

UNIVERSIDAD NACIONAL INTERCULTURAL DE LA AMAZONÍA

FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA PROFESIONAL INGENIERÍA AGROFORESTAL ACUÍCOLA



Colecta e inoculación de *Rhizobium sp.* asociados a raíces de *Phaseolus vulgaris* (frejol) en un suelo entisol de la localidad de Nueva Requena – Pucallpa

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROFORESTAL ACUÍCOLA**

Presentado por:

Bach. LIZSANDRA DOYLIT CHÁVEZ TUANAMA

Asesor:

Dr. JUAN LUIS PÉREZ MARÍN

YARINACocha – PERÚ

2022

ANEXO 16. ACTA DE CALIFICACIÓN DE LA SUSTENTACIÓN DE LA TESIS

En la sala destinada para la sustentación de la tesis Plataforma Google Meet, (<https://meet.google.com/rzm-muhn-kgm?authuser=0>), en el distrito de Yarinacocha Provincia de Coronel Portillo Ciudad de Pucallpa, a 19 horas del día 21 de octubre de 2022, se reunió el Jurado de Tesis presidido por **Ing. Mg. Manuel Mario Chuyma Tomaylla**, e integrado por: **Blga. Dra. Teresa Alarcón Castillo** y la **Ing. Mg. Jessy Isabel Vargas Flores**, en calidad de miembros, con la exclusiva finalidad de evaluar la sustentación de tesis titulada: **"Colecta e inoculación de *Rhizobium* sp. asociados a raíces de *Phaseolus vulgaris* (frejol) en un suelo entisol de la localidad de Nueva Requena – Pucallpa"**, cuya responsabilidad corresponde a la Bachiller:

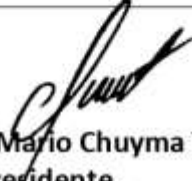
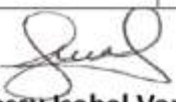
LIZSANDRA DOYLIT CHÁVEZ TUANAMA a fin de optar el Título Profesional de **INGENIERO AGROFORESTAL ACUICOLA**.

Terminada la sustentación, el autor de la tesis respondió a las preguntas formuladas por los miembros del jurado. Cuya evaluación se consolida según la tabla y parámetros cuantitativos que siguen:

Presidente	Ing. Manuel Mario Chuyma Tomaylla	25
Miembro	Blga. Dra. Teresa Alarcón Castillo	24
Miembro	Ing. Mg. Jessy Isabel Vargas Flores	24
Promedio		24

El Jurado después de deliberar y calibrar los aportes de la tesis y la fundamentación del sustentante, compatibilizo el resultado cuantitativo con la tabla cualitativa equivalente, sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo y con las sugerencias pertinentes, declara la sustentación como BUENO, asignándole un calificativo de 24 puntos, según el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Ambientales de la Universidad Nacional Intercultural de la Amazonía.

Siendo las 20:38 horas del mismo día se dio por terminado el acto de sustentación

 Ing. Manuel Mario Chuyma Tomaylla Presidente	 Blga. Dra. Teresa Alarcón Castillo Miembro
 Ing. Mg. Jessy Isabel Vargas Flores Miembro	

firmando los miembros del Jurado en señal de conformidad.

Nombre Asesor: Dr. Juan Pérez Marín



Distribución: Integrantes del Jurado de Tesis, tesista y archivo FICA (Todas con firmas en original).



"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

CONSTANCIA

N°055-2022

ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACION SISTEMA ANTIPLAGIO TURNITIN

La Biblioteca Central, hace constar por la presente, que le informe Final (Tesis) titulado:

**COLECTA E INOCULACIÓN DE RHIZOBIUM SP. ASOCIADOS A RAÍCES
DE PHASEOLUS VULGARIS (FREJOL) EN UN SUELO ENTISOL DE LA
LOCALIDAD DE NUEVA REQUENA – PUCALLPA.**

Cuyo autor es : **CHÁVEZ TUANAMA, LISZANDRA DOYLIT.**

Facultad : **FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AMBIENTALES**

Escuela Profesional : **INGENIERÍA AGROFORESTAL ACUÍCOLA.**

Después de realizado el análisis correspondiente en el Sistema Antiplagio, dicho documento presenta un porcentaje de similitud de 16%.

En tal sentido, de acuerdo a los criterios de porcentaje establecido en el artículo 9 de la **DIRECTIVA DE USO DEL SISTEMA ANTIPLAGIO**, aprobada con **RESOLUCIÓN N°164-2021-UNIA-CO**, el cual indica que no se debe superar el 24%. Se declara, que el trabajo de investigación: **Si está dentro de los límites aceptables de similitud, por lo que SI se aprueba su originalidad.**

En señal de conformidad y verificación se FIRMA Y SELLA la presente constancia.

Fecha: 28/10/2022



UNIVERSIDAD NACIONAL INTERCULTURAL
DE LA AMAZONÍA - UCAYALI

Dr. Jesús Taylor Dávila Francia
Jefe de la Oficina de Biblioteca Central

La primera universidad intercultural del Perú

DEDICATORIA

A Dios, que es nuestra fuente de todo amor, sabiduría, entendimiento, y por su voluntad para darme la oportunidad de continuar en esta vida permitiéndome alcanzar el anhelo deseado de ser un profesional.

A mi querido padre Delfín Gregorio Chávez Solórzano y a los recuerdos de mi recordada madrecita que en vida fue Ruth Tuanama Inuma por demostrarme siempre el cariño y por el apoyo moral que me dieron la fuerza necesaria para cumplir mis anhelos deseados.

AGRADECIMIENTO

Expreso mi sincero agradecimiento a las siguientes instituciones y personas que han contribuido en la realización de la tesis:

A la Universidad Nacional Intercultural de la Amazonia, por haberme acogido durante estos años de estudios universitarios y darme la oportunidad de realizar mi aspiración de ser un profesional.

A la Facultad de Ingeniería y Ciencias Ambientales, por mi formación profesional.

A los docentes de la Carrera Agroforestal Acuícola, por su orientación académica e impartirme sus conocimientos y experiencias.

A los miembros del jurado de tesis, Ing. Mg. Manuel Mario Chuyma Tomaylla, Dra. Teresa Alarcón Castillo, Ing. M. Sc. Jessy Isabel Vargas Flores; por la observaciones, recomendaciones y revisión del presente trabajo.

Al Doctor Juan Luis Pérez Marín, por su valioso apoyo como asesor del presente trabajo de investigación.

A todas aquellas personas que de una u otra manera fueron partícipes en el logro de mi más ansiado anhelo, de un ser profesional.

ÍNDICE

	Pg.
I. INTRODUCCIÓN	12
II. REVISIÓN DE LITERATURA	15
2.1. Antecedentes del problema	15
2.1.1. A nivel local	15
2.1.2. A nivel nacional	16
2.1.3. A nivel internacional	17
2.2. Bases teóricas	18
2.2.1. Las bacterias de género <i>Rhizobium</i>	18
2.2.2. El nitrógeno atmosférico	19
2.2.3. Fijación biológica del nitrógeno	20
2.2.4. Formas de vida de la bacteria	21
2.2.5. Simbiosis leguminosa - rhizobium	22
2.2.6. El frejol y la simbiosis con el rhizobium	23
2.2.7. La nitrogenasa	23
2.2.8. Leghemoglobina	24
2.2.9. El <i>Phaseolus vulgaris</i> (frejol)	24
2.2.9.1. Origen de <i>Phaseolus vulgaris</i> (frejol)	24
2.2.9.2. Clasificación botánica	25
2.2.9.3. Descripción botánica de la planta	25
2.2.9.4. Hábitos de crecimiento	28
III. MÉTODOS	29
3.1. Ubicación y descripción del área de estudio	29
3.1.1. Adquisición de plantas de maní	29
3.1.2. Adquisición de semillas de frejol Ucayalino	29
3.1.3. Del área de siembra	29
3.2. Identificación y descripción del material experimental	30
3.2.1. Nódulos de <i>Rhizobium sp</i>	30
3.2.2. Características de semillas de frejol Ucayalino	30
3.3. Procedimientos	30
3.3.1. Colecta de nódulos de <i>Rhizobium sp</i> .	30
3.3.2. Extracción de nódulos	31
3.3.3. Lavado de raíces	31
3.3.4. Desinfección de raíces con nódulos	31
3.3.5. Trituración de nódulos	31

3.3.6. Siembra del cultivo o cepas de <i>Rhizobium sp.</i>	31
3.3.7. Inoculación y siembra de nódulos o cepas de <i>Rhizobium sp</i> a las semillas de frejol	32
3.3.8. Siembra de frejol en el campo definitivo	32
3.3.9. Instalación de soportes	33
3.3.10. Prevención y control de enfermedades	33
3.3.11. Cosecha	33
3.3.12. Evaluación de las variables del estudio	33
3.3.12.1. Porcentaje de germinación	33
3.3.12.2. Tiempo de germinación	33
3.3.12.3. Cantidad de nódulos/planta	33
3.3.12.4. Cantidad y tamaño de vainas/planta	34
3.3.12.4.1. Cantidad de vainas/planta	34
3.3.12.4.2. Tamaño de vainas/planta	34
3.3.12.5. Peso de vainas/planta	34
3.3.12.6. Rendimiento	34
3.4. Variables	35
3.5. Población y muestra	35
3.6. Tratamientos	36
3.7. Recolección de datos	36
3.7.1. Fuentes de información	36
3.7.2. Unidad experimental y unidad de medición	36
3.7.2.1. Unidad experimental	36
3.7.2.2. Unidad de medición	36
3.7.3. Tipo de muestreo	36
3.7.4. Técnicas para la recolección de datos	36
3.8. Procesamiento de los datos	37
3.8.1. Diseño estadístico	37
3.8.2. Modelo estadístico	37
3.8.3. Análisis estadístico	37
IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
4.1. Evaluar el porcentaje de germinación a través de la colecta e inoculación de <i>Rhizobium sp.</i> asociados a raíces de <i>Phaseolus vulgaris</i> en un suelo entisol de la localidad de Nueva requena – Pucallpa.	39
4.2. Evaluar el tiempo de germinación a través de la colecta e inoculación de <i>Rhizobium sp.</i> asociados a raíces de <i>Phaseolus vulgaris</i> en un suelo entisol de la localidad de Nueva requena – Pucallpa.	41
4.3. Evaluar la cantidad de nódulos a través de la colecta e inoculación de	43

	<i>Rhizobium sp.</i> asociados a raíces de <i>Phaseolus vulgaris</i> en un suelo entisol de la localidad de Nueva requena – Pucallpa.	
4.4.	Evaluar la cantidad y tamaño de vainas/planta a través de la colecta e inoculación de <i>Rhizobium sp.</i> asociados a raíces de <i>Phaseolus vulgaris</i> en un suelo entisol de la localidad de Nueva requena – Pucallpa.	45
4.5.	Evaluar el peso de vainas/planta a través de la colecta e inoculación de <i>Rhizobium sp.</i> asociados a raíces de <i>Phaseolus vulgaris</i> en un suelo entisol de la localidad de Nueva requena – Pucallpa.	49
4.6.	Determinar el rendimiento a través de la colecta e inoculación de <i>Rhizobium sp.</i> asociados a raíces de <i>Phaseolus vulgaris</i> en un suelo entisol de la localidad de Nueva requena – Pucallpa.	51
V.	CONCLUSIONES	54
VI.	RECOMENDACIONES	55
VII.	BIBLIOGRAFÍA	56
VIII.	ANEXOS	60
8.1	Iconografía del desarrollo de la investigación	60
8.1.1.	Colecta del <i>Rhizobium sp</i> de una plantación de maní	60
8.1.2.	Extracción de los nódulos de las raíces de plantas de maní	61
8.1.3.	Nódulos o cepas de <i>Rhizobium sp</i> extraídos de las raíces de frejol	62
8.1.4.	Lavado de los nódulos o cepas	62
8.1.5.	Nódulos o cepas de <i>Rhizobium sp.</i> triturados para el cultivo	63
8.1.6.	Cultivo de las bacterias de <i>Rhizobium sp.</i>	64
8.1.7.	Siembra de las parcelas de frejol inoculadas con <i>Rhizobium sp.</i>	64
8.1.8.	Diferenciación de las parcelas de plantas sin y con <i>Rhizobium sp</i>	67
8.1.9.	Cosecha manual de las parcelas de frejol	67
8.1.10.	Evaluación de la cantidad de nódulos adheridas a las raíces de frejol	69
8.1.11.	Evaluación de la cantidad de vainas de frejol	69
8.1.12.	Evaluación del tamaño de vainas de frejol	70
8.1.13.	Peso de vainas de frejol	71
8.1.14.	Semillas de frejol cosechado sin y con <i>Rhizobium sp.</i>	71

LISTA DE CUADROS

En el texto	Pg.
1. Datos de temperatura y precipitación durante la fase de siembra a cosecha	31
2. Composición del medio de cultivo YMET utilizado	33
3. Operacionalización de variables	36
4. Aleatorización de los tratamientos	37
5. Estadísticas de grupo de porcentaje de germinación (%)	40
6. Prueba de muestras independientes de porcentaje de germinación (%)	41
7. Correlaciones de porcentaje de germinación y rendimiento	41
8. Estadísticas de grupo de tiempo de germinación (días)	42
9. Prueba de muestras independientes de tiempo de germinación (días)	43
10. Correlaciones entre tiempo de germinación y rendimiento	43
11. Estadísticas de grupo de cantidad de nódulos/planta	44
12. Prueba de muestras independientes de cantidad de nódulos/planta	45
13. Estadísticas de grupo de cantidad de vainas/planta	46
14. Prueba de muestras independientes de cantidad de vainas/planta	47
15. Correlaciones entre cantidad de vainas/planta y rendimiento	47
16. Estadísticas de grupo de tamaño de vainas/planta	48
17. Prueba de muestras independientes de tamaño de vaina/planta	49
18. Correlaciones entre tamaño de vainas/planta y rendimiento	49
19. Estadísticas de grupo de peso de vainas/planta	50
20. Prueba de muestras independientes de peso de vainas/planta.	51
21. Correlaciones entre peso vaina/planta y rendimiento	51
22. Estadísticas de grupo de rendimiento	52
23. Prueba de muestras independientes de rendimiento (k/ha).	53

LISTA DE FIGURAS

En el texto	Pg.
1. Nódulos de <i>Phaseolus vulgaris</i> (frejol)	24
2. Planta de frejol	24
3. Promedio de porcentaje de germinación	40
4. Tiempo de germinación (días)	42
5. Promedio de cantidad de nódulos/planta	44
6. Promedio de cantidad de nódulos/planta	46
7. Promedio de tamaño de vaina/planta	48
8. Promedio de peso de vainas/planta	50
9. Rendimiento promedio por tratamiento	53

LISTA DE FIGURAS

En el anexo	Pg.
10. Colecta de <i>Rhizobium sp.</i> de plantas de <i>Arachis hypogea</i>	61
11. Extracción de las plantas de maní	61
12. Extracción de las vainas de maní de la planta	61
13. Extracción de los nódulos de las raíces	62
14. Investigador extrayendo los nódulos de las raíces	62
15. Extracción con bisturí de nódulos de las raíces	62
16. Nódulos extraídos para la trituración	63
17. Colocación de los nódulos en envase para el lavado	63
18. Lavado en agua de los nódulos.	63
19. Lavado de los nódulos con alcohol de 96°	64
20. Lavado de los nódulos con peróxido de hidrógeno	64
21. Extracción del líquido lechoso de los nódulos triturados	64
22. Cultivo terminado con colonias de <i>Rhizobium sp.</i>	65
23. Plantas de frejol a 20 días de la siembra sin <i>Rhizobium sp.</i>	65
24. Plantas de frejol a 20 días de la siembra con <i>Rhizobium sp.</i>	65
25. Investigadora en plena evaluación de las parcelas	66
26. Evaluación de las diferentes parcelas de frejol	66
27. Plantas de frejol inoculadas con <i>Rhizobium sp.</i>	66
28. Plantas de frejol sin inoculación de <i>Rhizobium sp.</i>	67
29. Evaluación de las parcelas sin <i>Rhizobium sp.</i>	67
30. Evaluación de las parcelas con <i>Rhizobium sp.</i>	67
31. Parcelas de frejol sin <i>Rhizobium sp.</i>	68
32. Parcelas de frejol con <i>Rhizobium sp.</i>	68
33. Cosecha de las parcelas sin <i>Rhizobium sp.</i>	68

