rosas (2003), quien indicó que el frijol se desarrolla en suelos con pH 6.0 a 7.5 y susceptible a la acidez del suelo.

**CUADRO 16** Efecto del tipo de suelo en la acumulación de materia seca a la floración del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculada con cepas de *Rhizobium* solubilizadoras de P, a diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado.

Tipo de Suelo	Materia seca aérea de frijol Caraota (g/planta)		
	PSPA g/planta	Peso seco vainas g/planta	Peso total g/planta
Suelo Costa (Entisol)	5.5860 a	1.06663 a	6.6527 a
Suelo Selva (Inceptisol)	2.4063 b	0.04780 b	2.4540 b



**FIGURA 08:** Influencia de las cepas solubilizadoras de P, en la materia seca (Peso seco parte aérea (PSPA), peso seco de vainas (PSV) y peso total (PTPA)) a la floración, del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes niveles de P aplicado, en dos tipos de suelos.

#### 4.4 Efecto en la nodulación

##### 4.4.1 A nivel de cepas

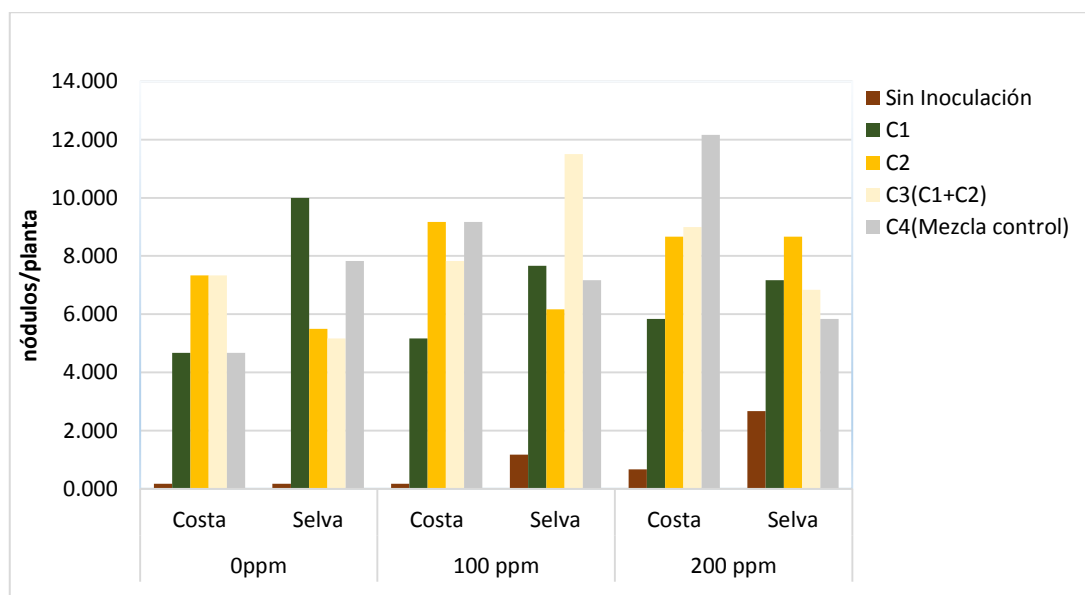
Se puede observar en los análisis estadísticos (Cuadro 48 del anexo), presenta alta significación estadística para la nodulación del frijol Caraota, por la influencia de las cepas, niveles de fósforo aplicado y tipo de suelo. La interacción de los factores (C\*P\*S) refieren diferencias en la formación de nódulos/planta. Al realizar la prueba de Duncan (Cuadro 17



y Figura 09), la nodulación fue mayor en los tratamientos inoculados que el tratamiento no inoculado, independiente del tipo de suelo. La mezcla de cepas de *Rhizobium*, tuvieron mayor respuesta a la nodulación/planta, resaltando las mezclas C3= (C1-1R2C1+ C3-1R2C1-2) y C4= (C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2). Estos resultados indican que las cepas solubilizadoras de P, también influyen en la nodulación y rendimiento del frijol común (Quintero, 2000).

**CUADRO 17:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en la nodulación del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en ambos tipos de suelos.

Clave	Cepas	Nro. de nódulos/planta
C1	C1-1R2C1	6.750 b
C2	C3-1R2C1-2	7.583 a b
C3 (Mezcla C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	7.944 a
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	7.806 a
C0	Testigo	0.833 c



**FIGURA 09:** Efectividad de las cepas de *Rhizobium* en la nodulación del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelo.

Los resultados en el Cuadro 18, muestran diferencias altamente significativas en el suelo Entisol de Costa, (52 ppm P, pH: 7.4 y 1.8 % CaCO<sub>3</sub>). Las cepas de *Rhizobium* solubilizadoras de P, influyen significativamente en la nodulación, siendo superiores los tratamientos inoculados, resaltando la mezcla de cepas hasta en un 270% frente al tratamiento no inoculado. Los resultados demuestran, que existe simbiosis entre las cepas de *Rhizobium* y el frijol Caraota, donde los rizobios demuestran la habilidad de formar nódulos en las raíces (Long, 1989).

**CUADRO 18:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en la nodulación del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Entisol de Costa.

Clave	Cepas	Número de nódulos/planta
C1	C1-1R2C1	5.2222 b
C2	C3-1R2C1-2	8.3889 a
C3 (Mezcla C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	8.0556 a
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	8.6667 a
C0	Sin inoculación	0.3333 c

Los resultados en el Cuadro 19, muestran diferencias altamente significativas en el suelo Inceptisol de Selva, (10.2ppm P y pH: 5.0). Las cepas de *Rhizobium* solubilizadoras de P, influyen significativamente en la nodulación, siendo superiores los tratamientos inoculados, resaltando la mezcla de cepas hasta en un 600% frente al tratamiento no inoculado. Los resultados demuestran, que existe simbiosis entre las cepas de *Rhizobium* y el frijol Caraota, donde los rizobios demuestran la habilidad de formar nódulos en las raíces, a pesar de la acidez del suelo presente (Gibson *et al.*, 2008; Long, 1989).

**CUADRO 19:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en la nodulación del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) con diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Inceptisol de Selva.

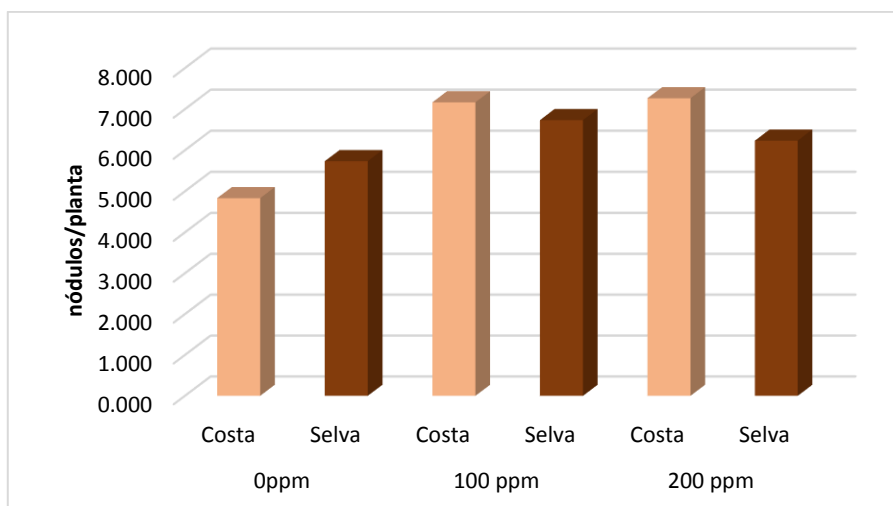
Clave	Cepas	Número de nódulos/planta
C1	C1-1R2C1	8.2778 a
C2	C3-1R2C1-2	6.7778 a
C3 (Mezcla C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	7.8333 a
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	6.9444 a
C0	Sin inoculación	1.3333 b

#### 4.4.2 A diferentes niveles de fósforo aplicado

Los resultados muestran (Cuadro 20 y Figura 10) que la aplicación de una fuente fosfatada de lenta solubilidad, promueven la actividad de las cepas de rizobios y por consiguiente el incremento en la nodulación, coincidente con lo reportado por Alagawadi y Gaur (1988), quien al realizar un estudio similar con el uso de *Rhizobium* en frijol, obtuvo resultados similares.

**CUADRO 20:** Comportamiento de las cepas de *Rhizobium*, inoculadas a diferentes niveles de P (Roca fosfatada), en la nodulación del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelos.

Clave	Fuentes de Fósforo	Número de nódulos/planta
P1	0 ppm P	5.2833 b
P2	100 ppm P	6.5167 a
P3	200 ppm P	6.7500 a



**FIGURA 10:** Comparativo de la efectividad de las cepas solubilizadoras de P con diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en la nodulación del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelos.

Los resultados en el Cuadro 21, muestran diferencias altamente significativas en el suelo Entisol de Costa, (52ppm P, pH: 7.4 y 1.8 % CaCO<sub>3</sub>). Las cepas de *Rhizobium* solubilizadoras de P, incrementa significativamente la nodulación a diferentes niveles de roca fosfatada aplicada, siendo superiores los tratamientos 100 ppm y 200 ppm de P aplicado, hasta en un 67% frente al tratamiento no inoculado. Los resultados demuestran, que la presencia del elemento P es utilizado como fuente de energía para el proceso de nodulación, los rizobios demuestran la habilidad de solubilizar P y formar nódulos en las raíces (Toscano, 2002; Rudresh *et al.*, 2005).

**CUADRO 21:** Comportamiento de las cepas de *Rhizobium*, inoculadas a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en la nodulación del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en un suelo Entisol de Costa.

Clave	Fuentes de Fósforo	Número de nódulos/planta
P1	0 ppm P	4.8333 c
P2	100 ppm P	6.3000 b
P3	200 ppm P	7.2667 a

Los resultados en el Cuadro 22, muestran diferencias altamente significativas en un suelo Inceptisol de Selva. Las cepas de *Rhizobium* solubilizadoras de P, incrementa significativamente la nodulación a diferentes niveles de roca fosfatada aplicada, siendo superiores los tratamientos 100 ppm y 200 ppm de P aplicado hasta en un 10% frente al tratamiento no inoculado. Los resultados demuestran, que la presencia del elemento P, para el proceso de nodulación es necesario, siendo utilizado como fuente de energía, los rizobios demuestran la habilidad de solubilizar P y formar nódulos en las raíces (Rudresh *et al.* 2005; Granda, 2014).

**CUADRO 22:** Comportamiento de las cepas de *Rhizobium*, en la nodulación del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) con diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Inceptisol de Selva.

Clave	Fuentes de Fósforo	Número de nódulos/planta
P1	0 ppm P	5.7333 a
P2	100 ppm P	6.7333 a
P3	200 ppm P	6.2333 a

#### 4.4.3 A diferentes condiciones de suelo.

En el análisis de variancia (Cuadro 48 del anexo) y la prueba de Duncan (Cuadro 23), no se encontró significación estadística para la condición suelo. Al respecto existen evidencias donde se demuestra que la capacidad infectiva de las cepas de *Rhizobium* y la formación de nódulos, es exclusivamente genética y específica del rizobio y no depende necesariamente de las condiciones nutricionales del suelo y medioambiente (Bushby, 1982).

**CUADRO 23:** Efecto del tipo de suelo, en la actividad de las cepas de *Rhizobium* solubilizadoras de P, en la nodulación del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) con diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado.

Tipos de Suelo	Nro. de nódulos/planta
Suelo Costa (Entisol)	6.1333 a
Suelo Selva (Inceptisol)	6.233 a

Al respecto existen evidencias donde se demuestra que la capacidad infectiva de las cepas de *Rhizobium* y la formación de nódulos, es exclusivamente genética y específica del rizobio y no depende necesariamente de las condiciones nutricionales del suelo y medioambiente (Bushby, 1982).