34. Cosecha de las parcelas con <i>Rhizobium sp.</i>	69
35. Investigadora cosechando vainas de frejol	69
36. Cosecha de vainas de frejol en las parcelas con <i>Rhizobium sp.</i>	69
37. Investigadora en plena evaluación de la cantidad de nódulos en las raíces	70
38. Muestra de los nódulos de <i>Rhizobium sp.</i> en las raíces de frejol	70
39. Evaluación de la cantidad de vainas de frejol de plantas sin <i>Rhizobium sp.</i>	70
40. Evaluación de la cantidad de vainas de plantas con <i>Rhizobium sp.</i>	71
41. Evaluación del tamaño de vainas de plantas de frejol sin <i>Rhizobium sp.</i>	71
42. Evaluación del tamaño de vainas de plantas de frejol con <i>Rhizobium sp.</i>	71
43. Evaluación de peso de vainas de frejol sin <i>Rhizobium sp.</i>	72
44. Evaluación de peso de vainas de frejol con <i>Rhizobium sp.</i>	72
45. Frejol cosechado del experimento producto final	72

Colecta e inoculación de *Rhizobium sp.* asociados a raíces de *Phaseolus vulgaris* (frejol) en un suelo entisol de la localidad de Nueva Requena – Pucallpa

Lizsandra Doylit Chávez Tuanama¹, Juan Luis Pérez Marín ²

RESUMEN

El trabajo abarca la colecta e inoculación de bacterias *Rhizobium sp.* asociadas a raíces de *Phaseolus vulgaris* (frejol) en un suelo entisol en la localidad de Nueva Requena – Pucallpa, utilizando 2 tratamientos: T₁, sin *Rhizobium sp* x 4 repeticiones y T₂, con *Rhizobium sp* x 4 repeticiones, 12 unidades experimentales, mediante el Diseño Completo al Azar (DCA), evaluándose las variables: tiempo de germinación; porcentaje de germinación; Inicio floración; cantidad de nódulos/planta, cantidad de vainas/planta, tamaño de vainas/planta; peso de vainas/planta, rendimiento. Obteniendo mejor resultado en el T₂ (parcelas con *Rhizobium sp*), logrando la semilla de frejol germinar en un tiempo de 4 días, porcentaje de germinación de 95.50 %, cantidad de nódulos de 26.25 /planta, cantidad de vainas/planta de 42.25, tamaño de vainas de 16.50 cm, peso de vaina/planta de 5.83 g, rendimiento de 2,510 k/ha, con relación a las parcelas del T₁, sin inoculación de *Rhizobium sp* que fueron menores. Por consiguiente, para obtener una óptima producción en el cultivo de frejol, las plantas necesitan ser estimuladas con la aplicación de *Rhizobium sp.* porque aportan al suelo el nitrógeno que es muy importante para la planta.

Palabra clave: simbiosis, nitrogenasa, nitrógeno atmosférico, vainas de frejol, testa del frejol.

1. Tesista de la carrera profesional de Ingeniería Agroforestal Acuícola – UNIA.
2. Asesor de la carrera profesional de Ingeniería Agroforestal Acuícola – UNIA

Collection and inoculation of *Rhizobium* sp. associated with roots of *Phaseolus vulgaris* (bean) in an entisol soil from the town of Nueva Requena – Pucallpa

Lizsandra Doylit Chávez Tuanama¹, Juan Luis Pérez Marín ²

ABSTRACT

The work covers the collection and inoculation of *Rhizobium* sp. associated with roots of *Phaseolus vulgaris* (bean) in an entisol soil in the Nueva Requena - Pucallpa locality, using 2 treatments: T1, without *Rhizobium* sp x 4 replicates and T2, with *Rhizobium* sp x 4 replicates, 12 experimental units, through the Complete Random Design (DCA), evaluating the variables: germination time; germination percentage; Beginning of flowering; number of nodules/plant, number of pods/plant, size of pods/plant; pod weight/plant, yield. Obtaining better results in T2 (plots with *Rhizobium* sp), achieving the bean seed to germinate in a time of 4 days, germination percentage of 95.50%, number of nodules of 26.25 / plant, number of pods / plant of 42.25, size of pods of 16.50 cm, weight of pod/plant of 5.83 g, yield of 2,510 k/ha, in relation to the plots of T1, without inoculation of *Rhizobium* sp, which were lower. Therefore, to obtain optimal production in bean cultivation, the plants need to be stimulated with the application of *Rhizobium* sp. because they provide the soil with nitrogen that is very important for the plant.

Keywords: symbiosis, nitrogenase, atmospheric nitrogen, bean pods, bean testa.

1. Tesista de la carrera profesional de Ingeniería Agroforestal Acuícola – UNIA.
2. Asesor de la carrera profesional de Ingeniería Agroforestal Acuícola – UNIA

I. INTRODUCCIÓN

La Amazonía Peruana tiene suelos deficientes en nitrógeno, cuya deficiencia es el principal problema de la baja producción de los cultivos tropicales, para mejorar este problema se hicieron investigaciones en diferentes lugares, utilizando el *Rhizobium sp* como mejorador del suelo para incrementar el nitrógeno deficiente, actividad que no ha tenido el resultado esperado por la falta de conocimiento de esta técnica, en el presente estudio estaremos utilizando el *Rhizobium sp* (nódulos o cepas) procedentes de maní, supliendo deficiencias de nitrógeno en el suelo e incrementar los rendimientos (Lloret, 2018).

La Amazonía presenta en general suelos muy pobres de elementos indispensables para la planta como los elementos minerales básicos, estos minerales faltantes favorecen para que las plantas obtengan un crecimiento y desarrollo deficiente, influyendo en producciones bajas, mediante el estudio se repotenció estos suelos deficientes en nitrógeno, fósforo y potasio haciendo inoculaciones de bacterias de *Rhizobium sp* en donde los suelos producto de la inoculaciones de las bacterias se sufrirán cambios produciendo simbiosis entre la planta hospedadora y la bacterias, produciéndose el nitrógeno, fósforo, potasio, magnesio que son indispensables para lograr una buena producción en las plantas (Huamán, 2019).

Los suelos deficientes en nitrógeno pueden mejorarse a través de inoculaciones de *Rhizobium sp*. para obtener buenos rendimientos, como las bacterias no pueden realizar por si solos la actividad fotosintética, lo realiza por ellos la planta, asimilando el nitrógeno atmosférico, en donde las bacterias lo convierten en nitrato y amonio a través de la asimilación de las raíces que es la única manera que las plantas pueden aportar nitrógeno al suelo, mediante la actividad de simbiosis en forma permanente, influyendo en el mejoramiento de los suelos, al incorporarse el nitrógeno, fósforo, potasio y magnesio deficiente para lograr obtener una óptima producción (Sathe, 2018).

Al termino del proceso simbiótico efectuado por la planta mediante secreción lectinosa bacteriana aportan nitrógeno para vivir la planta, con protección bacteriana, efectuándose entre ambos una mancomunada interacción simbiótica (Zamora, 2017).

Los *Rhizobium sp*. son estudiadas desde mucho tiempo, por las bondades del nitrógeno atmosférico, mejorando rendimiento, incrementando al suelo con otros nutrientes como fósforo, potasio, magnesio, además, el *Rhizobium, sp*. son bacterias benéficas utilizadas para faenas agrícolas como mejoradoras del suelo protegiendo el ambiente, son compuestos que no causan efectos dañinas en seres vivos (Tjalling, 2017). El estudio impulsará al agricultor la utilización de *Rhizobium sp*., para corregir suelos, al considerarse

de costos bajos al producirse en suelos entisoles que son suelos bajos ricos en nutrientes pero pobres en nitrógeno por el lavado de estos nutrientes, aunque también pueden fortalecer cultivos en suelos ultisoles que son suelos pobres en nutrientes y en nitrógeno, como el maíz, arroz, yuca, plátanos y otros.

La deficiencia de nitrógeno en suelos amazónicos, lo remediaremos aplicando bacterias *Rhizobium sp*, actuando simbióticamente con la planta, formándose una molécula que sirve de transportar oxígeno, producto similar a la hemoglobina denominada Leghemoglobina, sintetizada cuando los dos organismos actuando simbióticamente, captando la bacteria el grupo hemo molecular, y aproteína por medio de la plantaravés de apoproteína. A través de la molécula formada, se realiza el transporte del oxígeno mediante acción metabólica bacteriana, fijando nitrógeno que es aprovechado por la planta (Guevara, 2018).

Se realizó en base a los siguientes lineamientos:

Objetivo general

Evaluar colecta e inoculación *Rhizobium sp* asociados raíces *Phaseolus vulgaris* (frejol) en suelo entisol de localidad Nueva Requena - Pucallpa.

Objetivos específicos

Evaluar porcentaje germinación.

Evaluar tiempo germinación.

Evaluar cantidad nódulos/planta.

Evaluar cantidad y tamaño vainas.

Evaluar peso vaina/planta.

Determinar rendimiento.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Antecedentes del problema

2.1.1. A nivel local

Existen investigaciones sobre *Rhizobium sp.* con aplicaciones asociadas a raíces de diferentes cultivos, en la investigación utilizamos el *Rhizobium sp.* (maní) asociadas a raíces, detallamos las investigaciones realizadas con *Rhizobium sp.*, como en otros estudios similares.

Rojas (2018), evaluó la fijación del nitrógeno con bacterias nativas *Brady Rhizobium sp.* por medio simbiótico en *Glycine max* L (soya), sobre dos suelos aluviales y otro en suelos ultosoles, con aplicaciones urea y *Rhizobium* como mejoradoras del suelo con problemas de nitrógeno. Los resultados arrojan resultados favorables de efectividad sobre los tratamientos con fertilizantes de urea en cultivos de soya, logrando obtener granos soya adecuados en suelos aluviales de 845,71 kg/ha con equivalencia a fertilizantes elaborados de *Rhizobium* que alcanzaron menores cantidades.

Huamán (2019), evaluó efecto incorporación sobre dos fuentes materia orgánica: vacaza, gallinaza, enriquecidas con microorganismos eficientes en crecimiento y producción del cultivo frejol en suelo inceptisol de Pucallpa. Los resultados indican que los microorganismos eficientes tuvieron mejor comportamiento que los abonos sin procesar y testigo sin microorganismos, en variables altura planta, porcentaje floración. Logró además que los tratamientos de abonos enriquecidos con microorganismos eficientes estimularon crecimiento de cantidad granos por vaina, peso 100 granos, rendimiento por ha, con relación a los demás tratamientos con abonos sin procesar y testigo sin abono.

Villafuerte (2021), evaluó el efecto inoculación *Rhizobium sp.* asociadas a raíces de *Lycopersicum sculentum* (tomate), bajo tres tratamientos: T₁ (Testigo, sin *Rhizobium sp.*), T₂ (*Rhizobium sp.* de Pucallpilo), T₃ (*Rhizobium sp.* de Ega), evaluó variables: porcentaje germinación, cantidad nódulos/planta, peso frutos/planta, rendimiento. Logró mejor resultado con T₂ (con *Rhizobium sp.* de Pucallpilo), obteniendo 99 % en germinación semillas, 110 nódulos *Rhizobium sp.*/planta, 109 g/fruto/planta, 3,996 k/ha, con relación a los otros tratamientos que fueron menos significativa.

2.1.2. A nivel nacional

Saldarriaga (2017), evaluó efecto de sobre posición de siembra dentro del surco

en tres variedades de frijol con inoculaciones bacterias de *Rhizobium sp*, demostró que la variedad 14 (Vaina Blanca) con 87.30 cm, logró mayor altura planta, mientras que la variedad Playero alcanzó 77.72 cm. Los resultados indican que dicha variedad fue influenciada por factores climáticos, aporte de nitrógeno en la planta, labores manejo agronómico por tipo de posición de siembra.

Montilla (2018), evaluó niveles fertilización fosfórica e incorporación *Rhizobium sp* en rendimiento del frijol, logrando en el tratamiento T₅ (100 kg/ha-1 de P205) mayores promedios en número vainas por planta y rendimiento, obteniendo 13.5 vainas por planta y 3,289 t.ha-1, superando cuantitativamente los promedios alcanzados en los demás tratamientos.

Ferrel y Soriano (2018), evaluó efecto del *Rhizobium sp etli* con proporción 10,000 UFC / mL sobre crecimiento en plántulas *Saccharum officinarum* (caña azúcar), para determinar variables como altura plántulas, longitud raíz, densidad radicular, peso seco parte aérea, índice efectividad inoculación a 30, 60 días post- inoculación bajo condiciones laboratorio. Logró condiciones en las variables mencionadas por efecto óptimo del crecimiento en plántulas *Sacharum officinalis* a los 30, 60 días después de concluido la aplicación bacteria.

Villanueva *et al* (2019), evaluaron aislamiento, selección, conservación bacterias nativas *Rhizobium sp.* y Brady *Rhyzobium sp*, en plantas *Phaseolus vulgaris* (frejol). Encontraron predominancia sobre bacterias *Rhizobium sp.* quienes estimularon crecimiento rápido con relación a las bacterias del género *Bradyrhizobium sp*, que lograron crecimiento lento, considerándose a las bacterias *Rhizobium sp.* mejor adaptadas bajo conservación refrigerada que los otros grupos de bacterias.

Santillana *et al* (2017), evaluaron efecto sobre 19 cepas *Rhizobium sp.* en germinación, crecimiento plantas de *Lycopersicon esculentum*, utilizando cámaras subirrigación con arena esterilizada. Encontraron que las cepas estimularon la germinación de semillas de tomate favorablemente en PEVF02, PEVF03, PEVF05, PEVF08, PEVF09, PEVF10, PEPSM12, PEPSM15 y PEPSM17, mientras las otras cepas estimularon el crecimiento de plantas *Lycopersicum esculentum* (tomate) en PEVF01, PEVF02, PEVF03, PEVF04, PEVF05, PEVF08, PEPSM14.

2.1.3. A nivel internacional

Montenegro (2017), evaluó efecto sobre dos distancias siembra y dos dosis algas marinas en cultivo frejol e incorporación de *Rhizobium sp*, demostró que probadas las

densidades de siembra 0,50 x 0,30 m. (66,667 plantas/has) y 0,70 x 0,40 m (35,714 plantas/has), no arrojaron resultados significativas en el rendimiento, obteniéndose promedios de 1,416 kg/ha. Comparando los resultados obtenidos con la misma variedad por Escoto (2004), logró con una densidad de 0,50 x 0,20 m a razón de dos semillas por golpe que da una población de 200,000 plantas por ha, mejor rendimiento de 2,224 kg/ha, 17 cm de altura de plantas. Montenegro encontró que, con la dosis de 5 kg/ha Alganova, 56.50 cm (entre 46 y 67 cm). Obteniendo con esta dosis entre 15 a 16 g de peso/ 100 semillas.

Zamora (2017), evaluó comportamiento agronómico sobre 15 cultivares frijol con aplicaciones de *Rhizobium sp*, logró obtener en variable número granos por vaina efecto significativo en tratamientos, presentando dos categorías según la tabla de Tukey (0,05%). El tratamiento de la L-08 presentó valores de 16.75 semillas por vaina, seguido por el tratamiento de la L-10 con 16.35. El coeficiente variación de esta ANDEVA fue 11,24 con media de 14,93 semillas por vaina. El tratamiento testigo obtuvo valores de 16,25 granos por vaina.

Pincay (2018), evaluó fertilización edáfica y foliar sobre tres variedades frejol, asociadas con *Rhizobium sp*, logró que el factor variedad no fuera significativo y presentó 20.11, 20.88 y 20.11 vainas en variedades INIAP 463, CAU-9 e INIA 431 respectivamente. Mientras que en el factor tipos de fertilización, la fertilización edáfica resultó más eficiente con promedio alto de 23 vainas por planta, testigo con 16,22 vainas por plantas siendo menor.

Calero *et al* (2019), evaluaron diferentes aplicaciones *Rhizobium sp*. con microorganismos eficientes en frejol. Los resultados evidenciaron que la aplicación asociada al suelo con incorporaciones foliares de microorganismos eficientes estimularon parámetros productivos, como producción hojas, altura planta, legumbres por planta, granos por legumbre, masa 100 semillas, rendimiento grano.

Martínez (2019), evaluó fijación nitrógeno utilizando bacterias nativas *Rhizobium sp*. (maní), demostró que la fijación biológica nitrogenada reemplaza eficientemente a la aplicación de fertilizantes químicos utilizados en la agricultura, reduciendo costos de producción.

Carranza (2019), evaluó aislamiento e identificación en bacterias nativas *Rhizobium leguminosarum* en plantas *Phaseolus vulgaris* para producir nitrógeno. Logró que la bacteria nativa *Rhizobium leguminosarum* produzca adecuadamente nitrógeno en el suelo mejorando los suelos deficientes de este elemento mineral.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Las bacterias del género *Rhizobium*

Díaz (2017), indica que los microorganismos son capaces de establecer simbiosis con leguminosas conocidas como rhizobia o rizobios, reúnen variedades de bacterias. La existencia de estos microorganismos abarca desde fines del siglo XIX cuando, por primera vez, Frank en 1889 denominó *Rhizobium leguminosarum* a las bacterias aisladas a partir de nódulos en leguminosas. Inicialmente con este nombre se dio origen al genérico rhizobia para las bacterias formadoras de nódulos en leguminosas que son capaces de producir nitrógeno captadas del aire para luego transformarlas en nitratos y amonio, formas aprovechadas por la planta.

Los géneros bacterianos de *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Chromobacterium* constituyen la familia Rhizobiaceae; cuyo nombre deriva del griego “Rhiza” = raíz y “bios” = vida. Los flagelos son importantes para el desplazamiento en la tierra, tienen la habilidad de producir nódulos en raíces leguminosas y vivir libremente o asociada produciendo nitrógeno tomado del ambiente, en cantidades mayores cuando interactúan asociadamente (Vargas De Rozo, 2018).

El rizobio se encuentra naturalmente en la tierra viviendo en forma heterótrofa, pero no necesariamente tiene habita en todos los suelos, también puede actuar como saprófito cuando se vive en ausencia de la planta hospedante, continuando su existencia libre en la tierra, buscando hospicio de una raíz “hospedante” que estimule su adecuada proliferación (Sathe, 2018).

El *Rhizobium* son bacterias gram-negativas del suelo que fijan nitrógeno atmosférico, pertenece al grupo bacteriano fijadoras de nitrógeno denominado rizobio. Viven en simbiosis con determinadas plantas leguminosas ubicadas en la raíz, al término del proceso infectivo inducido por la planta mediante la secreción de lectina, aporta nitrógeno necesario para que la planta viva dándole a cambio hospicio para sobrevivencia. La simbiosis está dada por la formación de una molécula que transporte el oxígeno, equivalente a la hemoglobina, llamada leghemoglobina. Solamente se sintetiza cuando los dos organismos se encuentran en proceso simbiótico; por parte de la bacteria sintetiza el grupo hemo en dicha molécula, y por parte de la planta sintetiza la apoproteína. Cuando la nueva molécula formada interacciona realiza el transporte de oxígeno para el metabolismo de la bacteria fijando nitrógeno en proporciones que la planta necesita (Wang *et al.*, 2019).

2..2.2. El nitrógeno atmosférico

El nitrógeno abunda naturalmente en el ambiente, sin embargo, las plantas no pueden disponerlo directamente y tienen que hacerlo del suelo principalmente en forma de nitratos o amonio a través de actividad fotosintética. La fijación biológica de nitrógeno es importante en la biosfera, porque los microorganismos portadores de enzima nitrogenasa convierten el nitrógeno gaseoso del aire en nitrógeno combinado favorable para que la planta necesita (Martínez, 2019)

Las bacterias conocidas como rizobios, inducen especialmente en las raíces de leguminosas la formación nodular, reduciendo en el interior del nódulo el nitrógeno gaseoso a amonio. Este proceso contribuye entre el 60-80 % de la fijación biológica nitrogenada. La simbiosis resulta inhibida cuando existen cantidades mayores de nitrato o amonio en el suelo (Sathe, 2018).

Durante la actividad simbiótica de nódulos con la planta hospedadora, la planta huésped capta nutrientes nitrogenados de la bacteria (rizobios), contribuyendo al suelo con el carbono y ambiente favorable para fijar nitrógeno. La simbiosis contribuye a la formación de una proporción considerable del nitrógeno combinado en la tierra, permitiendo a plantas leguminosas crecer sin fertilizantes nitrogenados y mejorando el suelo (Carranza, 2019).

Elaborar fertilizantes nitrogenados en la agricultura tiene importante impacto medioambiental, así mismo el rhizobium es una herramienta valiosa. Estas bacterias, que viven en simbiosis en las raíces de leguminosas, tienen capacidad fijativo de nitrógeno para ponerlo a disposición de plantas. Esta simbiosis entre leguminosas y rhizobium es de acción ecológica y agronómico (Rojas, 2018).

Los rhizobios son diferentes dependiendo de cada leguminosa en forma, tamaño y actividad, lo que significa que un Rhizobium de soya o maní no podrá establecer una simbiosis con un guisante y viceversa (Gibson, 2018).

Las bacterias *Rhizobium* son de vida libre en la tierra, alimentándose de restos orgánicos descompuestos. Contienen plásmido que codifican información para la infección y la nodulación en planta hospedadora. Tienen bacilos móviles, gram-negativos, con dos capas de pared celular (la primera capa hecha por carbohidratos y proteínas, y la segunda capa por lípidos, carbohidratos), también son procariotas, aerobios (necesita oxígeno para crecer), móviles, beta (digiere la hemoglobina), crece en cualquier temperatura, se desarrolla óptimamente a una temperatura 25 °C, tiene flagelos para

desplazarse (Wang *et al.*, 2019).

2.2.3. Fijación biológica de nitrógeno

La fijación biológica de nitrógeno reemplaza a fertilizantes químicos comerciales en agricultura actualmente, previniendo pérdida de fertilidad del suelo por falta de este elemento, este proceso de nitrificación son realizados por bacterias del suelo, algunas de éstas (del tipo *Rhizobium sp*) se establecen en raíces de plantas leguminosas proporcionándoles el nitrógeno que necesitan para su crecimiento, el gran interés investigativo de estas bacterias es utilizarlas adecuadamente y reemplazarlos a los comerciales en el futuro (Rojas, 2018).

El problema de la humanidad es la producción de alimentos en cantidad menores por el empobrecimiento del suelo, para solucionar parte del problema utilizan fertilizantes comerciales a costos altos, que aplicadas en cantidades cada vez mayores ha generado problemas diversos de contaminación de alimentos, contaminación del suelo, agua subterránea contaminada, agua superficial con efectos tóxicos (Santillana, 2017).

En trópicos y subtropical, existen bacterias *Rhizobium*, en diversos cultivos conocidos como frejol, maíz, maní, entre otros, hortalizas, siendo poco usado por falta de información de este insumo orgánico para mejorar deficiencias del suelo e incrementar la producción (Velásquez, 2017).

Para solucionar la problemática de deficiencia de nitrógeno en el suelo, se está dando viabilidad al uso del *Rhizobium*, los investigadores realizan esfuerzos por conocer los sistemas biológicos y poder modificar las prácticas agrícolas lo suficiente para que sea la fijación biológica de nitrógeno reemplace en el futuro al nitrógeno comercial (Guevara, 2018).

Además del nitrógeno que la planta necesita, el desarrollo está determinado por microorganismos con las cuales se asocian. Algunos de ellos anulan diversos patógenos evitando enfermedades como *Azospirillum* y *Acetobacter*, quienes estimulan el crecimiento de la planta al producirse las bacterias (Guamán, 2020).

También existen otras bacterias que proporcionan diversos factores del crecimiento vegetal como el lumichrome producido por *Rhizobium meliloti*, quienes estimulan la adecuada respiración de la raíz y el óptimo desarrollo de la planta (Pincay, 2018).

La simbiosis *Rhizobium sp* – Leguminosa tiene variados aspectos estructurales, fisiológicos y genéticos, siendo de importancia agrícola especialmente en

cultivos leguminosas para la formación natural del nitrógeno en el suelo y la planta como organismo vivo pueda vivir adecuadamente (Montenegro, 2017).

La fijación biológica de nitrógeno disponible en la tierra está alrededor del 60%, porcentaje mínimo para abastecer de nitrógeno al suelo, compensándose la diferencia restante con la elaboración de fertilizantes comerciales químicos. Fijándose alrededor de 200 millones toneladas al año, es decir dos veces la producción de fertilizantes nitrogenados de la industria nacional e internacional (BIOFAG, 2019).

2.2.4. Formas de vida de las bacterias de *Rhizobium*

Las bacterias *Rhizobium sp.*, se comportan como organismos de vida libre en el suelo, bajo diversas formas asociadas, permitiendo fijar nitrógeno que captan del aire y lo transforman en complementos que la planta lo asimila (Montilla, 2018).

La asociación entre leguminosa – bacteria captan el nitrógeno del aire atmosférico, ya que ellos no pueden realizarlo en forma directa, resultando más amplia esta formación cuando actúan colectivamente (Osorio, 2017).

Las bacterias del grupo *Rhizobium sp.* son bacilos gram-negativos, proteobacterias pertenecientes al grupo alfa, son aeróbicas, aeróbicas estrictas, sin esporas, contienen de 1 a 6 flagelos para el desplazamiento, propiciando la formación de nódulos especialmente en raíces, bajo interacción simbiótica. Tienen propiedades motiles por medio de flagelos peritricos, siendo su hábitat natural la tierra, conviviendo aisladamente o en forma libre (Zamora, 2017).

Los nódulos se localizan de preferencia en las raíces (*Rhizobium*), salvo en el caso de *Azorhizobium sp.* que inducen nódulos en tallos (Lewis, 2019). En el interior de los nódulos existe bacterias que se transforman en bacteroides, denominada actividad simbiótica de los *Rhizobium*, fijando nitrógeno, recibiendo fuentes de carbono, elementos que son acumuladas como energía para el desarrollo de la planta (Guevara, 2018).

La simbiosis realizada durante la fotosíntesis es una acción específica entre planta-bacteria, comunicados con un intercambio de señales químicas entre ambas partes para permitir el reconocimiento e invasión de la leguminosa hospedadora apropiada por el *Rhizobium*, seguido a la invasión resulta la proliferación y diferenciación de una estructura denominada nódulo (Guamán, 2020).

2.2.5. Simbiosis leguminosa – *rhizobium*

La simbiosis entre leguminosa- *rhizobium sp.* es un factor de interacción

eficiente entre planta-bacteria en los trópicos y subtrópicos, para estimular proteínas, a través de la fijación biológica del nitrógeno, quienes asimilan nitrógeno atmosférico convirtiéndolo en amonio o nitrato para la fijación del nitrógeno, bajo condiciones normales las leguminosa y el *Rhizobium sp*, individualmente son incapaces de fijar nitrógeno, sin embargo, la interacción entre ellos proporciona mayor elasticidad para fijarlo aún en lugares en donde no existen las bacterias (Goicochea, 2019).

El establecimiento simbiótico existente entre leguminosa y *Rhizobium sp*, que realizan ambos para capturar el nitrógeno atmosférico, es un proceso complejo; donde la formación de nódulos y la captación del nitrógeno se realizan en etapas continuas, especialmente durante la fotosíntesis (Guamán, 2020).

El *Rhizobium sp*, estimula en leguminosa el desarrollo de nódulos en la raíz, los dos organismos establecen acción metabólica continua, las bacterias reducen N_2 a amonio (NH_4), exportando al tejido vegetal para su asimilación en proteínas y otros compuestos nitrogenados complejos, las hojas reducen el CO_2 en azúcares durante la fotosíntesis transportándola a la raíz donde los bacteroides, usando el *Rhizobium sp* fuente de energía para proveer ATP al proceso de inmovilizar nitrógeno (Pincay, 2018).

Alrededor del 90% de especies leguminosas tienen capacidad de nodular tanto en plantas de la misma especie, como de otros, existe una marcada preferencia por los beneficios que aportan las bacterias en la agricultura en especies leguminosa y cepa *Rhizobium sp*. (Osorio, 2017).

Las cepas de *Rhizobium sp* son capaces de infectar en determinadas leguminosas, pero no siempre estimula la formación de nódulos fijadores de nitrógeno; porque si la cepa no es efectiva, no realiza simbiosis adecuada porque los nódulos formados son pequeños, blanco verdosos, e incapaces de fijar Nitrógeno; si la cepa es efectiva el nódulo será grande, rojizo y fijador de nitrógeno. La efectividad está determinada por el color, tamaño de las cepas bacteriana, siendo más activas en épocas húmedas (Geurts et al, 2018).

Durante el establecimiento simbiótico entre leguminosa-*Rhizobium sp*, las bacterias sintetizan y secretan a la rizósfera metabolitos de naturaleza lipoquitoligosacarádica denominados factores Nod (FN); quienes actúan con señales simbióticas jugando un papel esencial durante la infección y en la formación del nódulo fijador de nitrógeno, las mismas que son más propicias en épocas lluviosas (Guamán, 2020).

2.2.6. El frejol y la simbiosis con el rhizobium

El *Rhizobium sp* logra capturar nitrógeno del aire y traslada una parte hasta las raíces del frejol para el aprovechamiento como fertilizante nitrogenado quedando la otra parte en el suelo disponible para el desarrollo de actividades agrícolas (Santillana, 2017).

La relación entre bacteria y frejol se lleva a cabo en forma natural, se inicia cuando la bacteria infecta las raíces formando nódulos pegadas a ellas. Los nódulos que forma el *Rhizobium sp* deben ser de tamaños grandes localizados en la parte superior de las raíces como nudos, los nódulos más viables son de color rosado en su interior, notándose un punto muy vistoso, factor que indica que el nódulo es propicio para producir nitrógeno (Osorio, 2017).

Las bacterias *Rhizobium sp.* tienen gran importancia agrícola porque suministran aproximadamente 50 % del nitrógeno al cultivo en forma natural, siendo posible reducir el uso de fertilizantes químicos como urea en faenas agrícolas (Lodwig, 2019).



Figura 1. Nódulos de *Phaseolus vulgaris*, (frejol) (Guaman, 2020)



Figura 2. Planta de frejol (Guaman, 2020).

2.2.7. La nitrogenasa

La nitrogenasa enzima responsable de capturar nitrógeno atmosférico convirtiéndolo a amonio durante la simbiosis entre leguminosa y *Rhizobium sp*. Esta acción lo realiza el complejo enzimático nitrogenasa, compuesto por dos enzimas: dinitrogenasa y dinitrogenasa reductasa. La dinitrogenasa reductasa está encargada de transferir electrones a la dinitrogenasa, que unida a un cofactor de hierro y molibdeno reduce luego al N_2 mediante una serie de reacciones (Guamán, 2020).

Para que la reducción de nitrogenasa se lleve a cabo necesitamos la ausencia de O_2 , incluso en organismos aerobios y anaerobios, porque este gas inactiva la nitrogenasa. En este proceso se reduce el nitrógeno a amoníaco, que es reemplazado

simbióticamente para elaborar compuestos orgánicos (Torres, 2017).

La textura del suelo del estudio es franco arenoso, apropiado para el cultivo del frejol, esta textura permitirá que las raíces se desarrollen con mayor facilidad por la porosidad física existente (Faiguenbaun y Romero, 2019).

2.2.8. Leghemoglobina

Leguminosas y bacteria *Rhizobium* elaboran nitrógeno en condiciones normales y naturales, cuando interactúan bajo condiciones simbióticas. Aunque en cultivos axénico en condiciones microfílicas controladas, las bacterias fijan nitrógeno atmosférico, necesitando sólo oxígeno para generar energía y así fijar nitrógeno, durante esta acción la nitrogenasa es inactivada por el oxígeno. Por otra parte, en los nódulos se encuentran cantidades de oxígeno exactas, controladas por la leghemoglobina, proteína que se une al oxígeno para la producción de nitrógeno (Cuadrado *et al*, 2019).