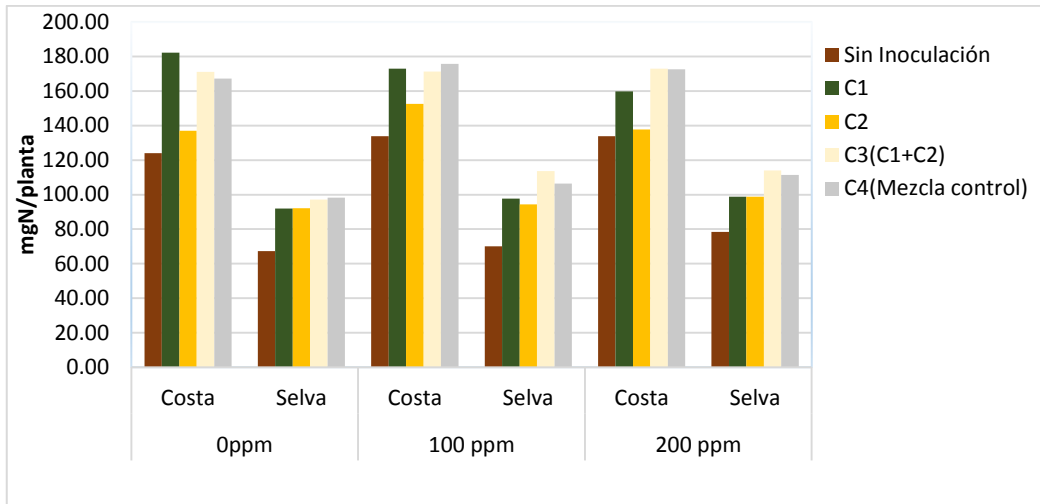
#### 4.5 Contenido de N y P en la materia seca a la floración

##### 4.5.1 A nivel de cepas

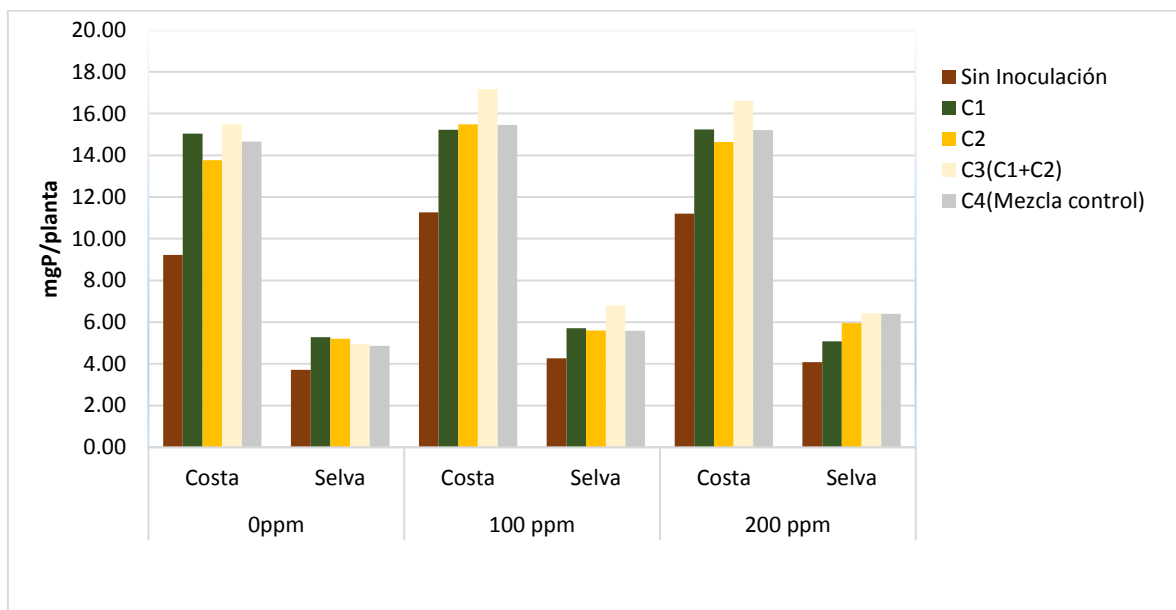
Los resultados obtenidos sobre el contenido de N y P en la materia seca obtenida en la etapa de floración, podemos observar que existe significación estadística a nivel de cepas y tipo de suelo. (Cuadros 49 y 50 del anexo). En la prueba de Duncan (Cuadro 24, Figura 11 y 12), los mejores resultados se obtuvieron en los tratamientos inoculados, resaltando las mezclas de cepas C3= (C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2) y C4= (C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2). Esto se atribuye a la capacidad efectiva de la cepa de *Rhizobium* de fijar N y solubilizar fosfatos. El contenido final de N y P extraído por la planta dependería de la cantidad de materia seca obtenida/planta, influenciada por las condiciones edáficas del suelo (Fischer, 1994) y a la acción sinérgica de las mezclas de cepas de *Rhizobium*, promoviendo mayor fijación de Nitrógeno (Sessitsch *et al.*, 2002) y solubilización de fosfatos (Villegas, *et al.*, 2001; Schneider *et al.*, 2010).

**CUADRO 24:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de N y P acumulado en la materia seca del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) a la floración, a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado en dos tipos de suelos.

Clave	Cepas	mg N/planta	mg P/planta
C1	C1-1R2C1	131.122 a	10.0296 b
C2	C3-1R2C1-2	118.793 b	10.1064 b
C3 (Mezcla C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	140.060 a	11.2384 a
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	138.597 a	10.3594 b
C0	Testigo	101.230 c	7.2931 c



**FIGURA 11:** Efectividad de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de N acumulado en la materia seca (mg N/planta) del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris L.*) en la etapa de floración, con diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelos.



**FIGURA 12:** Efectividad de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de P acumulado en la materia seca (mg P/planta) del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris L.*) a la etapa de floración, a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelos.

Con respecto a los valores obtenidos de N y P en la materia seca del frijol a la floración, en el suelo Entisol de Costa (**Cuadro 25**) podemos observar que la mezcla combinada de cepas C3= (C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2) y el C4= (C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2), presentó mejor característica de fijación de N y la cepa C3=(C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2) como solubilizadora de P, frente a los demás tratamientos. Este comportamiento se puede atribuir a la sinergia de las mezclas cepas de *Rhizobium* permite promover mayor fijación de Nitrógeno (Sessitsch et al., 2002), y la solubilización de fosfatos, (Villegas, et al., 2001; Schneider et al., 2010). El contenido de N y P extraído, tendría relación con la cantidad de materia seca producida, promovida por la actividad de las cepas de *Rhizobium* (Sessitsch et al., 2002; Matos, 2002; Santillana et al., 2005)

**CUADRO 25:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de N y P acumulado en la materia seca, del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris L.*) a la floración, a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Entisol de Costa.

Clave	Cepas	mg N/planta	mg P/planta
C1	C1-1R2C1	166.098 a	14.7046 b
C2	C3-1R2C1-2	142.465 b	14.6278 b
C3 (Mezcla C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	171.818 a	16.4238 a
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	171.885 a	15.1046 b
C0	Sin inoculación	130.560 b	10.5661 c

Los valores de N y P obtenidos en la materia seca del frijol Caraota en la etapa de floración, en un suelo Inceptisol de Selva (Cuadro 26), demuestra la influencia de la cepas de *Rhizobium*, en la cantidad de N y P acumulado en la biomasa total/ planta, siendo mayor en los tratamientos inoculados. La acción combinada de las cepas de *Rhizobium* C3= (C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2) y el C4= (C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2) influyó positivamente en la fijación de N y solubilización de P, frente a la acción de las cepas inoculadas sin combinar. Este comportamiento se puede atribuir a la interacción sinérgica entre las cepas de *Rhizobium* combinadas permiten promover mayor fijación de Nitrógeno (Sessitsch et al., 2002) y la solubilización de fosfatos ((Villegas, et al., 2001; Schneider et al., 2010; Villegas y Fortín, 2001) en condiciones de suelos ácidos.



**CUADRO 26:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de N y P acumulado en la materia seca del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en la etapa de floración, a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Inceptisol de Selva.

Clave	Cepas	mg N/planta	mg P/planta
C1	C1-1R2C1	96.145 a	5.3547 a
C2	C3-1R2C1-2	95.121 a	5.5848 a
C3 (Mezcla C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	108.302 a	6.0532 a
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	105.310 a	5.6141 a
C0	Sin inoculación	71.899 b	4.0201 b

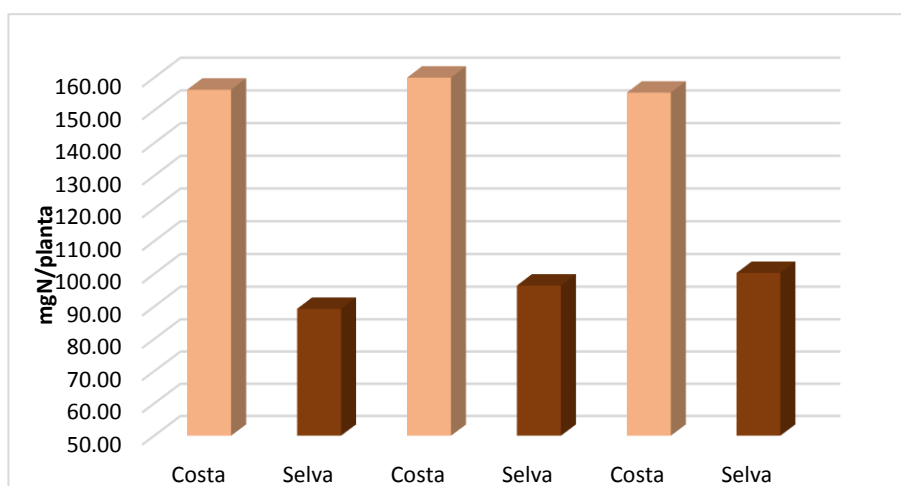
#### 4.5.2 A diferentes niveles de fósforo aplicado

En el análisis de variancia (Cuadro 50 del anexo), se evidencia significación estadística cuando se adiciona diferentes niveles de P proveniente de roca fosfatada. Lo que corrobora lo reportado por Fernández *et al.*, (2005), donde refiere que la aplicación fosfatada en forma insoluble tiene influencia en la actividad de las cepas como solubilizadoras de P, quienes pueden lograr mediante mecanismos la solubilización de P insoluble, mayor disponibilidad de P para los procesos fisiológicos de la planta.

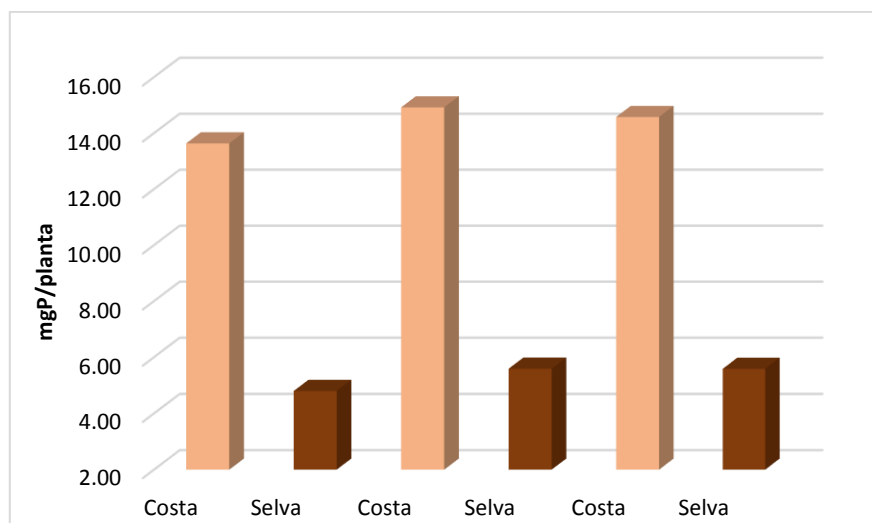
En la prueba de Duncan (Cuadro 27, Figuras 13 y 14) se evidencia que la aplicación fosfatada no influye significativamente en la capacidad de fijación de N por las cepas de *Rhizobium* y por consiguiente en el contenido de N en la materia seca. Lo que demuestra lo referido por Pahuara y Zúñiga, (2002); Robleto (1988), quienes en un estudio realizado de fertilización fosfatada a diferentes dosis de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, no tuvo respuesta significativa en el rendimiento y contenido de N fijado/planta. Sin embargo en presencia de fósforo insoluble, las cepas de *Rhizobium*, solubilizan P no disponible (Toscano 2001).

**CUADRO 27:** Efecto del P (Roca fosfatada) aplicado y la capacidad solubilizadora de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de N y P (mg/planta) acumulado en la materia seca del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), en la etapa de floración, en dos tipos de suelo.

Clave	Niveles de Fósforo	mg N/planta	mg P/planta
P1	0 ppm P	121.158 a	9.0792 b
P2	100 ppm P	128.865 a	10.2550 a
P3	200 ppm P	127.859 a	10.0820 a



**FIGURA 13:** Comparativo de la efectividad de las cepas solubilizadoras de P con diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en la cantidad de N (mg N /planta) acumulado en la materia seca del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos condiciones de suelo.