La nitrogenasa es una proteína de color rojo que contiene hierro, está presente en nódulos viables y activos fijadores de nitrógeno. La formación es estimulada por la interacción planta-bacteria, ya que cada una en forma individual son incapaces de sintetizarla. Funciona como un tapón de oxígeno, manteniéndose en una concentración baja constante. La relación existente entre el nódulo de leghemoglobina y oxígeno es 10,000:1 (Sawada *et al*, 2019)

2.2.9. El *Phaseolus vulgaris* (frejol)

2.2.9.1. Origen del *Phaseolus vulgaris* (frejol)

El origen del frejol no se conoce con exactitud, pero sabemos que es una especie procedente de América. Las formas silvestres que dieron origen a las cultivadas de hoy se les ha encontrado ampliamente distribuidas en forma silvestre desde México hasta Argentina. Tanto los frijoles silvestres y cultivados del centro y sud América, comparten caracteres morfológicos que hacen suponer se originen de dos grandes centros domesticados (Valladolid, 2017).

El frijol de acuerdo a estudios realizados es una planta originaria de América Central y Sur de México. Cultivada desde la antigüedad, es posible encontrar en Sudamérica formas silvestres; fue llevada a Europa, poco después del descubrimiento de América y desde entonces su cultivo ha ido adquiriendo importancia creciente de acuerdo a la capacidad de adaptación, se ha extendido por dos hemisferios en la zona tropical y

templada (Cuadrado *et al.* 2019).

2.2.9.2. Clasificación botánica

Debouck y Hidalgo (2019), mencionan la clasificación de frejol en:

Orden: Rosales

Familia: Leguminosae

Sub familia: Papilionoidae

Tribu: Phaseolae

Sub Tribu: Phaseolinae

Género: Phaseolus

Especie: vulgaris L.

2.2.9.3. Descripción botánica de la planta

Debouck y Hidalgo (2019), mencionan que el frijol tiene caracteres morfológicos adecuados, influenciados por el ambiente, característica que identifican la especie o variedad. El conocimiento de las características mencionadas ayuda a comprender el desarrollo de la planta en relación con el ambiente. El cultivo de *Phaseolus vulgaris* L (frejol) en zonas de Selva, se cultiva durante la vaciante del río (entisol), son aprovechados también en los márgenes de las carreteras de nuestra localidad (ultisol), tienen las características botánicas:

2.2.9.3.1. Raíz

Es un órgano inicial integrada por la radícula del embrión que se transforma luego en raíz principal, que sirve de sostén a la planta. De las raíces primarias emergen raíces secundarias y de éstas las terciarias.

En las subdivisiones se encuentran los pelos absorbentes, que cumplen una función importante para la absorción del agua y nutrientes del suelo. El mayor volumen del sistema radical se concentra en los primeros 20 cm de profundidad del suelo y están más activas en épocas de invierno.

Requiere de suelos sueltos con buena fertilidad, las raíces de variedades bien adaptadas alcanzan hasta un metro de longitud. Las raíces con frecuencia presentan nódulos de forma poliédrica, de 2 a 5 mm diámetro, colonizados por bacterias del género *Rhizobium*. La raíz fija el nitrógeno atmosférico que luego es aprovechado por la planta y también es aportada al suelo. El tallo generalmente tiene diámetro mayor que las ramas y

son erectos, semipostrado o postrado. Dependiendo del hábito de crecimiento por variedad.

2.2.9.3.2. Tallo

Formada por una sucesión de nudos y entrenudos. Un nudo, es el punto de inserción de hojas (o de los cotiledones) en el tallo. El ángulo formado entre el tallo y el peciolo de la hoja se denomina axila. En la axila aparece un complejo de 3 yemas que luego se desarrollan como ramas o como inflorescencias, o en ambas. La primera parte del tallo comprendida entre la inserción de las raíces y el primer nudo se denomina Hipocotilo. El primer nudo es el punto de inserción de los cotiledones. Entre el nudo cotiledonal y el segundo donde van insertadas las hojas primarias es el Epicotilo. El tallo es de diámetro mayor que las ramas y son erectos, semipostrado o postrado. Dependiendo del hábito de crecimiento por variedad y condiciones climáticas.

2.2.9.3.3. Hojas

Tienen dos tipos de hojas: simples y compuestas. Las hojas simples son primarias ubicadas en posición opuesta en el segundo nudo y caen antes que la planta alcance su máximo desarrollo. Las hojas compuestas, son hojas trifoliadas típicas del frijol. El foliolo central es simétrico y los dos laterales son asimétricos, los zarcillos son los que lo desplazan abarcando varios metros que incrementa las hojas y puedan estas formar vainas en los nudos y entrenudos.

2.2.9.3.4. Inflorescencia

Comúnmente son terminales o axilares. Las terminales se dan en los hábitos de crecimiento tipo I. En la inflorescencia pueden distinguirse tres componentes: el eje de la inflorescencia que se compone de pedúnculo y raquis, las bractéolas primarias, y los botones florales. Antes de abrirse las primeras flores, el pedúnculo se alarga rápidamente. El raquis es una sucesión de nudos. Los nudos se distinguen por que en ellos se localizan las brácteas primarias. En la axila formada entre la bráctea y el raquis existe un complejo de 3 yemas (triada floral). De cada triada floral, generalmente las dos yemas laterales se transforman en flores para la producción de vainas.

2.2.9.3.5. Flores

Papilionácea (amariposada). Distinguiéndose durante su desarrollo dos estados: el botón floral y la flor completamente abierta. El botón generalmente se abre

cuando ocurre la antesis (fecundación). La flor consta de cuatro partes: cáliz, corola, androceo y gineceo.

Cáliz de forma acampanada, con cinco dientes triangulares dispuestos en dos grupos: dos completamente soldados y tres visibles en la parte baja. En la base del cáliz existe dos bractéolas ovoides, con tamaño dos veces mayor al del cáliz.

Corola pentámera con dos pétalos soldados en su base y tres libres. De los pétalos libres, el sobresaliente se denomina estandarte; los dos restantes corresponden a las alas. Los dos pétalos soldados corresponden a la quilla que envuelve al androceo y al gineceo. La corola puede tomar colores blanco, rosado o púrpura. Las variedades criollas de grano bayo, rojo y negro que se cultivan en la costa tienen corola púrpura claro y son muy productivas.

El androceo, forma nueve estambres soldados por su base y uno libre frente al estandarte.

El gineceo, contiene ovario comprimido, el estilo encorvado y el estigma lateral terminal con agrupaciones pelosas en forma de brochas.

2.2.9.3.6. Frutos

Son vainas provista de dos valvas provenientes del ovario comprimido. Las valvas unidas conforman dos suturas. La sutura placentar o dorsal donde están unidas las semillas y la sutura ventral. La presencia de fibra en las suturas y en la parte interna de las valvas determina la dehiscencia, carácter morfoagronómico importante que sirve para clasificar las variedades. Vainas con mucha fibra en las suturas y las valvas tienden a abrirse a la madurez de cosecha. Variedades con vainas de éste tipo sirven para cosecha de grano seco; en tanto que, vainas sin fibra en las suturas y muy poca en las valvas, sirven para consumo como vainita, alimento muy cotizado.

2.2.9.3.7. Semillas

Considerado como óvulo fecundado. Adota varios colores y formas: ovoides, esféricos, arriñonadas, etc. Las partes externas más importantes son: testa, hilum, micrópilo y rafe. La testa o cubierta, el hilum que es la cicatriz dejada por la unión (funículo) con la sutura placentar. El micrópilo, es una abertura cerca al hilum, a través de la cual la semilla absorbe agua para iniciar la germinación. El rafe, es un abultamiento próximo al hilum, en sentido opuesto al micrópilo. Proviene de la soldadura del funículo con los tegumentos

externos del óvulo. Internamente la semilla está constituida solamente por el embrión, el cual está formado por la plúmula, las dos hojas primarias, el hipocotilo, los dos cotiledones que concentran las reservas nutritivas y la radícula, factores que hacen más productivo a la planta.

2.2.9.4. Hábitos de crecimiento

CIAT (2021), mencionan que hábito de crecimiento son caracteres morfoagronómicos de importancia agrícola relacionado con el manejo del cultivo y potencial de rendimiento de la variedad. De acuerdo a estudios realizados por CIAT existen cuatro tipos de hábitos de crecimiento:

Tipo I: Hábito crecimiento arbustivo determinado

Tipo II: Hábito crecimiento arbustivo indeterminado

Tipo III: Hábito crecimiento postrado indeterminado

Tipo IV: Hábito crecimiento indeterminado trepador

Son típicos de costa los tres primeros. El tipo IV de sierra y selva, por la costumbre de siembra del cultivo, principalmente bajo condiciones asociadas con diversos cultivos (Villanueva *et. al.* 2019).

III. MÉTODO

3.1. Ubicación y descripción del área de estudio

3.1.1. Adquisición maní

Fueron adquiridas de un fundo ubicado en el caserío de Pucallpillo, semilla de testa roja, variedad Ucayalino. La selección se realizó de plantas con buena producción de maní, seleccionando 50 plantas con vainas y nódulos de *Rhizobium sp* grandes y de color rosado. La coordenada UTM de donde se adquirió el maní están ubicados en una parcela con las coordenadas UTM: 18 L. UTM.5543397 E, 9065847 E, con una altitud de 154 msnm. (Google Earth, 2021) Suelos de terraza baja, inundables. La temperatura promedio del mes de junio durante la colecta de las plantas de maní con *Rhizobium sp.* fue de 30°C, con una precipitación de 25 mm (SENAMHI 2021). La adquisición de las plantas de maní con los nódulos se realizó durante el mes de junio del 2021.

3.1.2. Adquisición de semillas de frejol Ucayalino

Las semillas adquiridas fueron de la variedad de frejol Ucayalino (testa amarilla), se obtuvieron de la localidad de Pucallpillo, procedentes del mismo lugar de donde se adquirió las plantas de maní. Se adquirió dos (2) kilos de semilla procedentes de plantas en cosecha. Se seleccionó semillas grandes y pesadas para la siembra. La semilla se adquirió en el mes de junio del 2021.

3.1.3. Del área de siembra

Las siembras de parcelas de frejol se hicieron en un fundo de la localidad de Nueva Requena, la misma que se encuentra ubicado a una distancia de la localidad de Campo Verde a Nueva Requena de 17.5 km, margen izquierda de ida, cuyas coordenadas UTM son: 18 L. 515171 E, 5144006 O, 9081074 N, 6034526 S, con una altitud de 151 msnm (Google Earth, 2021). Con una temperatura promedio de 4 meses de campo de 31°C y precipitación de 68.2 mm (SENAMHI, 2021). Se utilizó un área para la siembra de 25.0 m de largo x 13.0 m de ancho, equivalente a 325 m². La fase de siembra fue con verano y escasas lluvias, mientras que la fase de crecimiento y desarrollo fue entre un tiempo de verano alto con escasas lluvias. La instalación, siembra y cosecha. se realizó desde julio a octubre del 2021.

Cuadro 1. Datos de temperatura y precipitación durante la fase de siembra a cosecha

Meses de campo (siembra-cosecha)	Datos meteorológicos meses del 2021	
	Temperatura (°C)	Precipitación (mm)
Julio	30	42.1
Agosto	31	41.8
Setiembre	32	70.7
Octubre	31	118.2
Promedio:	31	68.2

(SENAMHI, 2021).

3.2. Identificación y descripción del material experimental

3.2.1. Nódulos *Rhizobium sp.*

Los nódulos *Rhizobium sp.* fueron adquiridas de maní productivas de la localidad Pucallpillo, seleccionando 50 plantas con vainas y nódulos grandes de color rosado adheridas a la raíz, las raíces de las plantas se eliminaron a la altura del cuello que une con el tallo, para ser trasladadas a la localidad de Nueva Requena. Se seleccionó 250 nódulos grandes y de color rosado para ser inoculadas en las semillas de frejol. Notándose en el centro del nódulo un punto visible de color rosado intenso.

3.2.2. Características de semillas de frejol Ucayalino

Se utilizaron para la siembra semillas de frejol de la variedad Ucayalino, de testa amarilla, seleccionándose vainas fisiológicamente maduras, semillas grandes, con buena formación y pesadas.

3.3. Procedimientos

3.3.1. Colecta nódulos *Rhizobium sp.*

Colectamos nódulos *Rhizobium sp.*, se realizó con plantas *Arachis hypogaea* (maní) en cosecha, procedentes de localidad Pucallpillo. Se seleccionaron 50 plantas con frutos y nódulos grandes y rosados adheridas a las raíces. Las plantas fueron cortadas y eliminadas a la altura del cuello con la raíz para ser trasladadas a la localidad de Nueva Requena, acondicionados en una caja de tecnoport. Se obtuvo 250 nódulos de *Rhizobium sp.* grandes y rosados, con un punto central en el nódulo de color rosado intenso muy visible (Zúñiga, 2017).

3.3.2. Extracción de nódulos

Las raíces se cortaron a la altura del cuello de la planta. Para la extracción de los nódulos de la raíz, considerándose las grandes de color rosado, eliminándose las chicas

de color blanco y verde porque son pequeñas e inactivas. Los nódulos estuvieron ubicados principalmente en las raíces secundarias y terciarias. Los nódulos se separaron de las raíces superiores utilizando un bisturí, dejando en cada nódulo 1.0 cm de raíz tanto en la parte superior e inferior (Zúñiga, 2017).

3.3.3. Lavado de raíces

Las raíces se lavaron constantemente en un envase de plástico mediano por espacio de 10 minutos, hasta sacar todas las partículas de suelo e impurezas que estuvieron adheridas a las raíces y nódulos, evitando elementos patógenos que pudieran presentarse.

3.3.4. Desinfección de nódulos

Los nódulos extraídos y bien lavados, se colocaron en un vaso precipitado de vidrio de 500 ml adicionándose alcohol de 96°, quedando el nivel del alcohol encima de los nódulos, para limpiar o eliminar cualquier contaminación por 60 segundos. Se eliminó el alcohol escurriéndolo del vaso precipitado de vidrio. Posteriormente se adicionó peróxido de hidrógeno para el lavado y desinfección final durante 5 minutos, esta sustancia es fuerte, pero no afecta a las bacterias porque estas se encuentran dentro de los nódulos con la raíz cortada de 1 cm tanto en la parte anterior y posterior de la raíz. Luego se procedió a la eliminación del peróxido de hidrógeno del vaso precipitado (Zúñiga, 2017).

3.3.5. Trituración de nódulos

Los nódulos fueron depositados en un mortero, procediendo al triturado, apoyados con una varita de vidrio bien desinfectado moviéndose uniformemente hasta la aparición de una sustancia lechosa (Zúñiga, 2017).

3.3.6. Siembra del cultivo o cepas de *Rhizobium sp.*

Los nódulos fueron depositados en envase vidrio empapado de una solución de cloruro de metilo (HgCl_2), dejándola hasta que empiece la siembra de las cepas o nódulos, luego se agregó el cultivo YMET. Procediéndose a la siembra de las cepas depositando la sustancia lechosa con una paleta en el envase de vidrio. El envase conteniendo el cultivo con la solución de YMET, fue depositado en una conservadora eléctrica por espacio de 5 a 7 días a 20 °C. A partir de los 3 días empezó a aparecer en la parte superior del envase unas áreas blancas redondas (formación de las colonias) que van aumentando de diámetro a medida que avanza los días. Luego la coloración de las colonias cambia de blanco a crema o marrón crema, tiempo en el cual el cultivo se dio por terminado a los 7 días (Zúñiga, 2017).

Cuadro 2. Composición del medio de cultivo YMET utilizado

Medio de cultivo YMET	
Compuestos	Cantidad
K ₂ HPO ₄ (fosfato di potásico)	0.5 g
MgSO ₄ (sulfato magnesio)	0.2 g
NaCl (cloruro sodio)	0.1 g
Manitol	10.0 g
Extracto levadura	0.2 g
Agar	15.0 g
Agua destilada, c.s.p.	1 L

Fuente: (Zúñiga, 2017).

3.3.7. Inoculación y siembra de cepas o bacterias a las semillas de frejol

Se tendió en el suelo un impermeable limpio sin impurezas, vaciándose dos kilos de frejol, con la ayuda de una varilla de vidrio se procedió a derramar el cultivo o cepa de *Rhizobium sp.* sobre el frejol (remojado en agua con anterioridad por toda la noche), se agregó 4 cucharadas de aceite de comer (para aumentar la impregnación de las bacterias en el frejol), se removió uniformemente el frejol en el cultivo por espacio de 20 minutos hasta que las bacterias estén inoculadas o adheridas a las semillas de frejol, quedando apto para la siembra, actividad que debe de realizarse dentro de las 4 horas siguientes hasta la conclusión de la siembra de frejol (Zúñiga, 2017).

3.3.8. Siembra de frejol en el campo definitivo

Se instalaron 8 parcelas o unidades experimentales cada una de 5.0 m x 5.0 m = 25.00 m², dejando 1.0 m entre calles principales y secundarias, con un total de 325.0 m². El frejol se sembró con un distanciamiento de 1.0 m x 1.0 m entre hileras y plantas. La siembra fue por golpe, depositándose 3 semillas por hoyo. Por parcela o unidad experimental se instaló 36 plantas, con un total de 288 en todo el experimento. Se consideró como cultivo el frejol, por la gran demanda en la alimentación diaria y en los campos agrícolas los rendimientos son bajos y se obtienen ganancias mínimas.

3.3.9. Instalación de soportes

Terminado la siembra de frejol en las parcelas, se instaló los soportes de caña brava de 2.5 metros de altura en todos los hoyos de la parcela, para la subida de la planta a través del soporte, puesto que es una especie trepadora.

3.3.10. Prevención y control de enfermedades

Como medida preventiva para el control de enfermedades se utilizó un concentrado orgánico de neem, macerado durante 15 días (20 semillas de neem machacado + 2 kilos de ají charapita + 10 litros de agua). El control se realizó semanalmente desde la siembra hasta el término de la cosecha.

3.3.11. Cosecha

La cosecha se realizó a partir de los 105 días en forma manual, para evitar daños físicos a las vainas. Las semillas fueron secadas en horas de sol hasta quedar en 14% de humedad.

3.3.12. Evaluación variables del estudio

3.3.12.1. Porcentaje germinación

Evaluaciones desarrollaron al terminar la germinación de las plántulas en cada tratamiento. Los cálculos se realizaron en base a 36 plantas por parcelas para encontrar el porcentaje de germinación en cada repetición y promediar entre las cuatro repeticiones, expresándole en porcentaje (Hernández, 2014).

3.3.12.2. Tiempo de germinación

Esta variable se evaluó diariamente en los diversos tratamientos a medida que las semillas iniciaron la germinación. La evaluación se expresó en días de germinación (Zúñiga, 2017; Hernández, 2014).

3.3.12.3. Cantidad de nódulos por planta

Esta variable se evaluó al terminó de la cosecha, contándose por planta la cantidad nódulos encontrados adheridos en raíces secundarias, terciarias, por cada repetición en los tratamientos, cuantificándoles por planta y luego expresarlos como promedio (Zúñiga, 2017; Hernández, 2014).

3.3.12.4. Cantidad y tamaño de vainas/planta

3.3.12.4.1. Cantidad de vainas/planta

La variable fue evaluada al terminó de cosecha, contándose por planta la cantidad de vainas obtenidas por cada repetición en los tratamientos, cuantificándoles y luego expresarlos como promedio (Zúñiga, 2012; Hernández, 2014).

3.3.12.4.2. Tamaño vainas/planta

La variable fue evaluada al terminó de la

cosecha, midiéndose por planta el tamaño de vainas obtenido por cada repetición en los tratamientos, cuantificándoles y luego expresarlos como promedio en cm (Zúñiga, 2012; Hernández, 2014).

3.3.12.5. Peso de vainas/planta

Esta variable fue evaluada al terminó de la cosecha, pesándose por planta las vainas obtenidas por cada repetición en los tratamientos, cuantificándoles y luego expresarlos como promedio en gramos (Zúñiga, 2012; Hernández, 2014).

3.3.12.6. Rendimiento

Esta variable se evaluó al terminó de la cosecha, pesándose el total de vainas por planta obtenidas por cada repetición en los tratamientos, cuantificándoles y luego expresarlos como promedio en kilos/ha. (Zúñiga, 2012; Hernández, 2014).

3.4. Variables

Cuadro 3. Operacionalización de variables

VARIABLES	DEFINICIÓN	DIMENSIÓN	INDICADORES	INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN
INDEPENDIENTES				
Colecta e inoculación	Acción que permite coleccionar los nódulos de <i>Rhizobium sp</i> para luego inocular las bacterias a raíces de plantas para obtener mejores rendimientos (Pincay, 2018)	Inoculación de bacterias	Raíces sin inoculación Raíces con inoculación	-Vaso precipitado vidrio 500 ml. -Varilla de vidrio. -Mortero - Espátulas -Conservadora eléctrica.
DEPENDIENTES				
Raíces asociadas con <i>Rhizobium sp</i> en <i>Phaseolus vulgaris</i> (frejol)	Consiste en inocular <i>Rhizobium sp</i> a raíces de <i>Phaseolus vulgaris</i> (frejol) para obtener mayores rendimientos (Pincay, 2018)	Porcentaje germinación	%	Vernier, balanza gramera, cinta métrica.
		Tiempo germinación	Días	
		Cantidad de nódulos	Número de nódulos	
		Cantidad y tamaño de vainas	Número cm	
		Peso de vainas	g	
		Rendimiento	k	

Fuente: Elaboración propia.

3.5. Población y muestra

a. Población

Integrada con 288 plantas *Phaseolus vulgaris* (frejol) que fueron inoculadas con bacterias de *Rhizobium sp.*

b. Muestra

La muestra del estudio fue el *Rhizobium* que se utilizó en las semillas de frejol impregnadas con bacterias, adicionando en cada hoyo 3 semillas, siendo igual la misma metodología en todas las repeticiones del tratamiento con aplicaciones de *Rhizobium*.

3.6 Tratamientos

El estudio tuvo los siguientes tratamientos:

T1: Testigo – Sin inoculación *Rhizobium sp.* x 4 repeticiones.

T2: Con aplicaciones *Rhizobium sp.* x 4 repeticiones.

Cuadro 4. Aleatorización de los tratamientos

Repeticiones	Tratamientos	
	T ₁ Sin <i>Rhizobium sp</i>	T ₂ Con <i>Rhizobium sp</i>
	R ₂	R ₃
	R ₄	R ₂
	R ₁	R ₄
	R ₃	R ₁

Fuente: Elaboración propia

3.7. Recolección de los datos

3.7.1. Fuentes de información

La información primaria fueron datos considerados de investigaciones de los últimos cinco años en 80 % sobre información tesis pregrado ubicadas en diversas públicas y privadas, formatos para toma de datos, también utilizamos investigaciones realizadas en INIA, IIAP como informaciones de universidades públicas y privadas.

Las informaciones secundarias utilizadas fueron reportes cinco años últimos en 20 % como artículos científicos, revistas científicas, boletines, divulgación científica de fuentes

confiables, publicaciones relacionadas con el estudio sobre conceptos básicos sobre colecta e inoculación *Rhizobium sp.* asociados a raíces de plantas *Phaseolus vulgaris* (frejol) para mejorar suelos deficientes en nitrógeno e incrementar los rendimientos del cultivo.

3.7.2. Unidad experimental y unidad de medición

3.7.2.1. Unidad experimental

Tubo 2 tratamientos y 8 repeticiones o unidades experimentales. El tamaño de unidad experimental fue 36 plantas frejol, total 144 plantas por tratamiento y 288 total.

3.7.2.2. Unidad de medición

Porcentaje enraizamiento:	% / unidad experimental
Tiempo enraizamiento:	Días / unidad experimental
Cantidad nódulos:	Número raíces / unidad experimental
Tamaño raíces emitidas:	Largo raíces / unidad experimental

3.7.3. Tipo de muestreo

Probabilístico aleatorio simple debido a que todos tienen la misma probabilidad de ser elegido como muestra, debido a que las muestras se trabajan en un ambiente controlado (Hernández, 2014).

3.7.4. Técnicas para la recolección de datos

Aplicamos observación directa experimental, contacto con semillas *Phaseolus vulgaris* (frejol) inoculadas con bacterias *Rhizobium sp.*, para obtener parametros cuantitativos; tales como porcentaje germinación, tiempo germinación, cantidad nódulos, cantidad y tamaño vainas, peso vainas, rendimiento (Hernández, 2014).

3.8. Procesamiento de datos

3.8.1. Diseño estadístico

Diseño completamente azar (DCA), dos (2) tratamientos, cuatro (4) repeticiones, 8 unidades experimentales, unidad experimental 36 plantas *Phaseolus vulgaris* (frejol), haciendo un total 288 plantas.

3.8.2. Modelo matemático

Aplicamos el siguiente modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = Cualquier observación en el i- ésimo tratamiento y j- ésimo repetición en estudio.

μ = Efecto media general.

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento en estudio.

E_{ij} = Error experimental en el i -ésimo tratamiento en estudio.

3.8.3. Análisis estadístico

Adecuamos una extensa cuantificación descriptiva como media, coeficiente variabilidad, observándose comportamiento variables, seguidamente realizamos el análisis de varianza correspondiente al diseño completamente azar (DCA), realizamos la prueba de normalidad para comprobar si existe diferencia significativa entre tratamientos, al existir diferencia significativa entre tratamientos utilizamos el ANOVA y al comprobarse la significancia, realizamos la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$) y con el resultado de esta prueba determinamos el mejor tratamiento utilizando el programa computacional SPSS versión 25 (Hernández, 2014).

IV. RESULTADO Y DISCUSIÓN

4.1. Determinar porcentaje germinación a través colecta e inoculación de *Rhizobium sp* asociados raíces *Phaseolus vulgaris* (frejol) en suelo entisol de Nueva Requena – Pucallpa

En el Cuadro 5, se muestran el porcentaje de germinación, donde se pueden observar que el T₂ con aplicación de *Rhizobium sp.* obtuvo mayor porcentaje de germinación de 95.50% con una desviación estándar de 1.29 contra un 87.75% y desviación estándar de 2.63 del T₁ sin aplicación de *Rhizobium sp.* (Ver Cuadro 5 y figura 3)

Cuadro 5. Estadísticas de grupo de porcentaje de germinación (%)

Tratamientos	N	Media	Desviación	Desv. Error promedio
Sin Rizhobium sp (Testigo)	4	87.75	2.63	1.31
Con Rizhobium sp	4	95.50	1.29	0.65

Fuente: Elaboración propia.

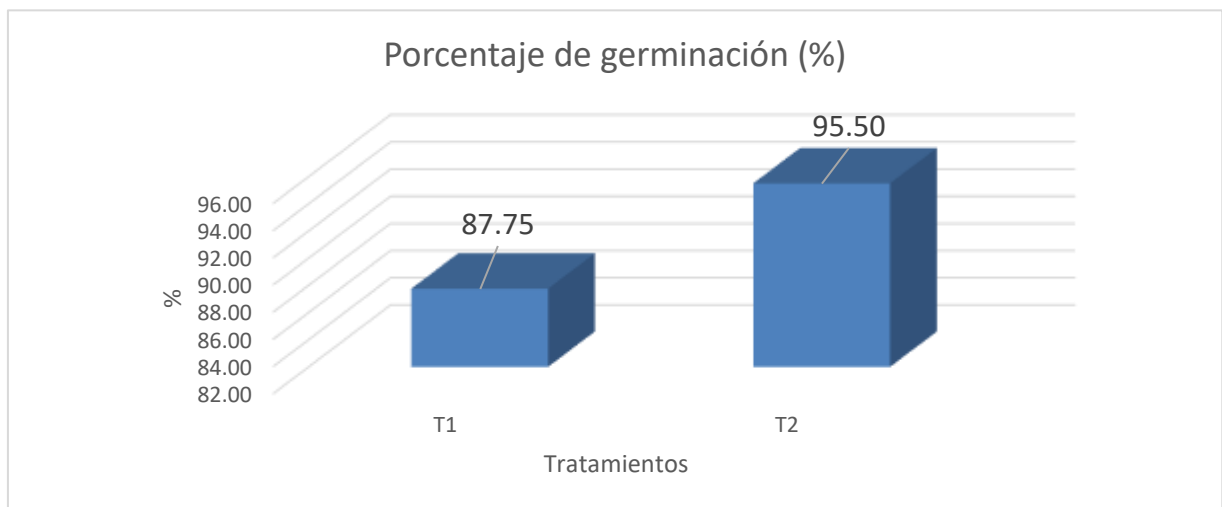


Figura 3. Promedio porcentaje germinación

Fuente: Elaboración propia.

En Cuadro 6, mostramos la prueba t student, donde observamos diferencias significativas entre tratamientos con nivel significancia 5%, nivel confianza 95%.

Cuadro 6. Prueba muestras independientes porcentaje germinación (%)

Fuente variabilidad	Prueba Levene igualdad varianzas		prueba t para la igualdad medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilate ral)	Diferenci a de medias	Diferenci a error estándar	95% intervalo confianza diferencia	
								Inferio r	Superio r
Asumimos varianzas iguales	1.195	0.316	-5.29	6.00	0.00	-7.75	1.46	-11.33	-4.17
No se asumen varianzas iguales			-5.29	4.37	0.00	-7.75	1.46	-11.69	-3.81

Fuente: Elaboración propia.

El Cuadro 7, detalla la correlación del porcentaje germinación con el rendimiento, en donde se pueden observar que existe una relación de un 88.8% con nivel significancia 1%, el cual indica que a mayor porcentaje germinación mayor rendimiento (Ver Cuadro 7).

Cuadro 7. Correlaciones de porcentaje de germinación y rendimiento

Fuente de variabilidad	Porcentaje de Germinación (%)	Rendimiento (k/ha)
Correlación Pearson	1	,888**
Sig. (bilateral)		0.003
N	8	8
Correlación de Pearson	,888**	1
Sig. (bilateral)	0.003	
N	8	8

** . Correlación significativa nivel 0,01 (bilateral).

Fuente: Elaboración propia.

En los Cuadros 5, 6, 7 y Figura 3, se pueden observar que el tratamiento con inoculación de *Rhizobium sp.* se comportó mejor alcanzando un porcentaje de germinación de 95.50 % con relación al tratamiento sin inoculación de *Rhizobium sp.* que fue menor de 87.75 %. De esto se puede afirmar que las bacterias *Rhizobium sp.* son muy importantes en nuestros suelos deficiente en nitrógeno, porque ellos actúan simbióticamente en la producción de este elemento para mejorar el suelo a través de la enzima nitrogenasa, que es la encargada de activar durante la fotosíntesis la producción del nitrógeno atmosférico a nitrógeno asimilable por la planta bajo la forma de amonio o nitratos.

Por otro lado los resultados encontrados en la investigación concuerdan con lo logrado por Wang (2017), donde encontró parcelas inoculadas de frejol con *Rhizobium sp.* el 93 % en porcentaje de germinación, debido a la interacción simbiótica entre planta y rhizobium, los

cuales favorecen la inducción y producción de nitrógeno durante la actividad fotosintética mejorando el suelo y favoreciendo la mayor germinación.

También los resultados obtenidos coinciden con Zamora (2017), utilizando parcelas inoculadas de frejol con *Rhizobium sp.* obtuvo el 94.83 % en porcentaje de germinación de frejol, manifiesta que este resultado se debe a la producción de nitrogenasa durante la actividad fotosintética, que es la encargada de la producción de nitrógeno en el suelo influyendo en mayor porcentaje de germinación.

También los resultados encontrados coinciden con lo logrado por Vargas de Roza (2018), quien en parcelas inoculadas de frejol con *Rhizobium sp.* obtuvo el 92.18 % en porcentaje de germinación de frejol, manifiesta que este resultado es el producto simbiótico de forma especial de la nitrogenasa en el suelo al producir nitrógeno necesario y favorecer el mayor porcentaje germinativo.