**FIGURA 14:** Comparativo de la efectividad de las cepas solubilizadoras de P con diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en la cantidad de P (mg P /planta) acumulado en la materia seca el frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos condiciones de suelo.

La aplicación de P insoluble en un suelo Entisol de Costa (Cuadro 28), no influye en la actividad de las cepas de *Rhizobium* para la fijación del N, sin embargo, si influye positivamente en el contenido de P en la materia seca. Podría atribuirse a la capacidad solubilizadora de P, hasta 100 ppm de P aplicado al suelo, coincidiendo con lo reportado por Toscano (2001). Mientras que en el suelo Inceptisol de Selva (Cuadro 29), no influye la cantidad P aplicado en el contenido de N y P acumulado en la materia seca del cultivo. Podría atribuirse a la presencia de bajos niveles de P disponible y acidez del suelo, incrementando la capacidad del *Rhizobium* para solubilizar P (Vassilev *et al.* 2003).

**CUADRO 28:** Efecto de la aplicación fosfatada y la capacidad solubilizadora de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de N y P (mg/planta) acumulado en la materia seca del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), en la etapa de floración, en un suelo Entisol de Costa.

Clave	Fuentes de Fósforo	mg N/planta	mg P/planta
P1	0 ppm P	152.991 a	13.3590 b
P2	100 ppm P	161.277 a	14.9202 a
P3	200 ppm P	155.428 a	14.5769 a

**CUADRO 29:** Efecto de la aplicación fosfatada y la capacidad solubilizadora de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de N y P (mg/planta) acumulado en la materia seca del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), en la etapa de floración, en un suelo Inceptisol de Selva.

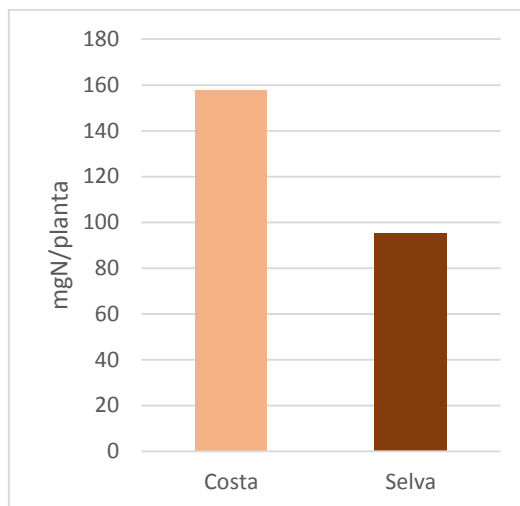
Clave	Fuentes de Fósforo	mg N/planta	mg P/planta
P1	0 ppm P	89.325 a	4.7994 a
P2	100 ppm P	96.452 a	5.5897 a
P3	200 ppm P	100.290 a	5.5870 a

#### 4.5.3 A diferentes tipos de suelo

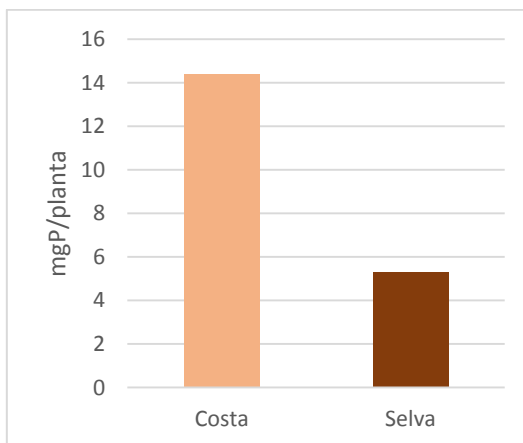
El análisis de variancia (Cuadro 49 y 50 del anexo), presenta diferencias estadísticas, deduciéndose que las características físico químicas del suelo influyen en el crecimiento y desarrollo de la planta (Gibbson y Jordan, 1983). Al compararse los resultados (Cuadro 30, Figura 15 y 16), la cantidad de N y P acumulado en la materia seca del frijol Caraota. El suelo Entisol de Costa, presenta mayores niveles de N y P (mg/planta), con 64% en el contenido de N y 168% en el contenido de P, comparado al suelo Inceptisol de Selva. Se demuestra que las características edáficas del suelo al cumplir los requerimientos del cultivo, pueden influir en la acumulación de materia seca y por consiguiente, en el contenido de N y P en la planta. (Robleto, 1988; Rosas, 2003)

**CUADRO 30:** Influencia del tipo de suelo en la capacidad solubilizadora de P de las cepas de *Rhizobium*, a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en el contenido de N y P (mg/planta) acumulado en la materia seca del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Tipos de suelo	mg N/planta	mg P/planta
Suelo Costa (Entisol)	156.565 a	14.2854 a
Suelo Selva (Inceptisol)	95.356 b	5.3254 b



**FIGURA 15:** Influencia del tipo de suelo en la capacidad solubilizadora de P de las cepas de *Rhizobium*, a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en el contenido de N (mg/planta) acumulado en la materia seca del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.).



**FIGURA 16:** Influencia del tipo de suelo en la capacidad solubilizadora de P de las cepas de *Rhizobium*, a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en el contenido de P (mg/planta) acumulado en la materia seca del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.).

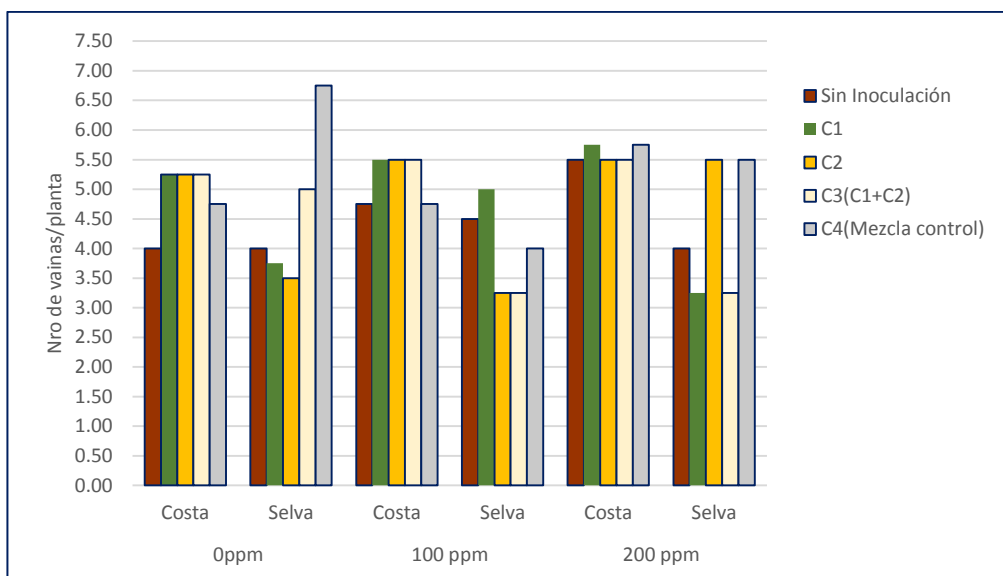
#### 4.6 Efecto de los factores en estudio en los componentes de rendimiento.

##### 4.6.1 A nivel de cepas

En el análisis de variancia (Cuadro 51 del anexo), se puede observar que existen incrementos en el número de vainas producidas, formación y peso de granos (gr/planta) a diferentes niveles de P aplicado y tipo de suelo. En la prueba de Duncan (Cuadro 31 y Figura 17), la mezcla de cepas C4= (C5-1R1C2-2+C6-1R2C2), presentó mayor influencia en el rendimiento de grano (kg/ha.) Podría atribuirse este resultado a la acción combinada y sinérgica de las bacterias solubilizadoras de P, influyendo en el crecimiento y desarrollo de la planta, por la disponibilidad de nutrientes (Villegas y Fortín, 2001).

**CUADRO 31:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en los componentes de rendimiento del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelos.

Clave	Cepas	Componentes de rendimiento				
		Nro. vainas /planta	Nro. de granos/planta	Peso de granos g/planta	Peso 100 semillas (g)	Rendimiento kg/ha.
C1	C1-1R2C1	4.75 b	16.75 b	3.2033 b	19.81 a	320.52 b
C2	C3-1R2C1-2	4.75 b	15.79 b	3.0950 b	19.53 a	309.52 b
C3 (C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	4.62 b	16.58 b	3.4425 b	20.87 a	344.36 a
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	5.25 a	18.83 a	3.6242 a	20.22 a	362.31 a
C0	Testigo	4.46 b	13.67 c	2.6233 c	19.55 a	262.34 c



**FIGURA 17** Efectividad de las cepas de *Rhizobium* en el número de vainas/planta en el frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelo.

Las características físico-químicas del suelo, influyen en el crecimiento y desarrollo de la planta (Gibbson y Jordan, 1983). Se demuestra al compararse los resultados (Cuadro 32 y 33) entre los suelos Entisol de Costa e Inceptisol de Selva, la influencia de las cepas solubilizadoras de P fue mayor en la formación y peso de granos (Figura 18 y 19), por consiguiente en el rendimiento (kg/ha) (Figura 20). La mezcla de cepas C4 y C3 lograron incrementos en el rendimiento entre 20.4% y 21.1% en el suelo Entisol de Costa y 29.1% y 39.5% en el suelo Inceptisol de Selva frente al tratamiento no inoculado. Se demuestra que las cepas de *Rhizobium* influye positivamente en los parámetros de rendimiento del cultivo de frijol Caraota, en mayor grado en suelos con baja disponibilidad de nutrientes, mediante el uso de mecanismos de fijación de N y solubilización de P (Rashid, *et al.*, 2004) y lograr la disponibilidad de N y P asimilable en la zona cercana de las raíces (Hinsinger, 2001).

**CUADRO 32:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en los componentes de rendimiento del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Entisol de Costa.

Clave	Cepas	Componentes de rendimiento				
		Nro. vainas /planta	Nro. de granos/planta	Peso de granos g/planta	Peso 100 semillas (g)	Rendimiento kg/ha.
C1	C1-1R2C1	5.5000 a	23.250 a	4.1717 a	17.962 a	417.15 a
C2	C3-1R2C1-2	5.4167 a	22.750 a	4.3900 a	19.378 a	438.94 a
C3 (C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	5.4167 a	23.000 a	4.5433 a	19.988 a	454.53 a
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	5.0833 a	25.500 a	4.5033 a	17.742 a	450.25 a
C0	Testigo	4.7500 a	18.833 b	3.5867 b	19.107 a	358.63 b

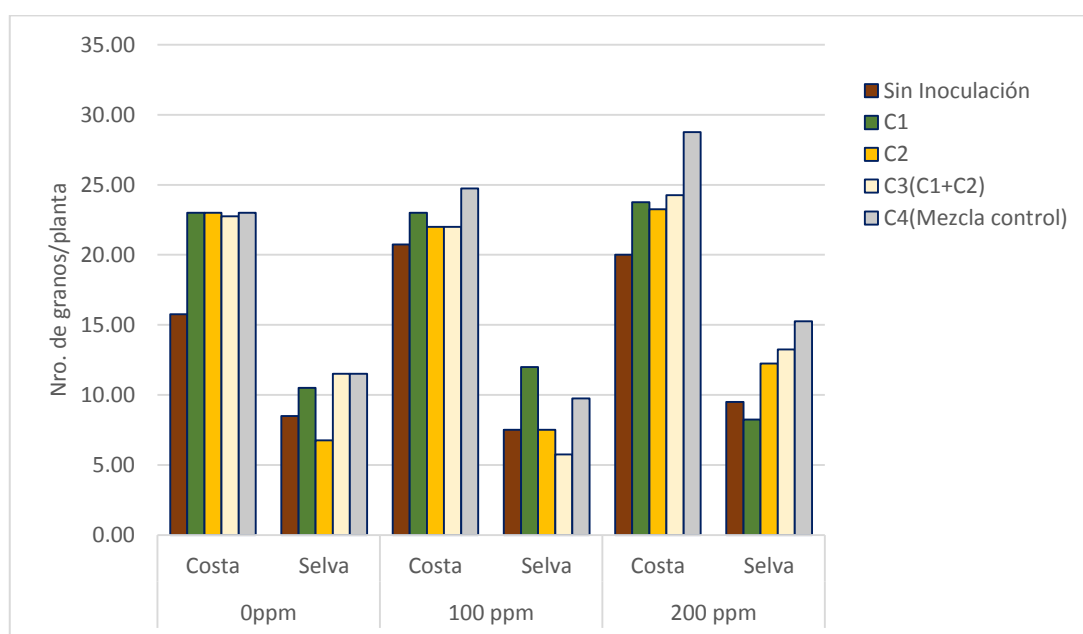
**CUADRO 33:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en los componentes de rendimiento del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Inceptisol de Selva.

Clave	Cepas	Componentes de rendimiento				
		Nro. vainas /planta	Nro. de granos/planta	Peso de granos g/planta	Peso 100 semillas (g)	Rendimiento kg/ha.
C1	C1-1R2C1	4.000 b	10.250 ab	2.2350 abc	21.660 ab	223.64 abc
C2	C3-1R2C1-2	4.0833 b	8.833 b	1.8000 bc	19.690 b	180.09 bc
C3 (C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	3.8333 b	10.167 ab	2.3417 ab	21.752 ab	234.18 ab
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	5.4167 a	12.167 a	2.7450 a	22.697 a	274.37 a
C0	Testigo	4.1667 b	8.500 b	1.6600 c	19.988 ab	166.05 c

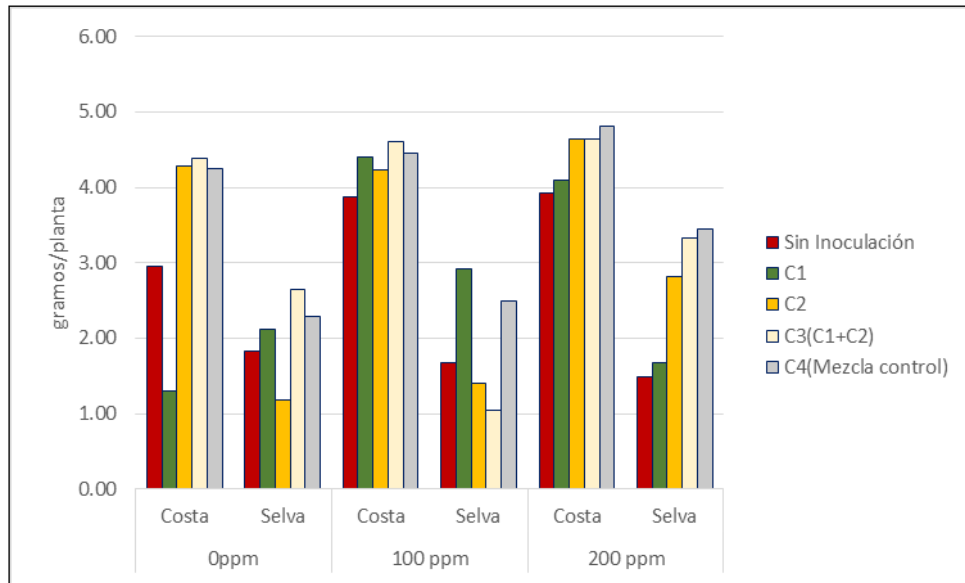


**CUADRO 33:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en los componentes de rendimiento del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Inceptisol de Selva.

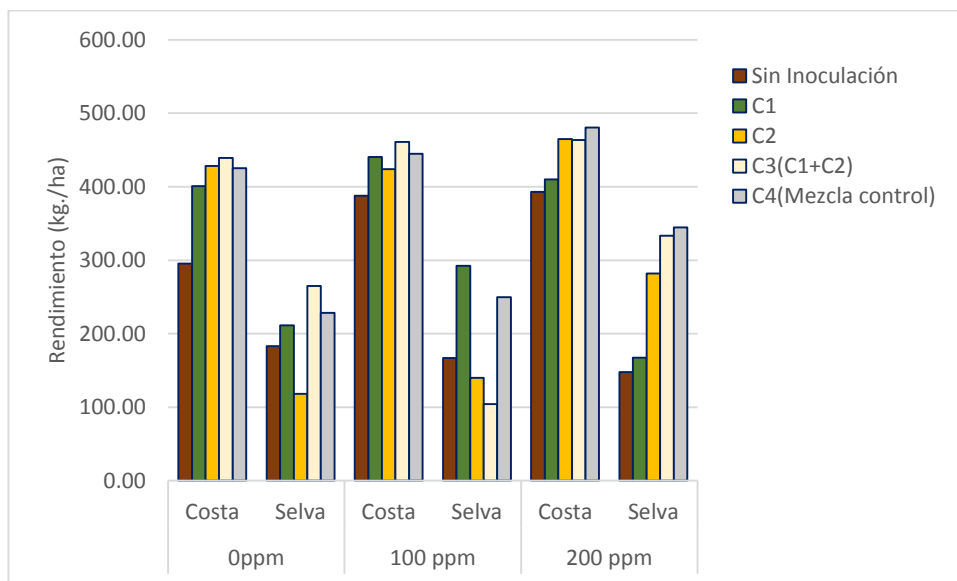
Clave	Cepas	Componentes de rendimiento				
		Nro. vainas /planta	Nro. de granos/planta	Peso de granos g/planta	Peso 100 semillas (g)	Rendimiento kg/ha.
C1	C1-1R2C1	4.000 b	10.250 ab	2.2350 abc	21.660 ab	223.64 abc
C2	C3-1R2C1-2	4.0833 b	8.833 b	1.8000 bc	19.690 b	180.09 bc
C3 (C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	3.8333 b	10.167 ab	2.3417 ab	21.752 ab	234.18 ab
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	5.4167 a	12.167 a	2.7450 a	22.697 a	274.37 a
C0	Testigo	4.1667 b	8.500 b	1.6600 c	19.988 ab	166.06



**FIGURA 18** Efectividad de las cepas de *Rhizobium* en la cantidad de granos/planta del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelos.



**FIGURA 19:** Efectividad de las cepas de *Rhizobium* en el peso de granos/planta del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelos.



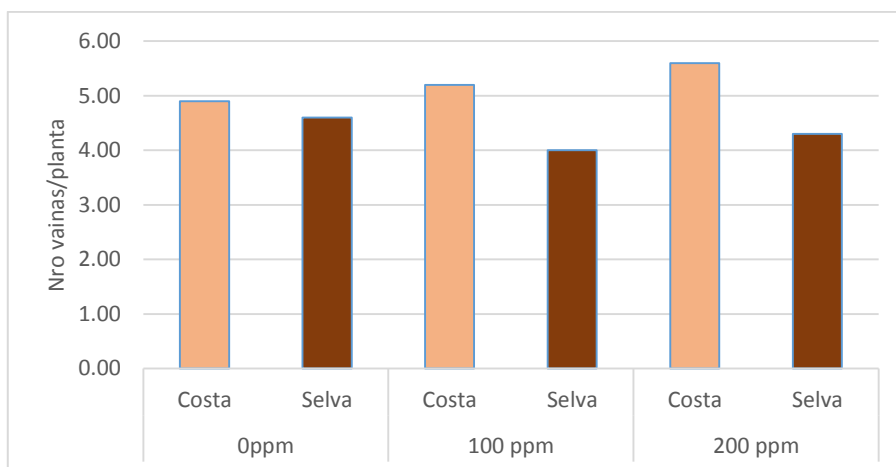
**FIGURA 20:** Efectividad de las cepas de *Rhizobium* en el rendimiento (kg/ha) del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelos.

#### 4.6.2 A diferentes niveles de fósforo aplicado

El análisis de variancia (**Cuadros 51, 52 y 53 del anexo**), para el factor fósforo presenta significación estadística. La actividad de las cepas (**Cuadro 34 y figura 21**) con 200 ppm de P aplicado, tuvo resultados positivos en la formación y producción de granos/planta y en el rendimiento con incrementos hasta 14.13% frente al tratamiento no inoculado. Asimismo podemos observar que el tipo de suelo influye en la actividad de las cepas de *Rhizobium*, lográndose incrementos en los parámetros de rendimiento del cultivo para ambos suelos. En el suelo Entisol de Costa (**Cuadro 35**), tuvo efectos positivos en la formación y producción de granos con 100 y 200 ppm de fósforo aplicado, lográndose incrementos en el rendimiento entre 8% al 10.1% frente al tratamiento no inoculado. Las cepas de *Rhizobium* presentaron un comportamiento similar en el suelo Inceptisol de Selva, (**Cuadro 36**) a niveles de 200 ppm de P aplicado, logrando incrementos en la formación y producción de granos (**Figura 22 y 23**) y en el rendimiento (**Figura 24**) hasta en un 21.1% frente al tratamiento no inoculado. Se puede atribuir a la habilidad que tienen estas bacterias de proveer nutrientes como P y N a través de mecanismos de fijación y solubilización, promoviendo el crecimiento de las plantas a igual que su productividad (Loredo, 2004).

**CUADRO 34:** Efecto de los niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado y la actividad de las cepas de *Rhizobium*, en los componentes de rendimiento del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelos.

Niveles de P	Componentes de rendimiento				
	Nro. vainas/planta	Nro. de granos/planta	Peso de granos/planta	Peso 100 semillas	Rendimiento kg/ha
0 ppm P	4.75 a	15.625 b	2.9960 b	19.53 a	299.48 b
100 ppm P	4.60 a	15.50 b	3.1095 b	20.49 a	311.10 b
200 ppm P	4.95 a	17.85 a	3.4875 a	19.97 a	348.77 a



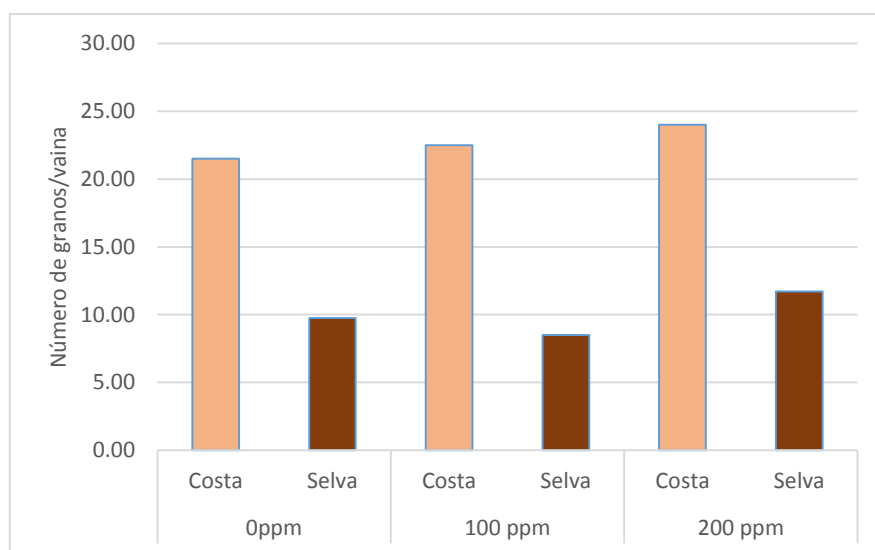
**FIGURA 21:** Efectividad de las cepas solubilizadoras de P y diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en la producción de vainas/planta del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelos.

**CUADRO 35:** Efecto de los niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado y la actividad de las cepas de *Rhizobium*, en los componentes de rendimiento del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en un suelo Entisol de Costa.

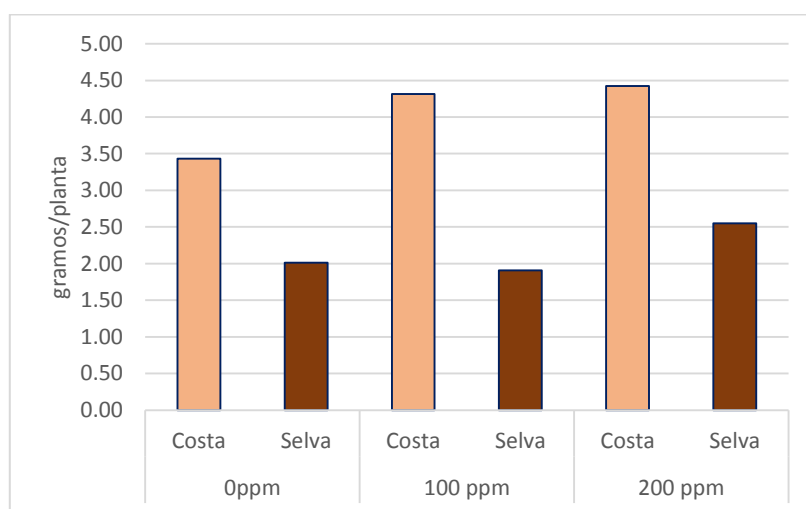
Niveles de P	Componentes de rendimiento				
	Nro. vainas/planta	Nro. de granos/planta	Peso de granos/planta	Peso 100 semillas	Rendimiento kg/ha
0 ppm P	4.9000 b	21.500 b	3.9790 b	18.5370 a	397.72 b
100 ppm P	5.2000 b	22.500 b	4.3130 a	19.3350 a	431.52 a
200 ppm P	5.6000 a	24.000 a	4.4250 a	18.6340 a	442.46 a

**CUADRO 36:** Efecto de los niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado y la actividad de las cepas de *Rhizobium*, en los componentes de rendimiento del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en un suelo Inceptisol de Selva.