4.2. Determinar tiempo germinación a través colecta e inoculación de *Rhizobium sp* asociados raíces de *Phaseolus vulgaris* (frejol) en suelo entisol de Nueva Requena – Pucallpa

En el Cuadro 8; se visualizan que el tratamiento 2 (con *Rizhobium sp*) obtuvo el mejor resultado en tiempo de germinación con 4 días con una desviación estándar de 0.816 con respecto al tratamiento 1 (sin *Rizhobium sp*) que fue en 5.5 días con una desviación estándar de 1.291 respectivamente. (Ver Figura 4)

Cuadro 8. Estadísticas de grupo de tiempo de germinación (días)

Tratamiento	N	Media	Desviación	Desv. Error promedio
Sin <i>Rizhobium sp</i> (Testigo)	4	5.50	1.291	0.645
Con <i>Rizhobium sp</i>	4	4.00	0.816	0.408

Fuente: Elaboración propia.

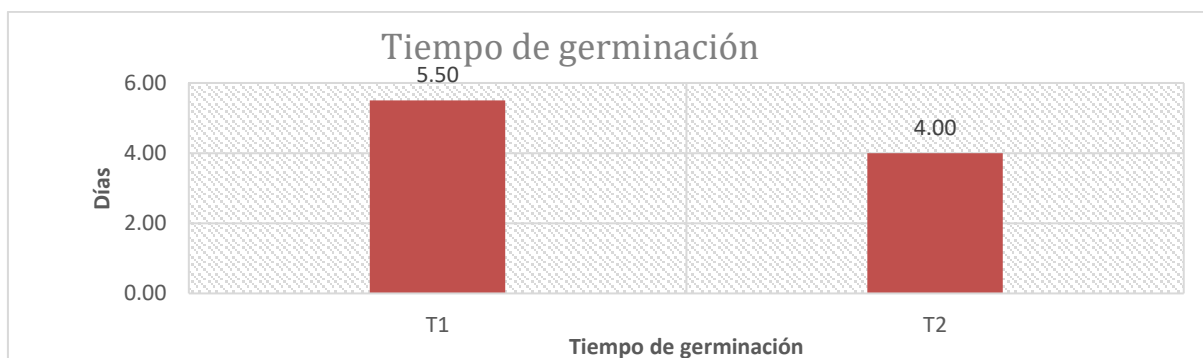


Figura 4: Tiempo de germinación (días)

Fuente: Elaboración propia.

En Cuadro 9, mostramos la prueba T de student para muestras independientes en la cual se afirma que no existe diferencias significativas entre los dos tratamientos a un nivel de

significancia del 1%.

Cuadro 9. Prueba de muestras independientes de tiempo de germinación (días)

Fuente variabilidad	Prueba Levene igualdad varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferen cia de medias	Diferenci a de error estándar	95% intervalo confianza diferencia	
								Inferio r	Superio r
Asumimos varianzas iguales	1.50	0.27	1.9 6	6	0.097	1.50	0.76	-0.369	3.369
No se asumen varianzas iguales			1.9 6	5.069	0.106	1.50	0.76	-0.455	3.455

Fuente. Elaboración propia.

Existe relación inversa o negativa de -0.59 (-59%) entre el tiempo de germinación y el rendimiento, es decir a mayores días de germinación menor rendimiento. Sin embargo, es no significativa. (Ver Cuadro 10)

Cuadro 10. Correlaciones entre tiempo de germinación y rendimiento

Fuente de variabilidad	Tiempo de Germinación (días)	Rendimiento (k/ha)
Correlación Pearson	1	-0.585
Sig. (bilateral)		0.127
N	8	8
Correlación Pearson	-0.585	1
Sig. (bilateral)	0.127	
N	8	8

Fuente: Elaboración propia.

En el Cuadro 8, 9, 10 y Figura 4, se pueden observar que existen diferencia significativa entre el tratamiento 2 con inoculación de *Rhizobium sp* y el tratamiento 1 sin inoculación de *Rhizobium sp.*, así mismo se puede presenciar que el tratamiento 2 con *Rhizobium sp.* fue mejor que el tratamiento 1 sin *Rhizobium sp.*, logrando germinar las semillas en 4 días con relación al tratamiento sin *Rhizobium sp.* donde las semillas germinaron en mayor tiempo de 5.5 días. El resultado obtenido se debe a que la nitrogenasa es una enzima que produce el *Rhizobium sp.* que es encargada de producir el nitrógeno la cual se fija en el suelo influyendo la aceleración de germinación semilla

Lo logrado también coinciden con Zamora (2017), logró germinar semillas frejol inoculadas con *Rhizobium sp.* en 4.4 días. El resultado obtenido manifiesta que es debido al juego

sistemático del proceso simbiótico entre suelo y *Rhizobium sp.* que logran desplazar la nitrogenasa en cantidades adecuadas al suelo para acelerar la germinación de la semilla.

De igual manera Vargas de Rozo (2018), coinciden con lo logrado en nuestra investigación, quien obtuvo hacer germinar semillas de frejol aplicadas con *Rhizobium sp.* en 4.10 días. El resultado logrado manifiesta que se debe al desprendimiento de la nitrogenasa en el suelo, la cual hace activar a los almidones de la semilla, activándose en forma rápida y germinando la semilla en menor tiempo.

Así mismo, Wang (2017), coincide también con lo logrado en la investigación, quien obtuvo germinar semillas de frejol impregnadas con *Rhizobium sp.* en 4.8 días. El resultado logrado remarca que se debe a la inducción de la nitrogenasa en los almidones de la semilla acelerando la germinación de la misma en corto periodo.

4.3. Determinar cantidad nódulos/planta a través colecta e inoculación de *Rhizobium sp* asociados raíces de *Phaseolus vulgaris* (Frejol) en suelo entisol Nueva Requena - Pucallpa.

En el Cuadro 11, mostramos el promedio de la cantidad de nódulos por tratamiento, teniendo como resultado que el tratamiento 1 (Sin Rizhobium) no obtuvo ningún resultado, mientras que el tratamiento 2 (con rizhobium) obtuvo 26 nódulos respectivamente. (Figura 5

Cuadro 11. Estadísticas de grupo cantidad de nódulos/planta

Tratamientos	N	Media	Desviación	Desv. Error promedio
Sin Rizhobium sp (Testigo)	4	0.00	0.00	0.00
Con Rizhobium sp	4	26.25	4.65	2.32

Fuente: Elaboración propia.

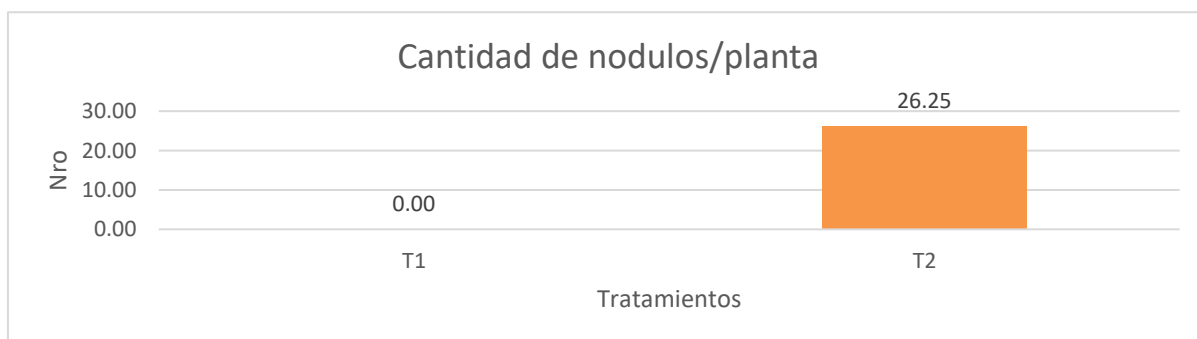


Figura 5. Promedio cantidad nódulos/planta

Fuente: Elaboración propia.

En Cuadro 12, enmarcamos la prueba t student para muestras independientes donde observamos diferencias significativas entre tratamientos a un nivel confianza 95%.

Cuadro 12. Prueba de muestras independientes de cantidad nódulos/planta

Fuente variabilidad	Prueba de Levene de igualdad varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo confianza diferencia	
								Inferior	Superior
Asumimos varianzas iguales	19.85	0.00	-11.30	6.00	0.00	-26.25	2.32	-31.93	-20.57
No se asumen varianzas iguales			-11.30	3.00	0.00	-26.25	2.32	-33.64	-18.86

Fuente: Elaboración propia.

En los Cuadros 11, 12 y Figura 5, se pueden observar que el tratamiento 2 con *Rhizobium sp.* tuvo mejores resultados que el tratamiento 1 sin *Rhizobium sp.*, donde se observan que en el tratamiento 2 con *Rhizobium sp.* se logró obtener 26.25 nódulos/planta, con relación al tratamiento sin *Rhizobium sp.* donde no hubo producción de nódulos/planta. El resultado obtenido se debe a la producción de la enzima nitrogenasa que expulsa la bacteria de *Rhizobium sp.* al suelo, estas se adhieren en la pared de las raíces, desarrollándose y produciendo el nitrógeno que la planta necesita para su alimentación.

Lo obtenido en estudio, concuerdan con lo logrado por Guevara (2018), quien obtuvo trabajando en parcelas de frejol regional con *Rhizobium sp.* 24 nódulos/planta. El resultado obtenido manifiesta que se debe a la enzima nitrogenasa que son las encargadas de la formación y desarrollo de bacterias *Rhizobium sp.* que estimulan producción de nitrógeno para ser asimiladas por la planta.

También Gibson (2018), coincide con los resultados obtenidos trabajando con frejol regional inoculadas con bacterias *Rhizobium sp.*, logró obtener 23 nódulos/planta. El resultado manifiesta que se debe a la actividad fotosintética de la planta, donde se producen la mayor cantidad de enzimas nitrogenasa que favorecen la formación de las bacterias asimiladoras y productoras de nitrógeno esenciales para la planta.

De igual manera Geurts *et al* (2018), coinciden con nuestra investigación, trabajando con bacterias de *Rhizobium sp.* inoculadas con semillas de frejol, logró obtener 23 nódulos/planta. El resultado enmarca que se debe a la producción de la nitrogenasa que es el elemento esencial en la formación y tamaño de los nódulos, portadoras del nitrógeno

asimilable por la planta.

4.4. Determinar cantidad vainas, tamaño y peso/planta a través colecta e inoculación de *Rhizobium sp* asociados raíces de *Phaseolus vulgaris* (Frejol) en suelo entisol de Nueva Requena - Pucallpa.

4.4.1. Cantidad de vainas/planta

En el Cuadro 13, se muestra los promedios del número de vainas/planta teniendo al tratamiento 2 con mejor resultado con 43.25 vainas, con una desviación estándar de 4.03 con respecto al tratamiento 1 con 37.25 vainas con una desviación estándar de 2.5 respectivamente. (Ver Figura 6).

Cuadro 13. Estadísticas de grupo de cantidad de vainas/planta

Tratamientos	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
Sin Rizhobium sp (Testigo)	4	37.25	2.50	1.25
Con Rizhobium sp	4	43.25	4.03	2.02

Fuente: Elaboración propia.

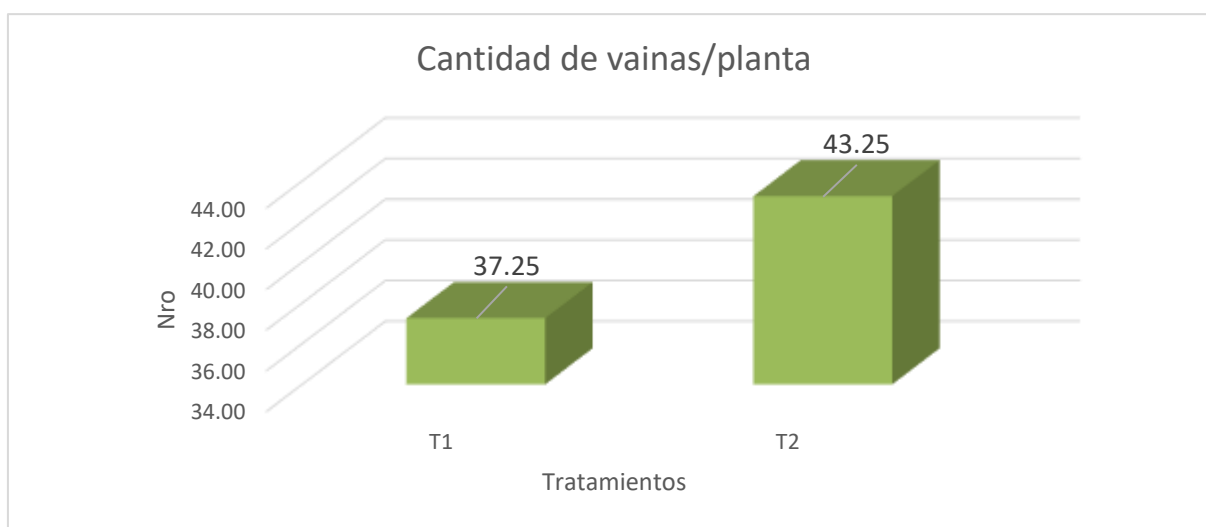


Figura 6. Promedio cantidad vainas/planta

Fuente: Elaboración propia.

Aplicamos la prueba t student para muestras independientes a cantidad vainas/planta evidenciando que existen diferencias entre tratamientos a nivel confianza 95%. (Ver Cuadro 14).

Cuadro 14. Prueba muestras independientes cantidad vainas/planta

Fuente variabilidad	Prueba Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo de confianza diferencia	
								Inferior	Superior
Asumimos varianzas iguales	2.08	0.20	-2.53	6.00	0.04	-6.00	2.37	-11.80	-0.20
No se asumen varianzas iguales			-2.53	5.01	0.05	-6.00	2.37	-12.09	0.09

Fuente: Elaboración propia.

Existe relación entre la cantidad de vainas y el rendimiento con un 88.7% a nivel de significancia del 1%, lo que indica a mayor cantidad de vainas mayor rendimiento. (Ver Cuadro 15).

Cuadro 15: Correlaciones entre cantidad de vainas/planta y rendimiento

Fuente de variabilidad	Nro de vainas/planta	Rendimiento (kg/ha)
Correlación Pearson	1	,887**
Sig. (bilateral)		0.003
N	8	8
Correlación Pearson	,887**	1
Sig. (bilateral)	0.003	
N	8	8

** . La correlación significativa nivel 0,01 (bilateral).

En los Cuadros 13, 14, 15, Figura 6, se pueden observar que el tratamiento 2 con inoculación de *Rhizobium sp.* la cantidad de vainas fue mayor de 43.25 y en las parcelas sin *Rhizobium sp.* fue menor de 37.25. El resultado obtenido se debe a que durante la fase simbiótica entre planta y *Rhizobium sp.* durante el proceso fotosintético se induce la formación de la enzima nitrogenasa, la misma que se encarga de la producción de vainas en la planta, siendo a mayor cantidad de nódulos mayor cantidad de vainas.

Lo encontrado en la investigación, coinciden con Wang (2018), quien logró obtener trabajando con inoculación de bacterias de *Rhizobium sp.* en frejol regional de 40.82

vainas/planta. Enmarca que el resultado se debe a la actividad inducida de la enzima nitrogenasa al tomar posesión en las raíces, inducen mayor cantidad de nitrógeno a la planta, logrando la aparición en mayor cantidad de vainas.

Así mismo lo obtenido en la investigación, coinciden con lo obtenido por Villanueva (2019), quien obtuvo 36 vainas/planta en parcelas de frejol inoculadas con *Rhizobium sp.* El resultado encontrado manifiesta que se debe a la actividad de la enzima nitrogenasa que activa las células de la planta incentivando la formación de la vaina de frejol.

También los resultados obtenidos coinciden con Lloret *et al* (2018) quien obtuvo 33 vainas/planta en tratamientos de parcelas con *Rhizobium sp.* El resultado manifiesta que se debe a la inducción de la leghemoglobina producida por la nitrogenasa, que recorre las distintas partes de la planta para depositarse en los nódulos y permitir la apertura de mayor cantidad de vainas/planta.

4.4.2. Tamaño de vainas/planta

En Cuadro 16, mostramos el tamaño vainas/planta, donde observamos con respecto al tamaño de vainas/planta que el tratamiento 2 (con *Rizhobium sp.*) obtuvo mejor resultado en tamaño, con 16.50 cm, con una desviación estandar de 0.98 contra el tratamiento 1 que obtuvo un tamaño de 13.48 cm, con una desviación estándar de 0.84 respectivamente (Ver Cuadro 16 y Figura 7).