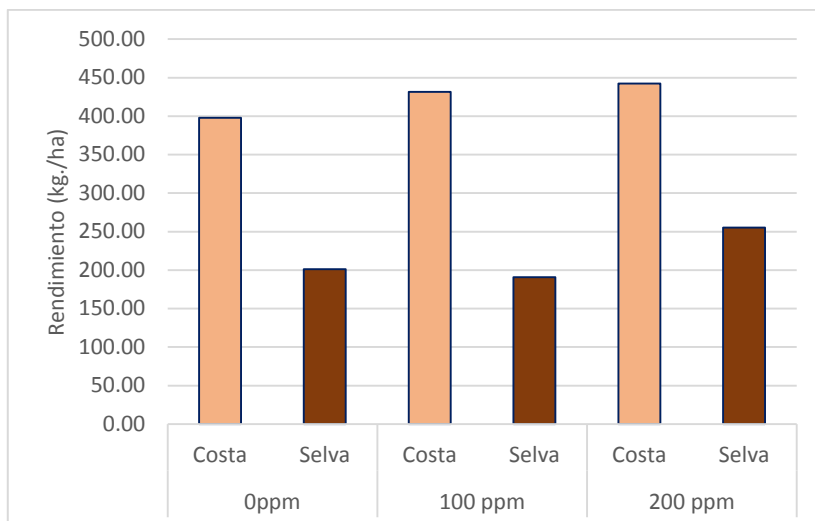
Niveles de P	Componentes de rendimiento				
	Nro. vainas/planta	Nro. de granos/planta	Peso de granos/planta	Peso 100 semillas	Rendimiento kg/ha
0 ppm P	4.6000 a	9.7500 ab	2.0130 b	20.5190 a	201.24 b
100 ppm P	4.0000 a	8.5000 b	1.9060 b	21.6410 a	190.68 b
200 ppm P	4.3000 a	11.7000 a	2.5500 a	21.3150 a	255.08 a



**FIGURA 22:** Efectividad de las cepas solubilizadoras de P a diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en el número de granos/planta del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelos.



**FIGURA 23:** Efectividad de las cepas solubilizadoras de P a diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en la producción de granos (gr/planta) del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelos.



**FIGURA 24:** Efectividad de las cepas solubilizadoras de P a diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado, en el rendimiento de grano (kg/ha) del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelo.

#### 4.6.3 A diferentes tipos de suelo

La influencia de las condiciones del suelo en la actividad de las cepas de *Rhizobium* (Cuadros 54 y 55), presenta alta significación estadística. Al comparar ambos suelos (Cuadro 37) se puede observar que en el suelo Entisol de Costa, las cepas de *Rhizobium*, presentan mayor actividad solubilizadora de P, promoviendo la disponibilidad de nutrientes, logrando mayores incrementos en el rendimiento de grano (kg/ha) hasta 49.6% más que la producción alcanzada en el suelo Inceptisol de Selva (215.67 kg/ha). Estos resultados demuestran que la condición suelo y la actividad fijadora de N y solubilizadora de P de las cepas *Rhizobium*, permite la disponibilidad de N y P asimilable para la planta, incrementando la productividad del cultivo (Kirby y Jhonston, 2008; Vassilev, et al 2003).

**CUADRO 37:** Efecto del tipo de suelo y la actividad de las cepas de *Rhizobium*, en los componentes de rendimiento del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) con diferentes niveles de fósforo (Roca fosfatada) aplicado.

Tipos de Suelo	Componentes de rendimiento				
	Nro. Vainas/planta	Nro. de granos/planta	Peso de granos/planta (g)	Peso de 100 semillas (g)	Rendimiento kg/ha.
Suelo Costa (Entisol)	5.2333 a	22.67 a	4.2390 a	18.85 b	423.90 a
Suelo Selva (Inceptisol)	4.3000 b	9.98 b	2.1563 b	21.16 a	215.67 b

#### 4.7 En la cantidad de N y P extraído en el grano del frijol.

##### 4.7.1 A nivel de cepas

Los análisis de variancia (**Cuadros 56 y 57 del anexo**), muestran diferencias significativas para la cantidad de N y P extraído por el grano. En la prueba de Duncan (**Cuadro 38**), al comparar los promedios de los tratamientos, se observa que la mezcla de cepas C4= (C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2) presenta mayor cantidad de N (130.8 mg/planta) y P (7.47 mg/planta) en el grano de frijol, siendo estadísticamente superior, con incrementos de 45.7% para nitrógeno y 34.8% para fósforo frente al tratamiento no inoculado. Estos resultados demuestran que la mezcla combinada de cepas de *Rhizobium*, permite una acción sinérgica, originando mayor disponibilidad de nutrientes, mayor producción de materia seca y mayor contenido de N y P en la planta, coincidente con resultados reportados por Rudresh *et al.* (2005) y Gutiérrez & Martínez (2001)

**CUADRO 38:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en la cantidad de N y P acumulado en el grano del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en dos tipos de suelo.

Clave	Cepas	mg N/planta	mg P/planta
C1	C1-1R2C1	114.525 b	6.7367 a
C2	C3-1R2C1-2	109.851 b	6.8175 a
C3 (C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	122.323 b	7.3742 a
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	130.823 a	7.4708 a
C0	Testigo	89.753 c	5.5483 b

En los Cuadros 39 y 40, se presenta los promedios de N y P extraído (mg/planta) según el tipo de suelo. Al comparar ambos suelos, podemos observar que la mezcla combinada de cepas C3, presenta los mejores resultados frente a los otros tratamientos, la cantidad de N y P (mg/planta) extraído en el suelo Entisol de Costa fue de 20.7% en N y 24% en P, frente al tratamiento no inoculado y en el suelo Inceptisol de Selva se logró incrementos de 42.4% en N y 40% en P frente al tratamiento no inoculado. Estos resultados demuestran que la mezcla combinada de cepas de *Rhizobium*, son más efectivas. La acción sinérgica de las cepas, permite la mayor disponibilidad de nutrientes, mayor producción de materia seca y contenido de N y P en la planta, coincidente con resultados reportados por Quintero (2000) y Torres (2000).

**CUADRO 39:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en la cantidad de N y P acumulado en el grano del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Entisol de Costa.

Clave	Cepas	mg N/planta	mg P/planta
C1	C1-1R2C1	124.853 b	8.6750 b
C2	C3-1R2C1-2	137.995 a	9.2117 ab
C3 (C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	143.778 a	9.6800 a
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	133.492 ab	8.7533 b
C0	Testigo	105.773 c	7.3800 c

**CUADRO 40:** Efecto de las cepas de *Rhizobium*, en la cantidad de N y P acumulado en el grano del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes niveles de P (Roca fosfatada) aplicado, en un suelo Inceptisol de Selva.

Clave	Cepas	mg N/planta	mg P/planta
C1	C1-1R2C1	104.200 ab	4.7867 ab
C2	C3-1R2C1-2	81.710 bc	4.4167 b
C3 (C1+C2)	C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2	100.870 b	5.0667 ab
C4 (Mezcla Control)	C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2	128.150 a	6.1883 a
C0	Testigo	73.730 c	3.7167 b



#### 4.7.2 A diferentes niveles de fósforo aplicado

El análisis de varianza (Cuadros 56 y 57), muestran significación estadística en el contenido de N y P extraído en el grano. En la prueba de medias (Cuadro 41), al comparar los promedios de los tratamientos, se observa que el tratamiento P200 (200 ppm de P) el elemento Nitrógeno presenta un mayor incremento hasta 16.7% frente al testigo. En cuanto a la acumulación de P, no existen diferencias significativas entre los tratamientos en estudio. Los resultados demuestran que la acumulación de P en el grano en el tratamiento P0 (0 ppm de P), podría deberse a la capacidad de las cepas *Rhizobium* de solubilizar P del suelo en ausencia de fósforo asimilable, mediante mecanismos de solubilización propio del rizobio (Mullen, 2005; Chen *et al.*, 2006).

**CUADRO 41:** Efecto de los niveles de P (Roca fosfatada) aplicado y la actividad de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de N y P acumulado en el grano del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelos.

Clave	Niveles de P	mg N /planta	mg P /planta
P0	0 ppm P	105.989 b	6.7510 a
P100	100 ppm P	110.614 b	6.6115 a
P200	200 ppm P	123.762 a	7.0060 a

Al comparar ambos suelos (Cuadro 42 y 43), los resultados evidencian la capacidad de solubilización por las cepas de *Rhizobium* hasta 100 ppm de P en el suelo Entisol de Costa y hasta 200 ppm de P aplicado en el suelo Inceptisol de Selva. Se puede atribuir este comportamiento debido a la forma y cantidad existente de P no disponible en el suelo Entisol de Costa (52ppm P) y en el suelo Inceptisol de Selva (10.3 ppm de P), lo que demuestra que las bacterias tienen mayor afinidad por solubilizar P proveniente de la roca fosfatada (Toscano, 2001). El suministro de P asimilable, promueve el aumento de la concentración de este y de N en el tejido vegetal (Freire, 1984).

**CUADRO 42:** Efecto de los niveles de P (Roca fosfatada) aplicado y la actividad de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de N y P acumulado en el grano del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en un suelo Entisol de Costa.

Clave	Niveles de P	mg N /planta	mg P /planta
P0	0 ppm P	122.573 b	8.8270 ab
P100	100 ppm P	132.280 a	9.1700 a
P200	200 ppm P	132.682 a	8.2230 b

**CUADRO 43:** Efecto de los niveles de P (Roca fosfatada) aplicado y la actividad de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de N y P acumulado en el grano del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en un suelo Inceptisol de Selva.

Clave	Niveles de P	mg N /planta	mg P /planta
P0	0 ppm P	89.405 b	4.6730 b
P100	100 ppm P	88.948 b	4.0480 b
P200	200 ppm P	114.841 a	5.7840 a

#### 4.7.3 A diferentes tipos de suelo

Los Cuadros **56** y **57** del anexo, presenta significación estadística en el contenido de N y P a nivel de grano. Se demuestra la influencia edáfica del suelo en el comportamiento de las cepas de *Rhizobium* como fijadoras de N y solubilizadoras de P. En la prueba de medias (**Cuadro 44**) al observar los promedios de los tratamientos y comparar ambos suelos, el suelo Entisol de Costa (SC) presenta mayor acumulación de N y P con 24.3% de N y 44.8% P respectivamente. Esto puede atribuirse que las propiedades físico químicas del suelo Entisol de Costa, es acorde con los requerimientos del cultivo, teniendo como resultado mayor rendimiento de grano y por consiguiente mayor acumulación de N y P en el grano, coincidente con lo referido por Robleto (1988).

**CUADRO 44:** Efecto del tipo de suelo y la actividad de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de N y P acumulado en el grano del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes de P (Roca fosfatada) aplicado.

<b>Clave</b>	<b>Tipo de suelo</b>	<b>mg N/planta</b>	<b>mg P/planta</b>
SC	Suelo Costa (Entisol)	129.178 a	8.7440 a
SS	Suelo Selva (Inceptisol)	97.731 b	4.8350 b

## V. CONCLUSIONES

- ✓ Las cepas de *Rhizobium* aisladas y seleccionadas del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), presentan capacidad solubilizadora de P, con comportamiento diversos a diferentes niveles de roca fosfatada aplicada y según condición suelo.
- ✓ Las cepas de *Rhizobium*, aisladas y seleccionadas en el presente estudio, influyeron positivamente en el crecimiento, en la acumulación de materia seca, en la formación y producción de grano/planta (gr/planta), rendimiento (kg/ha) y N y P extraído (mg/planta).
- ✓ En los diferentes parámetros evaluados en la floración y cosecha, se obtiene mejores resultados con las mezcla de cepas C3= (C1-1R2C1 + C3-1R2C1-2) y C4= (C5-1R1C2-2 + C6-1R2C2), proyectándose como biofertilizantes alternativos.
- ✓ La mezcla combinada de cepas de *Rhizobium*, presentan características solubilizadoras de P y fijadores de N, incrementando el contenido de materia seca y rendimiento de grano hasta un 21,1% en el suelo Entisol de Costa y 49.5% en el suelo Inceptisol de Selva.
- ✓ La concentración de N y P en el frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en la materia seca y en el rendimiento de grano, constituye un criterio de evaluación para determinar la efectividad de las cepas de *Rhizobium* como fijadora de N y solubilizadora de P.
- ✓ Las condiciones edáficas del suelo Entisol de Costa, favorecieron la respuesta del cultivo a la actividad de las cepas *Rhizobium*, lográndose incrementos de la materia seca y rendimiento de grano del Frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)
- ✓ Las condiciones edáficas del suelo Inceptisol de Selva, permitieron mayor actividad de las bacterias *Rhizobium* como solubilizadoras de P, al incrementar la disponibilidad de P asimilable, proveniente de la roca fosfatada, reflejado en el incremento de materia seca, rendimiento de grano y P extraído (mg/planta).

## VI. RECOMENDACIONES

- Se sugiere realizar trabajos en suelos ácidos con cepas de *Rhizobium* aisladas de leguminosas alimenticias adaptadas a la zona.
- En próximos experimentos, se sugiere optar por la evaluación de mezclas de cepas de *Rhizobium* con características de fijación de N y solubilización de P, por ser más competitivos y eficientes frente a las cepas nativas del suelo.
- Validar la propuesta de uso de inoculantes mezcla para cultivos leguminosos alimenticios en diferentes zonas del país, con características de fijación de N y solubilización de P.

## VII. BIBLIOGRAFIA.

- Alagawadi, AR; Gaur, AC. 1988.** Associative effect of *Rhizobium* and phosphate solubilizing bacteria on the yield and nutrient uptake of chickpea. Plant and Soil 105:241-246.
- Arai, Y and Sparks, DL. 2007.** Phosphate reaction dynamics in soils and soil components: a multiscale approach. Adv. Agron., 94: 135-179.
- Arca, M. 1981.** El suelo y la planta. Biblioteca agropecuaria del Perú. 4:28, 2
- Arzuaga, S. 2005.** Fósforo total, fósforo orgánico y fosfatasa ácida en entisoles, alfisoles y vertisoles de corrientes con diferentes usos agrícolas. Comunicaciones científicas y tecnológicas. Disponible en <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2005>.
- Banerjee, S; Palit, R; Sengupta, C; Standing, D. 2010.** Stress induced phosphate solubilization by *Arthrobacter sp.* and *Bacillus sp.* Isolated from tomato rhizosphere. Australian Journal of crop science 4(6):378-383
- Bauer, T. 1998.** Microorganismos fijadores de nitrógeno: Familia rhizobiaceae. Universidad Erlangen-Nuremberg. Alemania.
- Bolan, NS & Hedley, MJ. 2003.** Role of carbon, nitrogen and sulfur cycles in soil acidification. In: Handbook of soil acidity (ed. Z. Rengel), pp. 29–52. Marcel Dekker, New York
- Brady, NC; Weil, RR. 1996.** The nature and properties of soils: Soil classification. 11 ed. Prentice-Hall. New Jersey, USA. p. 72-74 y 445-472.
- Bushby, H. 1982.** Ecology. In: Broughton, W. (ed.) Nitrogen fixation. Clarendon Press, Oxford. V.2. pp 105-134
- Busman, 2002.** The nature of phosphorus in soils. Universidad de Minnesota. En la web: <http://www.extension.umn.edu/agriculture/nutrient-management/phosphorus/the-nature-ofphosphorus/index.html>. Consulta: 15 de agosto de 2014.
- Calderón-Vásquez, C; A la Torre, CF; Simpson WJ and Herrera EL. 2009.** Maize under phosphate limitation. In: J.L. Bennetzen and S.C. Hake (eds.). Handbook of Maize: Its Biology. 381-404 pp.
- Calzada, BJ. 1981.** Métodos estadísticos para la investigación. Universidad Nacional Agraria la Molina. Cuarta edición, Lima-Perú.

- Castañeda, V. 2000.** El frijol o frejol. Monografía. UNPRG. Lambayeque.
- Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1987.** Simbiosis leguminosa rizobio. Manual de métodos de evaluación, selección y manejo agronómico. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Perú.
- Chen, Y; Rekha, P; Arun, A; Shen, F; Lai, W; Young, C. 2006.** Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology* 34:33–41.
- Condron, LM. 2004.** Phosphorus – surplus and deficiency. In: P. Schjønning, S. Elmholt and B.T. Christensen (editors). *Managing Soil Quality: Challenges in Modern Agriculture*. CAB International. 69-84 pp
- Cordell, D; Drangert, J and White, S. 2009.** The Story of Phosphorus: Global food security and food for thought. *Global Environmental Change*, 19, 292-305
- Coyne, M. 2000.** Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio, editorial paraninfo. Madrid –España. 416 p.
- Cramer, M. 2010.** Phosphate as a limiting resource: introduction. *Plant and Soil* 334:1-10.
- Domínguez, VA. 1984.** Tratado de fertilización. Edit. Mundi prensa, Madrid, España. 586p
- Fabrizzi, KP; Morón, A & García, FO. 2003.** Soil and N organic fractions in degraded & non-degraded Mollisols in Argentina. *Soil Science. Soc. Am. J.* 67:1831-1841
- Faquin, V. 2005.** Nutrição Mineral de Plantas. Especialização (“Lato sensu”) à Distância em Solos e Meio Ambiente. Universidade Federal de Lavras, Lavras/MG, Brasil. 186p.
- Fassbender, HW and Boernemiza, E. 1987.** Química de Suelos, con énfasis en suelos de América Latina. IICA. 5ta. Reimpresión. San José. 420 pag.
- Fatecha, DA. 2004.** Clasificación de la fertilidad, acidez activa (pH) y necesidad de cal agrícola de los suelos de la Región Oriental del Paraguay. Tesis (Ing.Agr.). San Lorenzo, PY: DeSOT, CIA, FCA, UNA. 88 p.
- Fernández, L; Zalba, P; Gomez, M. 2005.** Bacterias solubilizadoras de fosfato inorgánico aisladas de suelos de la region sojera. *Cienc. Suelo* 23(1):31-37
- Fischer, H. 1994.** Genetic regulation of nitrogen fixation in bacteria. *Microbiological.* 58: 352-354.

- Freire, J. 1984.** Important limiting in soil for the *Rhizobium*-legume symbiosis. In: Alexander, M. (ed.). Biological nitrogen fixation, ecology, technology and physiology. Plenum Press, New York. Pp 51-74
- Flor, C y Thung, M. 1994.** Desórdenes nutricionales. In: Pastor, C. M. y Schwartz, H. F. 1994 eds. Problemas de producción del frijol en los trópicos. 2da. Edición. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. 734 p.
- Fuhrmann, J; Hartel, P; Zuberer, D. 1995.** Principles and applications on soil microbiology. Second Edition. Prentice Hall. New Jersey.640p.
- Furtini, A; Neto, AE. 2001.** Fertilidade do solo. Lavras UFLA/FAEP, 252p.
- Gardner, IC; Clelland, DM; Scott, A. 1984.** Mycorrhizal improvement in non leguminous nitrogen fixing associations with particular reference to *Hippophae rhamnoides* L. Plant and Soil 78:189-199.
- Gibson, KE; Kobayashi, H; Walker, GC. 2008.** Molecular determinants of a symbiotic chronic infection. Annu. Rev. Gent. 42: 413 – 441.
- Gibbson, A y Jordan, D. 1983.** Ecophysiology of nitrogen systems. In: Pirsonand Zimmermann (ed.) Encyclopedia of plant physiology. Springerverlag. Berlin, Germany. pp 32-53.
- Gilbert, N. 2009.** The disappearing nutrient. Nature, 461, 716-718
- Gojon, A; Nacry, P and Davidian, JC. 2009.** Root uptake regulation: a central process for NPS homeostasis in plants. Current Opinion in Plant Sciences, 12: 328-338
- Goldstein, AH. 1986.** Bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspective and future prospects. Am J Altern Agri 1:51–70
- Gros, A. 1996.** Guía práctica de la fertilización. Editorial Limusa. ESPAÑA
- Granda,..... 2014.** Evaluación de cepas nativas de *Rhizobium* sobre parámetros fenotípicos en frejol común (*Phaseolus vulgaris* L.) Centro de Biotecnología 3(1)2014-pp 25-37.
- Gutiérrez, A & Martínez, E. 2001.** Natural endophytic association between *Rhizobium* etliand maize (*Zea mays*L.). Journal of Biotechnology. 91: 117-126
- Gyaneshwar, P; Parekh, LJ; Archana, G; Poole, PS; Collins, MD; Hutson, RA; Naresh, G. 2002.** Involvement of a phosphate starvation inducible glucose dehydrogenase in soil phosphate solubilization by *Enterobacter absuriae*. FEMS Microbiology Letters 171:223-229



- Gutfert, M. 1993.** Regulation and function of rhizobial nodulation genes. *Microbiology*. 104: 39-64.
- Halliday, J. 1984.** Principles of *Rhizobium* strain selection. In m. Alexander(ed). *Biological Nitrogen Fixation* Plenum Press. New York. Pag. 155-171.
- Hammond, LL and Day, DP. 1992.** Phosphate rock standardization and product quality, in: A.T Bachik and A. Baddin, eds. *Proceeding of a Workshop on phosphate source for acid soil in the humid tropics of Asia*. pp 73-89. Kuala Lumpur, Malaysian Society of Soil Science.
- Haygart, PM; Jarvis, SC. 1999.** Transfer of phosphorus from agricultural soils. *Advances in Agronomy*. v. 66. p. 195 –219.
- Hinsinger, P. 2001.** Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by rootinduced chemical changes: a review. *Plant and Soil* 237: 173–195.
- Khan, A; Zaidi, PA; Wani, M. 2009.** Oves Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils *Environ. Chem. Lett.*, pp. 1–19
- Kirkby, E; Johnston, A. 2008.** Soil and fertilizer phosphorus in relation to crop nutrition. In Hammond, JP; White, PJ. Eds. *The ecophysiology of plant–phosphorus interactions*. Dordrecht, Holanda, Springer. p. 177–223.
- Kögel-Knabner, I. 2006.** Chemical structure of organic N and organic P in soil. In: P. Nannipieri and K. Smalla (Eds.). *Nucleic Acids and Proteins in Soil*. Springer Verlag, Berlin. pp. 23-48.
- Laguerre, G, Louvrier, P; Allard, MR; Amarger, N. 2003.** Compatibility of rhizobial genotypes within natural populations of *Rhizobium leguminosarum biovar viciae* for nodulation of host legumes. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(4): 2276–2283.
- Lambers, H; Shane, MW; Cramer, MD; Pearse, SJ and Veneklaas, EJ. 2006.** Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: matching morphological and physiological traits. *Annals Bot.*, 98: 693-713
- Lewis, B; Schrire, B; Mackinder, B; Lock, M. 2005.** Legumes of the world. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 77: 75-77
- Long, S. 1989.** *Rhizobium*-legume nodulation: life togetherin the underground. *Cell*. Alemania. 56: 203-214. <http://:216.25.8.23/clinica/rhizobium.html/> general.