Cuadro 16. Estadísticas de grupo de tamaño de vainas/planta

Tratamientos	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
Sin Rizhobium sp (Testigo)	4	13.48	0.84	0.42
Con Rizhobium sp	4	16.50	0.98	0.49

Fuente: Elaboración propia.

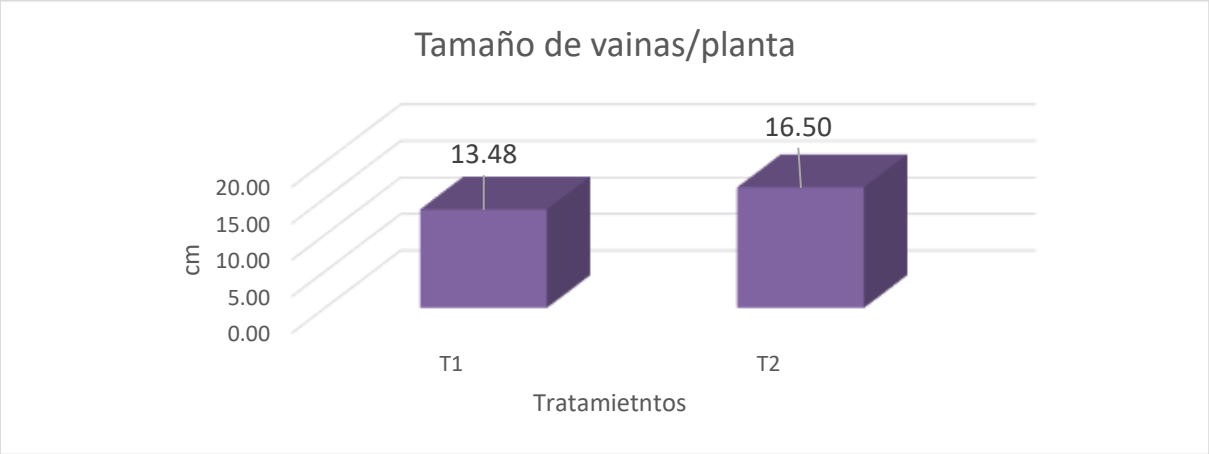


Figura 7. Promedio de tamaño vaina/planta

Fuente: Elaboración propia.

El Cuadro 17, mostramos la prueba t de muestras independientes en la cual evidenciamos que existen diferencias significativas entre tratamientos a nivel confianza del 95%.

Cuadro 17. Prueba de muestras independientes de tamaño de vaina/planta

Fuente variabili dad	Prueba Levene igualdad varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilater al)	Diferenci a de medias	Diferenci a de error estándar	95% intervalo confianza diferencia	
								Inferio r	Superio r
Asumimo s varianza s iguales	0.01	0.93	-4.69	6.00	0.00	-3.03	0.64	-4.60	-1.45
No se asumen varianza s iguales			-4.69	5.87	0.00	-3.03	0.64	-4.61	-1.44

Fuente: Elaboración propia.

En Cuadro 18, mostramos que existe relación significativa y positiva de un 92.9% entre el tamaño de vaina/planta y el rendimiento a un nivel significancia 1%, el cual indica que a mayor número de vainas mayor rendimiento. (Ver Cuadro 18)

Cuadro 18. Correlaciones entre tamaño de vaina/planta y Rendimiento

Fuente de variabilidad	Tamaño de vaina/planta	Rendimiento (k/ha)
Correlación Pearson	1	,929**
Sig. (bilateral)		0.001
N	8	8
Correlación de Pearson	,929**	1
Sig. (bilateral)	0.001	
N	8	8

** La correlación significativa nivel 0,01 (bilateral).

Fuente: Elaboración propia.

En los Cuadros 16, 17, 18 y Figura 7, se pueden observar que el tratamiento 2 con inoculación de *Rhizobium sp.* se comportó mejor que el tratamiento 1 sin inoculación de *Rhizobium sp.*, logrando obtenerse 16.50 cm/vaina con *Rhizobium sp.* y 13.48 cm/vaina sin *Rhizobium sp.* El resultado obtenido es porque las bacterias *Rhizobium sp.* contienen una enzima llamada nitrogenasa que es la encargada de la elongación de la vaina, apoyados por los elementos presentes en el suelo como fósforo y potasio, quienes a través de la nitrogenasa recorren todo el sistema de la planta a través de la leghemoglobina produciendo la mayor elongación de las vainas/planta.

Lo obtenido en el estudio coincide con Montilla (2018), quien logró obtener 15.30 cm/vaina en parcelas impregnadas de frejol con *Rhizobium sp.* Enmarca que el resultado se debe al

recorrido de la leghemoglobina por todas las células de la planta, los cuales inducen la elongación de las vainas de la planta de frejol.

También los resultados logrados en el estudio, coinciden con Díaz (2017), quien obtuvo 14.80 cm/vaina de frejol. El resultado obtenido se debe a la fase de fotosíntesis que promueve la actividad de recorrido de la leghemoglobina acumulándose en mayor cantidad en las vainas produciendo la mayor elongación.

Así mismo lo encontrado en el estudio, coinciden con Martínez (2019), quien logró obtener vainas de frejol con tamaño 14.78 cm. El resultado logrado enmarca que se debe a la actividad de enzimas concentradas en la nitrogenasa que albergan los nódulos en las raíces favoreciendo la elongación de la vaina de frejol.

4.5. Determinar cantidad vainas, tamaño y peso/planta a través colecta e inoculación de *Rhizobium* sp asociados raíces de *Phaseolus vulgaris* (Frejol) en suelo entisol de Nueva Requena - Pucallpa.

En el Cuadro 19 y Figura 8, se muestran que el tratamiento 2 (con *Rizhobium*) fue el que obtuvo mayor peso de vaina/planta con 5.83 gr con una desviación estándar del 0.34, mientras que el tratamiento 1 (sin *Rhizobium*) tuvo 4.10 g con una desviación estándar de 0.22 g. Ver Cuadro 19 y Figura 8).

Cuadro 19. Estadísticas de grupo de peso de vaina/planta

Tratamientos	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
Sin <i>Rizhobium</i> sp (Testigo)	4	4.10	0.22	0.11
Con <i>Rizhobium</i> sp	4	5.83	0.34	0.17

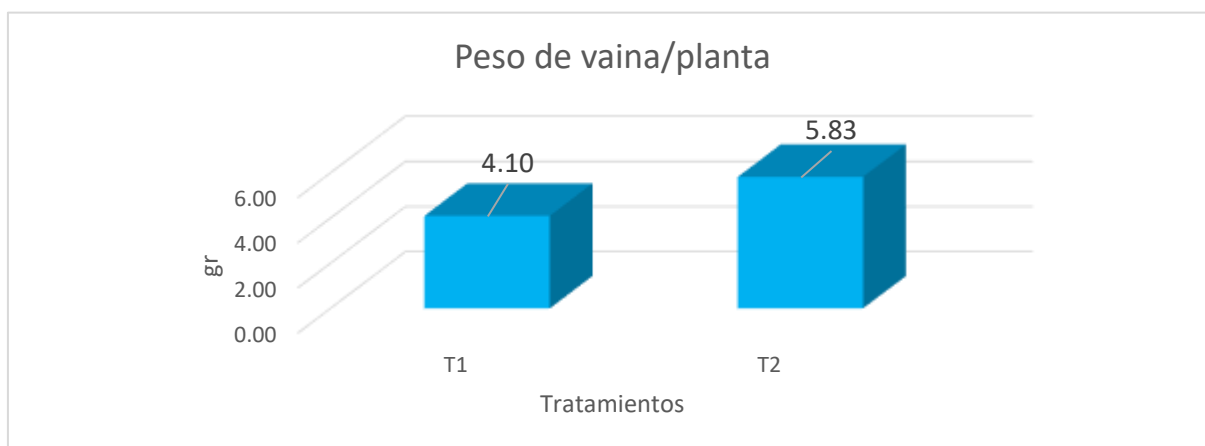


Figura 8: Promedio peso vaina/planta

Fuente: Elaboración propia.

En Cuadro 20, observamos la prueba t student de muestras independientes en la cual se evidencia la diferencia significativa entre tratamientos a nivel confianza 95%.

Cuadro 20. Prueba muestras independientes peso vaina/planta

Fuente variabilidad	Prueba Levene igualdad varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% intervalo confianza diferencia	
								Inferior	Superior
Asumimos varianzas iguales	0.53	0.49	-8.56	6.00	0.00	-1.73	0.20	-2.22	-1.23
No se asumen varianzas iguales			-8.56	5.08	0.00	-1.73	0.20	-2.24	-1.21

Fuente: Elaboración propia.

En el Cuadro 21, mostramos la relación que existe entre el peso de vaina/planta y el rendimiento con 95% a un nivel de significancia del 1%, es decir a mayor número de vaina mayor rendimiento.

Cuadro 21. Correlaciones entre pgeso de vaina/planta y rendimiento

Fuente de variabilidad	Peso de vaina/planta	Rendimiento (k/ha)
Correlación de Pearson	1	,950**
Sig. (bilateral)		0.000
N	8	8
Correlación Pearson	,950**	1
Sig. (bilateral)	0.000	
N	8	8

** La correlación significativa nivel 0,01 (bilateral).

Fuente: Elaboración propia.

En los Cuadros 19, 20, 21, Figura 8, observamos que el tratamiento 2 con inoculación de *Rhizibium sp.* obtuvo mayor peso/vaina de frejol de 5.83 g con relación al tratamiento 1 que fue menor de 4.10 g. El resultado obtenido se debe a la concentración adecuada de fósforo y potasio en el suelo como a la actividad de la nitrogenasa que se encuentra concentrada en los nódulos de las raíces, las cuales fabrican nitrógeno para que la planta asimile el nitrógeno, al asimilar el nitrógeno es transportada por la planta por todo el torrente de la leghemoglobina que contiene cantidades adecuadas de oxígeno los cuales hacen que las vainas de frejol se formen y adquieran mayor peso en el ambiente controlado por la nitrogenasa.

Los resultados obtenidos, coinciden con Santillana *et al* (2017). Logró obtener 5.06 g/vaina de frejol con semillas inducidas con *Rhizobium sp*. El resultado logrado se debe a la actividad continua de la nitrogenasa presentes en nódulos de raíces de plantas, los cuales influyen en el llenado de las vainas adquiriendo mayor peso.

También los resultados obtenidos, coinciden con Valladolid (2017), logró obtener 5.32 g/vaina de frejol, induciendo a las semillas de frejol con *Rhizobium sp*. El resultado encontrado manifiesta que se debe a la acción conjunta de la nitrogenasa presentes en las vainas de del frejol, los cuales influyen en el mayor peso de vainas/planta.

De igual manera los resultados obtenidos, coinciden con lo logrado por Rojas (2018), quien logró obtener 5.22 g/vaina de frejol, utilizando semillas impregnadas con *Rhizobium sp*. El resultado encontrado manifiesta que se debe al flujo existente de fósforo y potasio en el suelo natural, que son asimilados por lo nódulos a través de la enzima nitrogenasa, los cuales favorecen el mayor llenado de las vainas, acelerando la producción de nitrógeno que conllevan al mayor peso de las vainas de la planta.

4.6. Determinar rendimiento vainas /planta a través colecta e inoculación de *Rhizobium sp* asociados raíces de *Phaseolus vulgaris* (Frejol) en suelo entisol de Nueva Requena - Pucallpa.

En el Cuadro 22, se muestra el rendimiento promedio (kg/ha) de tratamientos, siendo el tratamiento 2 (con *Rizhobium sp*) obtuvo mejor resultado con 2,510 kg/ha, con una desviación estándar de 174.18, con respecto al tratamiento 1 (sin *Rizhobium sp*) que solo obtuvo 1,523.50 kg/ha, con una desviación estándar de 22.20 respectivamente. (Ver Figura 9).

Cuadro 22. Estadísticas de grupo rendimiento

Tratamientos	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
Sin Rizhobium sp (Testigo)	4	1523.50	44.403	22.20
Con Rizhobium sp	4	2510.00	348.359	174.18

Fuente: Elaboración propia.

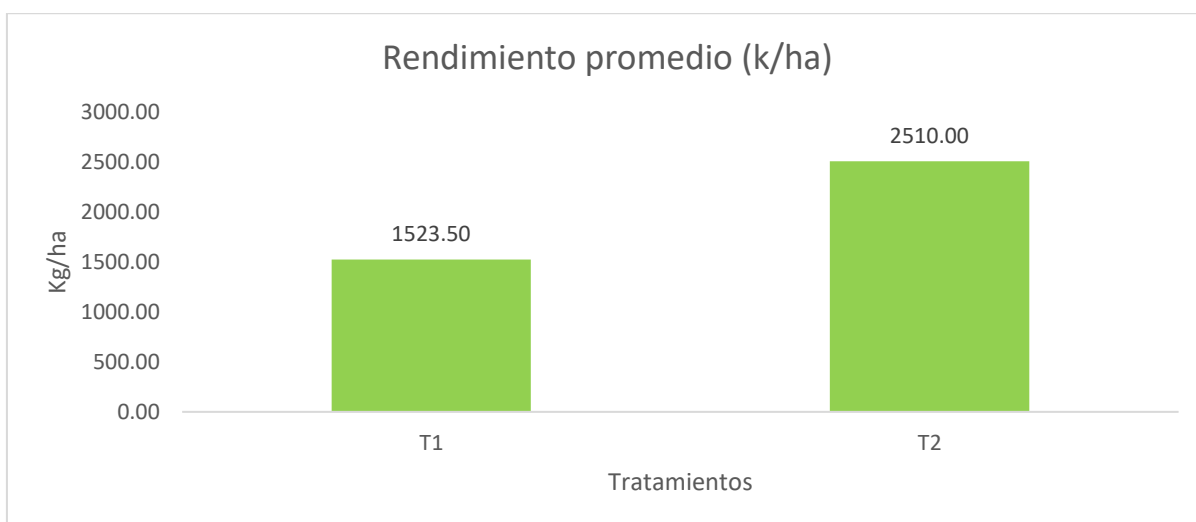


Figura 9: Rendimiento promedio por tratamiento

Fuente: elaboración propia.

En Cuadro 23, observamos la prueba t student para muestras independientes evidenciándose que existe diferencia significativa entre tratamientos a nivel confianza 95%.

Cuadro 23. Prueba de muestras independientes del rendimiento (k/ha)

Fuente variabilidad	Prueba Levene igualdad varianzas		prueba t para la igualdad de medias					95% intervalo confianza diferencia	
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilate ral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	Inferior	Superio r
Asumimos varianzas iguales	123.071	0.000	-5.62	6.00	0.00	-986.50	175.59	1416.15	-556.85
No se asumen varianzas iguales			-5.62	3.10	0.01	-986.50	175.59	-1535.49	-437.51

Fuente: Elaboración propia.

En los Cuadros 22, 23 y Figura 9, se muestran los rendimientos en los tratamientos sin *Rhizobium sp* y con *Rhizobium sp.*, donde se observan que el tratamiento 2 (con *Rhizobium sp*) fue el que dio mejor rendimiento de 2,510 k/ha con respecto al tratamiento 1 (sin *Rhizobium sp*) que fue menor de 1,523.50 k/ha. Los resultados obtenidos de obtener mayor rendimiento en el tratamiento 2 con *Rhizobium sp.* se debe a que la enzima nitrogenasa se deposita en los nódulos de las raíces en mayor cantidad activando producción de nitrógeno en cantidades altas durante la fase de llenado de los granos de las vainas, influyendo en el mayor rendimiento.

Lo obtenido coinciden con Cuadrado *et al* (2019), logró obtener 2,180 k/ha, trabajando con frejol impregnadas con *Rhizobium sp.* El resultado enmarca que se debe a la acción de los

elementos como fósforo y potasio en el suelo que activan a la nitrogenasa contenidos en los nódulos de las raíces, propiciando el mayor rendimiento y la mayor producción de nitrógeno elemento importante para la planta.