- Loredo,..... 2004.** Plant Growth-Promoting Bacteria in association with Gramineous Species: A review CIRNE-Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. San Luis Potosí, México 12:89-102.
- Lum, MR; Hirsch, AM. 2003.** Root and their symbiotic microbes: strategies to obtain nitrogen and phosphorus in a nutrient-limiting environment. J. Plant Grow. Regul. 21: 368-382
- Martínez-Nieto, P; García, D. 2010.** Bacterias diazotróficas y solubilizadoras de fósforo aisladas de las especies forestales altoandinas colombianas *Weinmannia tomentosa* y *Escallonia myrtilloides* Revisya Intropica ISSN 1794-161X V5-63:76.
- Maathuis, FJ. 2009.** Physiological functions of mineral macronutrients. Current Opinion in Plant Sciences, 12: 250-258.
- Matos, G. 2002.** Comportamiento de cepas nativas de rizobios aisladas de la Costa del Perú en dos cultivares de Pallar (*Phaseolus lunatus L.*). Ecología Aplicada 1(1) pp 19-24.
- Mcdowell, RW; Biggs, BJ; Sharpley, AN; Nguyen, L. 2004.** Connecting phosphorus loss from agricultural landscapes to surface water quality. Chemistry and Ecology. v. 20. p. 1-40.
- Mello, AF; Moacry, OC; Arzolla, S. 1988.** Fertilidad de solo. Brasilia (BR). 400p.
- Meuer, EJ; Rhenheimer, D & Bissani, CA. 2006.** Fenômenos de sorção em solos. In: Meuer, EJ, ed. Fundamentos de química do solo. 3ra. Ed. Porto Alegre, Evangraf, p.117-162.
- Michelsen, A; Rosendahl, S. 1990.** The effect of VA mycorrhizal fungi, phosphorus and drought stress on the growth of *Acacia nilotica* and *Leucaena leucocephala* seedlings. Plant and Soil 124:7-13.
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. 2000.** Fertilizer recommendations for agricultural and horticultural crops. Londres.
- Morales, C. 1983.** Problemática de la producción de frijol. INIPA- sector agrario Lima. Manual técnico en curso de arroz y leguminosas de grano. N° 15. 208 p.
- Msolla, MM; Semoka, JM; Szilas, C; Borggaard, OK. 2007.** Crop (maize) response to direct application of local phosphate rock on selected acidic soils of Tanzania. Commun Soil Sci Plant Anal 38:93–106

- Mullen, MD. 2005.** Phosphorus in soils. Biological interactions. In: Hatfield, J. L.; Scow, K. M.; Powlson, D. S.; Singer, M. J.; Rosenzweig, C. and Sparks, D. L. (Editors). Encyclopedia of soils in the environment. Vol. 3, Academic Press. 210- 216 pp.
- Narsian, V and Patel, H. 2000.** *Aspergillus aculeatus* as a rock phosphate solubilizer. Soil Biology and Biochemistry 32: 559-565
- Oberson, A and Joner, E. 2005.** Microbial turnover of phosphorus in soil. In: B. L. Turner, E. Frossard and D. S. Baldwin (Editors). Organic phosphorus in the environment. CAB International. 133-160 pp.
- Orive, R y Temprano, F. 1983.** Simbiosis *rhizobium*-leguminosa. En: J. Cubero y M. Moreno (eds). Leguminosas de grano. Edit. Mundi-prensa. España. 69-89pp.
- Osorio, NW and Habte, M. 2009.** Strategies for utilizing arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing microorganisms for enhanced phosphate uptake and growth of plants in the soils of the tropics. En: Microbial Strategies for Crop Improvement. 325-351.
- Pahuara, D y Zúñiga, D. 2002.** Efecto del fósforo sobre la población microbiana en suelos con pasturas en la zona altoandina de Junín. Ecología aplicada 1(1) 57-64.
- Patiño, C. 2010.** Solubilización de fosfatos por poblaciones bacterianas aisladas de un suelo del Valle del Cauca. Estudio de biodiversidad y eficiencia (tesis doctoral en Ciencias Agropecuarias-Manejo de Suelos y Aguas). Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia sede Palmira.
- Patel, DK; Archana, G and Kumar, N. 2008.** Variation in the nature of organic acid secretion and mineral phosphate solubilization by *Citrobacter sp.* DHRSS in the presence of different sugars. Curr. Micro., 56: 168–174.
- Quintero, E. 2000.** Monografía. Manejo agrotécnico del frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) en Cuba. UCLV. Cuba.
- Raij, BV. 1991.** Fertilidade do solo e adubação. Piracicaba: Agronômica Ceres, Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fosfato. 343p.
- Ramírez, CA. 2005.** Aislamiento y evaluación de rizobacterias con potencial biocontrolador y promotor de crecimiento en plantas de banano. Tesis (Maestría en Biotecnología) Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia (Medellín). 169p

- Robleto, EA. 1988.** Efecto de la fertilización con calcio, fósforo y molibdeno en la fijación de nitrógeno y rendimiento del frijol común. Tesis Ing. Agr, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras, 52 p.
- Rashid, M; Khalil, S; Ayub, N; Alam, S y Latif, F. 2004.** Organic Acids Production and Phosphate Solubilization by Phosphate Solubilizing Microorganisms (PSM) under in vitro Conditions. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 7(2) 187-196.
- Reddy, DD; Rao, AS & Rupa, T. 2000.** Effects of continuous use of cattle manure and fertilizer phosphorus on crop yields and soil organic phosphorus in a Vertisol. *Bioresource Technol.* 75(2): 113-118.
- Rosas, JC. 2003.** El cultivo del Frijol común en America Tropical, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras, 2da edición 62p.
- Rosas, S; Rovera, M; Correa, J. 2006.** Phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* can influence the rhizobia-legume symbiosis. *Soil. Biol. Biochem.* 38: 3502–3505.
- Rudresh, DL; Shivaprakash, MK; Prasad, RD. 2005.** Effect of combined application of *Rhizobium*, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma spp.* on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium L.*). *Applied Soil Ecology* 28:139-146.
- SAS, 2004.** SAS User's Guide (Release 9.1). SAS Institute Inc. Cary, NC, EEUU.
- Schachtman, D; Robert, R; Ayling, S. 1998.** Phosphorus uptake by plants: From Soil to cell. *Plant Physiology* 116:447-453 Departments of botany; and soil Science. University of Adelaide-Australia.
- Silvera, C; Loli, O; Zúñiga, 2004.** “Capacidad solubilizadora del fósforo por cepas de *Rhizobium*, aisladas de los nódulos del fríjol Caraota (*Phaseolus vulgaris L.*)”. *Anales científicos UNALM.*
- Sims, J; Pierzynski, G. 2005.** Chemistry of phosphorus in soil. In tabatabai, am; Sparks, dl. Eds. *Chemical processes in soil, sssa book series 8.* Sssa, Madison, USA. p. 151–192.
- Sánchez, A. 2007.** Phosphorus. In: Barker, A. V. and Pilbean, D. J. (Editors). *Manual of plant nutrition.* 51-90 pp.
- Santillana, N; Arellano, C; Zúñiga D. 2005.** Capacidad del *Rhizobium* de promover el crecimiento en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum Miller*) *Ecología Aplicada*, 4(1, 2).48:51

- Scheffer, FP; Schachtschabel, 1992.** Lehrbuch der Bodenkunde. Ferdinand Enke Verlag. Stuttgart, Alemania. 491 pp
- Schneider, KD; Straaten, P; Mira de Orduna, R; Glasauer, S; Trevors, J; Fallow, D; Smith, S. 2010.** Comparing phosphorus mobilization strategies using *Aspergillus niger* for the mineral dissolution of three phosphate rocks. *Journal of Applied Microbiology* 108: 366–374.
- Segura, M; Castillo, A; Alvarado, A. 2006.** Efecto de la fertilización con fósforo sobre la nodulación de *frankia* en plantaciones de *Alnus acuminata* en Andisoles de Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 30(1): 43-52. ISSN: 0377-9424
- Sessitsch, J; Howieson, X; Perret, H; Antoun, H & Martinez, RE. 2002.** Advances in Rhizobium Research. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 21, Issue 4, 1: 323-378
- Silvester, R. 1983.** Fijación biológica de nitrógeno por leguminosas: aspectos agronómicos relacionados con su nodulación con *Rhizobium*. *Suelos Ecuatoriales* 13(2):28- 35.
- Suñer, L; Galantini, JA; Rosell, R. 2005.** Informaciones Agronómicas. Comisión de Investigaciones Científicas. (En línea). Consultado 21 mayo 2012. Disponible en [http://www.IPNI.net/ppiweb/iaarg.nsf/\\$webindex/BB473F7833FFC2BB03256FCB00731978/\\$file/Su%C3%B1er-Cambios+del+Psuelo.pdf](http://www.IPNI.net/ppiweb/iaarg.nsf/$webindex/BB473F7833FFC2BB03256FCB00731978/$file/Su%C3%B1er-Cambios+del+Psuelo.pdf)
- Tran, HT; Hurley, BA and Plaxton, WC. 2010.** Feeding hungry plants: The role of purple acid phosphatases in phosphate nutrition. *Plant Science*, 179(1-2): 14-27
- Tiessen, H. 2008.** Phosphorus in the global environment. In: White, P. J. and Hammond, J. P. (Editors). *The ecophysiology of plant-phosphorus interactions*. Springer. 1-7 pp
- Tisdale, SL y Nelson, WL. 1991.** Fertilidad de los suelos y fertilizantes. Editorial Montaner y Simón S.A. Barcelona, España 760 p.
- Torres, R. 2000.** Inoculación combinada de *Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli* y *Azotobacter chroococcum* en el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*). Evento de Ciencia y Técnica, UCLV.
- Toscano, V. 2001.** Diversidad genotípica de la expresión de la capacidad para solubilizar fosfatos por cepas de *rhizobium*, instituto de suelos-Minag, la Habana, Cuba. 75p.
- Vaccari, DA. 2009.** Phosphorus Famine: The Threat to Our Food Supply. *Scientific American*, June, 54-59
- Vance, CP; Uhde–Stone, C and Allan, DL. 2003.** Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants securing a nonrenewable resource. *New Phytol.* 157: 423–447.

- Vassilev, N and Vassileva, M. 2003.** Biotechnological solubilization of rock phosphate on media containing agro-industrial waste. *Appl Microbiol Biotechnol* 61: 435–440
- Verneti, FJ. 1983.** Soya, genética y mejoramiento. *Fundacao Cargill, Vl.2 Brasil* Pag. 465-990.
- Villegas, J y Fortin, JA. 2001.** Phosphorus solubilization and pH changes as a result of the interactions between soil bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on a medium containing  $\text{NO}_3^-$  as nitrogen source. *Canadian Journal of Botany* 80(5):571-576.
- Wey, L; Chen, C and Xu, Z. 2009.** Citric acid enhances the mobilization of organic phosphorus in subtropical and tropical forest soils. *Biology and Fertility of Soils*; 46(7): 765-769
- Yanni, Y; Rizk, R; Fattah, FK & Squartine, A. 2001.** The beneficial plant growth-promoting association of *Rhizobium leguminosarum bv trifolii* with rice root. *Australian Journal of Plant Physiology*. 28: 845-870.
- Yusdar, H; Anuar, AR; Hanafi, MM; and Azifah, H. 2007.** Analysis of phosphate rock dissolution determining factors using principal component analysis in some acid Indonesian soils. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* 38:273–282

## VIII. ANEXO

### Abreviaturas:

FV	:	Fuentes de variabilidad
GL	:	Grados de libertad
SC	:	Suma de Cuadrados
CM	:	Cuadrados medios
Fcal	:	Valor calculado del estadístico F
P	:	Probabilidad de significancia
CV	:	Coefficiente de variabilidad
PSPA	:	Peso Seco parte aérea

**CUADRO 45:** Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de *Rhizobium*, en la acumulación de materia seca a la floración (PSPA), del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fcal.	P(0.05)
<b>BLOQUES</b>	<b>2</b>	1.7078039	0.8539020	3.35	0.0420*
<b>CEPAS ( C )</b>	4	5.0977786	1.2744447	5.00	0.0016*
<b>SUELO ( S )</b>	1	227.4943393	227.4943393	892.49	<.0001**
<b>FOSFORO ( F )</b>	2	0.2348897	0.1174448	0.46	0.6331NS
<b>C*S</b>	4	0.5367346	0.1341837	0.53	0.7167NS
<b>C*F</b>	8	0.2961530	0.0370191	0.15	0.9966NS
<b>S*F</b>	2	1.2613592	0.6306796	2.47	0.0931NS
<b>C*S*F</b>	8	0.4291115	0.0536389	0.21	0.9879NS
<b>ERROR EXP</b>	<b>58</b>	14.7841472	0.2548991		
<b>ERROR TOTAL</b>	<b>89</b>	251.8423171			
<b>CV</b>		12.63%			