También lo encontrado en el estudio, coinciden con Faiguenbaum y Romero (2019), logró obtener 2,340 k/ha de frejol regional trabajando en parcelas con frejol regional impregnadas con *Rhizobium sp.* El resultado enmarca que se debe a la acción de la nitrogenasa depositada en los nódulos de las raíces que propician la producción de nitrógeno, el cual conlleva a un mayor rendimiento.

Los resultados obtenidos, concuerdan con Wang *et al* (2018), logró obtener 2,400 k/ha de frejol regional con semillas impregnadas con *Rhizobium sp.* Los resultados obtenidos enmarcan que se debe a que la nitrogenasa permanece constantemente recorriendo las distintas partes de la planta, concentrándose en mayor cantidad en época de fructificación favoreciendo el llenado de frutos y favorecer un mayor rendimiento.

V. CONCLUSIONES

De acuerdo con el análisis de los resultados y objetivos planteados se llegó a las siguientes conclusiones:

- Se logró obtener mayor porcentaje de germinación de *Phaseolus vulgaris* (frejol) en el tratamiento con presencia de inoculación de *Rhizobium sp* de 95.50 %, en relación con el tratamiento sin la presencia de inoculación de 87.75 % que fue menor.
- Se logró obtener menor tiempo de germinación de *Phaseolus vulgaris* (frejol) en el tratamiento con presencia de inoculación de *Rhizobium sp* de 4 días, en relación con el tratamiento sin la presencia de inoculación de 5.50 días que fue menor.
- Se logró obtener mayor cantidad de nódulos de *Phaseolus vulgaris* (frejol) en el tratamiento con presencia de inoculación de *Rhizobium sp* de 26.25/planta, en relación con el tratamiento sin la presencia de inoculación de 0.0.
- Se logró obtener mayor cantidad de vainas/planta de *Phaseolus vulgaris* (frejol) en el tratamiento con presencia de inoculación de *Rhizobium sp* de 42.25, en relación con el tratamiento sin la presencia de inoculación de 37.25 que fue menor. De igual manera se logró el mayor tamaño de vainas/planta en el tratamiento con presencia de inoculación de *Rhizobium sp* de 16.50 cm, en relación con el tratamiento sin la presencia de inoculación de 13.48 cm, que fue menor.
- Se logró obtener mayor peso/vaina de *Phaseolus vulgaris* (frejol) en el tratamiento con presencia de inoculación de *Rhizobium sp* de 5.83 g, en relación con el tratamiento sin la presencia de inoculación de 4.10 g que fue menor.
- Se logró obtener mayor rendimiento de *Phaseolus vulgaris* (frejol) en el tratamiento con presencia de inoculación de *Rhizobium sp* de 2,510 k/ha, en relación con el tratamiento sin la presencia de inoculación de 1,523.50 k/ha, que fue menor.

VI. RECOMENDACIONES

De acuerdo con las evaluaciones y datos obtenidos se recomienda lo siguiente:

- Para obtener mayor rendimiento en *Phaseolus vulgaris* (frejol), es necesario realizar la colecta e inoculación de *Rhizobium sp.* asociadas a las raíces de la planta, porque la simbiosis producida, adiciona nitrógeno al suelo influyendo en el mayor rendimiento.
- Se podría realizar investigaciones con la utilización de bacterias *Rhizobium sp* asociadas a raíces de otros cultivos en diferentes tiempos de inmersión tanto en suelos entisoles (suelos bajos) como en suelos ultisoles (suelos de altura).
- Se podría realizar investigaciones con la utilización de bacterias *Rhizobium sp* asociadas a raíces de otros cultivos con diferentes tamaños de nodulación.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- BIOFAG. 2019. Evaluación de un biofertilizante (*Azotobacter* y *Rhizobium*).
- Calero, H.A; Pérez, D.Y; Quinteros, R.E; Oliveira, V.D. Peña, C.K. 2019. Efecto de la aplicación asociada entre *Rhizobium leguminosarum* y microorganismos eficientes sobre la producción del frejol común. Artículo de Investigación Científica y Tecnológica:1 ed. Manejo de sistemas productivos. ISSN 0122-4796 N° 2500-5308.205. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Colombia.
- Link: <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v20n2/0122-8706-ccta-20-02-00295.pdf>
- Carranza, C. 2019. Tesis para optar el título de Química biológica "Aislamiento e identificación de cepas nativas de *rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*, de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) cultivado en los departamentos de Jutiapa y Chimaltenango. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala. 58 p.
- CIAT. 2021. El cultivo de *Phaseolus vulgaris* (frijol). Cali, Colombia.
- Cudrado. B, Rubio. G, Santos. W. 2019. Caracterización de cepas de *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (con capacidad de nodulación) seleccionados de un cultivo de Frijol caupi (*Vigna unguiculata*) como bioin+oculos potenciales.
- Debouch, G, Hidalgo, R. 2019. Morfología de la planta de frijol. Cali, CIAT. En frijol: Investigación y producción. Compilado y editado por Marceliano López, Fernando Fernández y Aart van Schoonhoven. 417 p.
- Díaz, A. CA. 2017. Aislamiento, caracterización y selección de rhizobia autóctonos que nodulan habichuela roja (*Phaseolus vulgaris* L.), en la República Dominicana. (Tesis Doctoral). Universidad de León. Departamento de ingeniería y ciencias agrarias. Instituto de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Biodiversidad. Disponible en: <http://www.tdx.cat/handle/10803/79018>.
- Faiguenbaum, H, Romero, L. 2019. Efecto del tamaño de semilla sobre la germinación, vigor y crecimiento de las plantas en un cultivar de frijol. Santiago de Chile. Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía. Ciencia e Investigación Agraria vol 16 N1 3 N1. p: 123-128.
- Geurts, R, Fedorova, E, Bisseling, T. 2018. Nod factor signaling genes and their function in the early stages of *Rhizobium* infection. *Curr Opin Plant Biol* 8, p. 346-352.
- Gibson, K. 2018. Molecular Determinants of a Symbiotic Chronic Infection. *Ann Rev. Gen* 42,p. 413-441.
- Link: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18983260/>
- Goicochea, D. 2019. Efecto de la aplicación de cuatro dosis de fertilizante orgánico enriquecido con microorganismos eficientes (Ferti Em) en el rendimiento de grano seco del frijol trepador (*Phaseolus vulgaris*) variedad Huasca Poroto en el distrito de Lamas.

Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de San Martín Tarapoto. 78p.

Google earth (Sistema Nacional Información Geográfica). 2021.

Guamán, F. 2020. Aislamiento y caracterización de Rizobios de *Crotalaria* sp en el Sur de Ecuador. Cultivos tropicales. Vol 37. P del 40-47.

Link: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362016000100006

Guevara, J. 2018. Efecto de cinco dosis de *bionutriente líquido (Strong-phos)* en el rendimiento del cultivo de *caupí (Vigna unguiculata* L. Walp), en el fundo Miraflores – UNSM-T Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de San Martín. Tarapoto. 83p.

Hernández, R. 2014. Metodología de la Investigación: Población y muestra. 2 ed. México D.F, México, Investigación Metodológica. 342 p. (Serie, Investigaciones estadísticas).

https://www.esup.edu.pe/descargas/dep_investigacion/Metodologia%20de%20la%20investigaci%C3%B3n%205ta%20Edici%C3%B3n.pdf.

Huamán, P.E. 2019. Influencia de dos fuentes de materia orgánica enriquecidas con microorganismos eficientes en la producción de frejol; Sustratos: Aplicación de materia orgánica. 1 ed. Pucallpa, Perú. Universidad Nacional Ucayali. 81 p.

Link:http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/4201/UNU_AGRONOMIA_2020_T_ESTHER-HUAMAN.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Lodwig, E, Poole, P. 2019. Metabolism of *Rhizobium* bacteroids. Ed. 2. Crit Rev Plant Sci 22, 37-38.

Lloret, L. y Martínez-Romero, E. 2018. Evolución y filogenia de *Rhizobium*. Revista Latinoamericana de Microbiología 47, 43 - 60.

Martínez, E. 2019. Poblaciones de *Rhizobia* nativas de México. Centro de investigación sobre la fijación de nitrógeno, UNAM. Edición actualizada. Cuernavaca, Morelos, México.

Link: <http://www.acuedi.org/ddata/2220.pdf>

Montilla, J. 2018. Determinación de niveles de fertilización fosfórica en el rendimiento del frijol *caupí (Vigna unguiculata* L. Walp) en el sector de Fananga-Cuñumbuque. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de San Martín Tarapoto. 69p.

Montenegro, Y. 2017. Efecto de dos distancias de siembra y dos dosis de algas marinas, en el cultivo de frijol *caupí (Vigna unguiculata* L.). Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Guayaquil. 85p.

Osorio, J. A. 2017. El cultivo del maní. Posibilidad de su producción a partir de la ficha de costo. Trabajo de Diploma. Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas. 2da. versión. Departamento de Economía. p 26.

Pincay, V. 2018. Estudio de fertilización edáfica y foliar en tres variedades de frejol *caupí*

- (*Vigna unguiculata* L.). Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Guayaquil. Guayaquil. 59p.
- Rojas, D. 2018. Tesis: Estandarización de un medio de cultivo complejo para la multiplicación de la Cepa C50 de *Rhizobium* sp. Universidad Pontificia Javeriana. Bogota, Colombia. 122 p.
- Saldarriaga, M. 2017. Efecto de la posición de siembra dentro del surco en tres variedades de frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp) Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Piura. 100p.
- Santillana, N, Arellano, C, Zuñiga, D, 2017. Capacidad del *Rhizobium* de promover el crecimiento en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller). Departamento Académico de Biología. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima – Perú.
- Sathe, S. K. 2018. Dry bean protein functionality. *Crit Rev Biotechnol* 22, 175-223.
- Sawada, H, Kuykendall, LD, Young, JM 2019. Changing concepts in the systematics of bacterial nitrogen-fixing legume symbionts». *J. Gen. Appl. Microbiol.* **49** (3): 155-79. [PMID 12949698](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/312949698/). Link: <http://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista/article/view/131>
- SENAMHI (Servicio Nacional Meteorología e Hidrología). 2021.
- Tjalling, H.H. 2017. Guía de manejo Nutricional Vegetal de Especialidad Tomate: Siembra. 1 ed. Australia. Universidad de Adelaida. 84 p.
- Link: http://www.sqm-vitas.com/Portals/0/pdf/cropKits/SQM-Crop_Kit_Tomato_L-ES.pdf
- Torres, C. 2017. Caracterización sintomatológica del exceso de micronutrientes (Fe, B, Mn, Mo, Zn y CU) a partir de los 45 días del transplante del cultivo de ají charapita (*Capsicum frutescens*) en una solución nutritiva de Pucallpa. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Ucayali. Pucallpa. Perú. 86 p.
- Valladolid, Ch. A. 2017. El cultivo de frejol (*Phaseolus vulgaris* L) en la Costa de Perú. Lima, Perú. 85 p.
- Vargas de Rozo, E. 2018. Aspectos microbiológicos de la fijación simbiótica del nitrógeno por el *Rhizobium*. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Bogotá- Colombia. 3ra ed. 198 pp.
- Velázquez, E; Peix, A; Silva, L. R. 2017. Legumes: a healthy and ecological source of flavonoids. *Curr Nutr Food Sci* 6, 109-144.
- Link: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6605017/>
- Villafuerte, P. MA. 2021. Colecta e inoculación de *Rhizobium* sp asociadas a raíces de *Lycopersicon esculentum* (tomate) en un suelo entisol de Pucallpa. Pucallpa, Perú. Universidad Nacional Intercultural Amazonía. Tesis de pregrado. 83 p.
- Villanueva, E y Quintana, A. 2019. Aislamiento y selección de bacterias nativas de rizobios fijadores de nitrógeno, a partir de nódulos radiculares de *Phaseolus vulgaris*. Revista Científica de la Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.

Link:///C:/Users/JUAN%20PEREZ/Downloads/659-

Texto%20del%20art%C3%ADculo-2773-1-10-20170530%20(4).pdf

Wang, T, Martínez, R. J, López, L.I. 2018. *Rhizobium* y su destacada simbiosis con platas. México, México. Universidad Autonoma de México. 14 p.

Zamora, E. 2017. Evaluación del comportamiento agronómico de 15 cultivares de Fréjol Caupí (*Vigna unguiculata* L.) Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Guayaquil. 74p

Zúñiga, D. 2017. Manual de Microbiología Agrícola: *Rhizobium*, PGPRs, Indicadores de Fertilidad e Inocuidad 2 ed. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina. Ed. Olaya M.Lima-Perú. 111 p. (Serie, Manual Técnico).

VIII. ANEXOS

8.1. ICONOGRAFIA DEL DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN

8.1.1. Colecta de *Rhizobium* sp. de una plantación de maní



Figura 10. Colecta de *Rhizobium* sp de plantas de *Arachis hypogea* (maní)



Figura 11. Extracción de plantas de maní.



Figura 12. Extracción de las vainas de maní de la planta

8.1.2. Extracción de los nódulos de las raíces de la planta de maní



Figura 13. Extracción de los nódulos de las raíces



Figura 14. Investigadora extrayendo los nódulos de las raíces.



Figura 15. Extracción con bisturí de nódulos de las raíces

8.1.3. Nódulos o cepas de *Rhizobium* sp. extraídos de las raíces



Figura 16. Nódulos extraídos para la trituración.



Figura 17. Colocación de los nódulos en envase para el lavado

8.1.4. Lavado de los nódulos o cepas



Figura 18. Lavado con agua de los nódulos



Figura 19. Lavado de los nódulos con alcohol de 96°



Figura 20. Lavado de los nódulos con peróxido de hidrógeno

8.1.5. Nódulos o cepas de *Rhizobium* sp. trituradas para el cultivo



Figura 21. Extracción del líquido lechoso de los nódulos triturados

8.1.6. Cultivo de las bacterias de *Rhizobium* sp.



Figura 22. Cultivo terminado con colonias de *Rhizobium* sp.

8.1.7. Siembra de las parcelas de frejol inoculadas con *Rhizobium* sp.



Figura 23. Plantas de frejol a 20 días de la siembra sin *Rhizobium* sp.



Figura 24. Parcelas de frejol a 20 días de la siembra con *Rhizobium* sp.



Figura 25. Investigadora en plena evaluación de las parcelas



Figura 26. Evaluación de las diferentes parcelas de frejol



Figura 27. Plantas de frejol inoculadas con *Rhizobium* sp.



Figura 28. Plantas de frejol sin inoculación de *Rhizobium* sp.



Figura 29. Evaluación de las parcelas sin *Rhizobium* sp.



Figura 30. Evaluación de las parcelas con *Rhizobium* sp.

8.1.8. Diferenciación de las parcelas de plantas sin y con *Rhizobium* sp.



Figura 31. Parcelas de frejol sin *Rhizobium* sp.



Figura 32. Parcelas de frejol con *Rhizobium* sp.

8.1.9. Cosecha manual de las parcelas de frejol



Figura 33. Cosecha de las parcelas sin *Rhizobium* sp.



Figura 34. Cosecha de las parcelas con *Rhizobium* sp.



Figura 35. Investigadora cosechando vainas de frejol



Figura 36. Cosecha de vainas de frejol en las parcelas con *Rhizobium* sp.

8.1.10. Evaluación de la cantidad de nódulos adheridas a las raíces de frejol



Figura 37. Investigadora en plena evaluación de la cantidad de nódulos en las raíces



Figura 38. Muestra de los nódulos de *Rhizobium sp* en raíces de frejol

8.1.11. Evaluación de la cantidad de vainas de frejol



Figura 39. Evaluación de la cantidad de vainas de frejol de plantas sin *Rhizobium sp*



Figura 40. Evaluación de cantidad de vainas de frejol de plantas con *Rhizobium* sp.

8.1.12. Evaluación del tamaño de vainas de frejol



Figura 41. Evaluación del tamaño de vainas de plantas de frejol sin *Rhizobium* sp



Figura 42. Evaluación del tamaño de vainas de plantas de frejol con *Rhizobium* sp

8.1.13. Peso de vainas de frejol



Figura 43. Evaluación del peso de vainas de frejol sin *Rhizobium* sp.



Figura 44. Evaluación del peso de vainas de frejol con *Rhizobium* sp.

8.1.14. Semillas de frejol cosechados



Figura 45. Frejol cosechado del experimento product