**CUADRO 46:** Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de *Rhizobium*, en el peso seco de vainas a la floración (PSV), del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fcal.	P(0.05)
<b>BLOQUES</b>	<b>2</b>	0.01957400	0.00978700	0.97	0.3853NS
<b>CEPAS ( C )</b>	4	2.65041573	0.66260393	65.65	<.0001**
<b>SUELO ( S )</b>	1	23.35537874	23.35537874	2313.95	<.0001**
<b>FOSFORO ( F )</b>	2	0.41961260	0.20980630	20.79	<.0001**
<b>C*S</b>	4	2.05427254	0.51356814	50.88	<.0001**
<b>C*F</b>	8	0.26336583	0.03292073	3.26	0.0039*
<b>S*F</b>	2	0.25758364	0.12879182	12.76	<.0001**
<b>C*S*F</b>	8	0.19295835	0.02411979	2.39	0.0267*
<b>ERROR EXP</b>	<b>58</b>	0.58541120	0.01009330		
<b>ERROR TOTAL</b>	<b>89</b>	29.79857264			
<b>CV</b>		18.03%			

**CUADRO 47:** Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de *Rhizobium*, en el peso seco total parte aérea (PTPA), del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fcal.	P(0.05)
<b>BLOQUES</b>	<b>2</b>	1.3616442	0.6808221	2.80	0.0688NS
<b>CEPAS ( C )</b>	4	13.0009438	3.2502360	13.38	<.0001**
<b>SUELO ( S )</b>	1	396.6367037	396.6367037	1633.16	<.0001**
<b>FOSFORO ( F )</b>	2	1.1591843	0.5795922	2.39	0.1009NS
<b>C*S</b>	4	2.9417566	0.7354392	3.03	0.0246*
<b>C*F</b>	8	0.6723752	0.0840469	0.35	0.9439NS
<b>S*F</b>	2	0.4647880	0.2323940	0.96	0.3901NS
<b>C*S*F</b>	8	0.2693806	0.0336726	0.14	0.9971NS
<b>ERROR EXP</b>	<b>58</b>	14.0861693	0.2428650		
<b>ERROR TOTAL</b>	<b>89</b>	430.5929457			
<b>CV</b>		10.82%			



**CUADRO 48:** Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de *Rhizobium*, en la nodulación a la floración, del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris L.*) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fcal.	P(0.05)
<b>BLOQUES</b>	<b>2</b>	1.2666667	0.6333333	0.39	0.6812NS
<b>CEPAS ( C )</b>	4	659.4611111	164.8652778	100.58	<.0001**
<b>SUELO ( S )</b>	1	0.2250000	0.2250000	0.14	0.7124NS
<b>FOSFORO ( F )</b>	2	659.4611111	164.8652778	100.58	<.0001**
<b>C*S</b>	4	71.5388889	17.8847222	10.91	<.0001**
<b>C*F</b>	8	46.9555556	5.8694444	3.58	0.0019**
<b>S*F</b>	2	15.2666667	7.6333333	4.66	0.0133*
<b>C*S*F</b>	8	109.1777778	13.6472222	8.33	<.0001**
<b>ERROR EXP</b>	<b>58</b>	95.0666667	1.639080		
<b>ERROR TOTAL</b>	<b>89</b>	1036.225000			
<b>CV</b>		20.70511			

**CUADRO 49:** Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de *Rhizobium*, en la acumulación de N en la materia seca a la floración (mg/planta), del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris L.*) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fcal.	P(0.05)
<b>BLOQUES</b>	<b>2</b>	1836.49426	918.24713	3.24	0.0462 *
<b>CEPAS ( C )</b>	4	18866.21868	4716.55467	16.66	<.0001**
<b>SUELO ( S )</b>	1	84299.10368	84299.10368	297.75	<.0001**
<b>FOSFORO ( F )</b>	2	1053.08874	526.54437	1.86	0.1649NS
<b>C*S</b>	4	1391.86586	347.96646	1.23	0.3085NS
<b>C*F</b>	8	316.47533	39.55942	0.14	0.9970NS
<b>S*F</b>	2	419.68059	209.84029	0.74	0.4810NS
<b>C*S*F</b>	8	419.00452	52.37556	0.18	0.9921NS
<b>ERROR EXP</b>	<b>58</b>	16420.7400	283.1162		
<b>ERROR TOTAL</b>	<b>89</b>	125022.6717			
<b>CV</b>		13.36%			

**CUADRO 50:** Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de *Rhizobium*, en la acumulación de P en la materia seca a la floración (mg/planta), del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fcal.	P(0.05)
<b>BLOQUES</b>	<b>2</b>	7.180704	3.590352	2.97	0.0590 NS
<b>CEPAS ( C )</b>	4	158.639781	39.659945	32.83	<.0001**
<b>SUELO ( S )</b>	1	1806.362880	1806.362880	1495.41	<.0001**
<b>FOSFORO (F)</b>	2	24.181531	12.090766	10.01	0.0002**
<b>C*S</b>	4	37.158073	9.289518	7.69	<.0001**
<b>C*F</b>	8	2.380525	0.297566	0.25	0.9799NS
<b>S*F</b>	2	2.238122	1.119061	0.93	0.4017NS
<b>C*S*F</b>	8	5.338864	0.667358	0.55	0.8119NS
<b>ERROR EXP</b>	<b>58</b>	70.060381	1.207938		
<b>ERROR TOTAL</b>	<b>89</b>	2113.540861			
<b>CV</b>		11.21%			

**CUADRO 51:** Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de *Rhizobium*, en la producción de vainas/planta, del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fcal.	P(0.05)
<b>BLOQUES</b>	<b>1</b>	0.150000	0.150000	0.33	0.5689NS
<b>CEPAS ( C )</b>	4	4.19166667	1.04791667	2.32	0.0806NS
<b>SUELO ( S )</b>	1	13.0666667	13.0666667	28.93	<.0001**
<b>FOSFORO (F)</b>	2	1.233333	0.6166667	1.37	0.2713NS
<b>C*S</b>	4	7.8916667	1.97291667	4.37	0.0069*
<b>C*F</b>	8	11.058333	1.38229167	3.06	0.0127*
<b>S*F</b>	2	3.033333	1.51666667	3.36	0.0488*
<b>C*S*F</b>	8	10.008333	1.25104167	2.77	0.0209*
<b>ERROR EXP</b>	<b>29</b>	13.100000	0.45172414		
<b>ERROR TOTAL</b>	<b>59</b>	63.733333			
<b>CV</b>		14.1%			

**CUADRO 52:** Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de *Rhizobium*, en la producción de granos/planta, del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fcal.	P(0.05)
<b>BLOQUES</b>	<b>1</b>	5.104167	5.104167	1.00	0.3260NS
<b>CEPAS ( C )</b>	4	166.683333	41.670833	8.15	0.0002**
<b>SUELO ( S )</b>	1	2413.004167	2413.004167	471.95	<.0001**
<b>FOSFORO ( F )</b>	2	69.925000	34.962500	6.84	0.0037*
<b>C*S</b>	4	22.766667	5.691667	1.11	0.3693NS
<b>C*F</b>	8	82.116667	10.264583	2.01	0.0812NS
<b>S*F</b>	2	13.758333	6.879167	1.35	0.2762NS
<b>C*S*F</b>	8	52.783333	6.597917	1.29	0.2869NS
<b>ERROR EXP</b>	<b>29</b>	148.270833	5.112787		
<b>ERROR TOTAL</b>	<b>59</b>	2974.412500			
<b>CV</b>		13.85%			

**CUADRO 53:** Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de *Rhizobium*, en el peso de granos/planta, del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fcal.	P(0.05)
<b>BLOQUES</b>	<b>1</b>	0.74816667	0.74816667	4.66	0.0392*
<b>CEPAS ( C )</b>	4	6.98732333	1.74683083	10.89	<.0001**
<b>SUELO ( S )</b>	1	65.06250667	65.06250667	405.51	<.0001**
<b>FOSFORO ( F )</b>	2	2.64892333	1.32446167	8.25	0.0015**
<b>C*S</b>	4	1.26717667	0.31679417	1.97	0.1249NS
<b>C*F</b>	8	5.81602667	0.72700333	4.53	0.0012*
<b>S*F</b>	2	0.80964333	0.40482167	2.52	0.0977NS
<b>C*S*F</b>	8	4.64677333	0.58084667	3.62	0.0049*
<b>ERROR EXP</b>	<b>29</b>	4.65293333	0.16044598		
<b>ERROR TOTAL</b>	<b>59</b>	92.63947333			
<b>CV</b>		12.53%			

**CUADRO 54:** Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de *Rhizobium*, en el peso 100 semillas, del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fcal.	P(0.05)
<b>BLOQUES</b>	<b>1</b>	8.7020417	8.7020417	2.30	0.1398 NS
<b>CEPAS ( C )</b>	4	15.1378233	3.7844558	1.00	0.4223NS
<b>SUELO ( S )</b>	1	80.9449350	80.9449350	21.44	<.0001**
<b>FOSFORO ( F )</b>	2	9.2309633	4.6154817	1.22	0.3093**
<b>C*S</b>	4	45.8066233	11.4516558	3.03	0.0332*
<b>C*F</b>	8	88.8089867	11.1011233	2.94	0.0156*
<b>S*F</b>	2	1.2236700	0.6118350	0.16	0.8512NS
<b>C*S*F</b>	8	123.4307467	15.4288433	4.09	0.0023**
<b>ERROR EXP</b>	<b>29</b>	109.4983083	3.7758037		
<b>ERROR TOTAL</b>	<b>59</b>	482.7840983			
<b>CV</b>		9.72%			

**CUADRO 55:** Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de *Rhizobium*, en el rendimiento (kg/ha) del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fcal.	P(0.05)
<b>BLOQUES</b>	<b>1</b>	7462.2493	7462.2493	4.63	0.0398*
<b>CEPAS ( C )</b>	4	69818.6587	17454.6647	10.84	<.0001**
<b>SUELO ( S )</b>	1	650418.8990	650418.8990	403.98	<.0001**
<b>FOSFORO ( F )</b>	2	26557.1643	13278.5822	8.25	0.0015*
<b>C*S</b>	4	12651.6622	3162.9155	1.96	0.1264NS
<b>C*F</b>	8	58141.2608	7267.6576	4.51	0.0012*
<b>S*F</b>	2	8178.6386	4089.3193	2.54	0.0963NS
<b>C*S*F</b>	8	46516.3924	5814.5490	3.61	0.0050*
<b>ERROR EXP</b>	<b>29</b>	46690.2518	1610.0087		
<b>ERROR TOTAL</b>	<b>59</b>	926435.1770			
<b>CV</b>		12.54752			

**CUADRO 56:** Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de N a nivel de grano (mg N/planta), del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fcal.	P(0.05)
<b>BLOQUES</b>	<b>1</b>	979.05362	979.05362	3.78	0.0617NS
<b>CEPAS ( C )</b>	4	11474.64979	2868.66245	11.07	<.0001**
<b>SUELO ( S )</b>	1	14833.70713	14833.70713	57.22	<.0001**
<b>FOSFORO (F)</b>	2	3400.72758	1700.36379	6.56	0.0045*
<b>C*S</b>	4	4640.81882	1160.20471	4.48	0.0061*
<b>C*F</b>	8	8093.63110	1011.70389	3.90	0.0031*
<b>S*F</b>	2	1646.69151	823.34576	3.18	0.0566NS
<b>C*S*F</b>	8	10941.60151	1367.70019	5.28	0.0004*
<b>ERROR EXP</b>	<b>29</b>	7517.95364	259.23978		
<b>ERROR TOTAL</b>	<b>59</b>	63528.83470			
<b>CV</b>		14.19148			

**CUADRO 57:** Análisis de variancia de la efectividad de las cepas de *Rhizobium*, en el contenido de P a nivel de grano (mg P/planta) del frijol Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en dos tipos de suelo y a diferentes niveles de P aplicado, en condiciones de invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fcal.	P(0.05)
<b>BLOQUES</b>	<b>1</b>	5.4060017	5.4060017	6.02	0.0204*
<b>CEPAS ( C )</b>	4	28.2014433	7.0503608	7.85	0.0002**
<b>SUELO ( S )</b>	1	229.2042150	229.2042150	255.28	<.0001**
<b>FOSFORO (F)</b>	2	1.6007700	0.8003850	0.89	0.4210NS
<b>C*S</b>	4	9.4861767	2.3715442	2.64	0.0539NS
<b>C*F</b>	8	27.0573467	3.3821683	3.77	0.0039*
<b>S*F</b>	2	18.4537900	9.2268950	10.28	0.0004**
<b>C*S*F</b>	8	31.4684933	3.9335617	4.38	0.0015*
<b>ERROR EXP</b>	<b>29</b>	26.0376483	0.8978499		
<b>ERROR TOTAL</b>	<b>59</b>	376.9158850			
<b>CV</b>		13.95610			