

## COMPORTAMIENTO DE CEPAS NATIVAS DE RIZOBIOS AISLADAS DE LA COSTA DEL PERÚ EN DOS CULTIVARES DE PALLAR (*Phaseolus lunatus* L.)

Gisella. Matos Cuzcano<sup>1</sup> y Doris. Zúñiga Dávila<sup>1</sup>

### Resumen

Se evaluó la eficiencia en la infectividad y efectividad de cepas de *Rhizobium* sp. PLC111, PLC213, PLB112b y PLA142a y de *Bradyrhizobium* sp. PLL113 y PLB211b a nivel de laboratorio e invernadero en dos variedades de pallar Criollo Iqueño e Ica 450. A nivel de invernadero, el peso seco de la parte aérea (PSPA) fue significativamente mejor en los tratamientos inoculados que en los controles. Respecto a la nodulación, se encontraron diferentes grados de infectividad, dependiendo del cultivar y de las cepas. Finalmente, las cepas PLL113 de *Bradyrhizobium* y PLC213 de *Rhizobium* presentaron un mejor comportamiento tanto a nivel de laboratorio como en invernadero.

**Palabras claves:** *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, efectividad, nodulación

### Abstract

The efficiency in the infectivity and the effectiveness of *Rhizobium* sp PLC111, PLC213, PLB112b and PLA142a strains and *Bradyrhizobium* sp. PLL113 y PLB211b strains at laboratory and greenhouse conditions in two Lima bean varieties (Criollo Iqueño and Ica 450) were evaluated. Under greenhouse conditions, the dry weight of the aerial part was found remarkably better in the inoculated treatments than in the controls. Regarding nodulation; different grades of infectivity depended on the Lima bean varieties and strains. Finally, PLL113 of *Bradyrhizobium* and PLC213 of *Rhizobium* strains had a better behaviour under laboratory and under greenhouse conditions.

**Key words:** *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, effectiveness, nodulation

### Introducción

El pallar es una leguminosa de grano de importancia en la alimentación humana debido a su apreciable valor nutritivo, alto contenido de proteínas y sabor muy agradable. El Perú, en particular la Costa, tiene condiciones agro-ecológicas favorables que incrementan significativamente la producción del pallar, tanto para satisfacer el consumo nacional como para disponer de una mayor oferta exportable (Vásquez, 1993). Además el Perú presenta un gran potencial genético en este cultivo pues este país es uno de sus centros de origen (Gutiérrez-Salgado *et al.*, 1995).

Criollo Iqueño es un cultivar tradicional que se encuentra ampliamente difundido en la Costa Central, especialmente en el departamento de Ica; es tardío, de 240 a 255 días de ciclo vegetativo; su hábito de crecimiento es rastrero indeterminado (Vásquez, 1993). En cambio, Ica 450 es un cultivar mejorado, su hábito de desarrollo se ha ampliado de Casma (Ancash) a Acarí (Arequipa), es bastante precoz (120 días de periodo vegetativo) y de crecimiento determinado o arbustivo (Vásquez, 1993).

Para obtener un buen rendimiento en el cultivo de las leguminosas es necesario utilizar fertilizantes químicos nitrogenados los cuales elevan los costos de producción afectando la economía del productor y del

consumidor. Una de las alternativas para disminuir estos costos es la utilización de inoculantes elaborados con bacterias fijadoras de nitrógeno de la familia *Rhizobiaceae*, comúnmente conocidas como rizobios. Estas bacterias, al establecer una relación simbiótica con las leguminosas, tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico y convertirlo en nitrógeno orgánico el cual puede ser utilizado por la planta.

En vista de que los reportes sobre estudios de la infectividad (inducción de nodulación) y efectividad simbiótica de cepas de rizobios en asociación con el cultivo de pallar son escasos a nivel nacional e internacional, se planteó la presente investigación con el fin de analizar las interacciones entre dos cultivares de pallar y cepas de rizobios aisladas de este cultivo.

### Materiales y métodos

#### Microorganismos y plantas

Se utilizaron las cepas PLC111, PLC213, PLB112b y PLA142a de *Rhizobium* sp. y PLL113 y PLB211b de *Bradyrhizobium* sp. aisladas de pallar (Matos-Cuzcano *et al.*, 1998) y pertenecientes a la colección del Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología "Marino Tabusso" de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Los cultivares de pallar Criollo Iqueño e Ica 450 fueron

<sup>1</sup> Laboratorio de Ecología Microbiana Y Biotecnología "Marino Tabusso", Universidad Nacional Agraria La Molina, Apartado Postal 456, Lima 1, Perú. Email: gmc@lamolina.edu.pe, dzuniga@lamolina.edu.pe

adquiridos en el Programa de Leguminosas de Grano de la UNALM.

#### Cultivo de microorganismos

Las cepas de rizobios fueron sembradas en frascos Roux que contenían 25 mL de agar extracto de levadura manitol (Vincent, 1970) en plano inclinado. Los cultivos se incubaron a 28° C por tres (cepas de *Rhizobium*) a seis (cepas de *Bradyrhizobium*) días hasta que alcanzaran la fase exponencial. Los inóculos se obtuvieron agregando solución salina (0,85 %) estéril a los frascos y realizando una suspensión homogénea de las bacterias. La concentración de los inóculos varió entre  $10^9$  y  $10^{10}$  UFC/mL.

#### Cultivo e inoculación de las plantas

Se desinfectaron las semillas de pallar sumergiéndolas en alcohol al 70% por 1 min. e hipoclorito de sodio al 1% por 4 min., luego se enjuagó con agua estéril repetidas veces hasta eliminar todo resto de desinfectante. Para el ensayo en laboratorio, las plantas crecieron en tubos de ensayo (25 × 150 mm) con agar Sandman (CIAT, 1988) en plano inclinado en una cámara de crecimiento con foto período de 12 h. En cada tubo se introdujo una semilla pregerminada y previamente seccionada a la mitad de sus cotiledones (por el tamaño grande de la semilla) (Foto 1). Se utilizó 10 tubos por tratamiento. Las plántulas se inocularon con 2 mL del cultivo de rizobio respectivo siete días después del trasplante (CIAT, 1988), los riegos se realizaron cada dos o tres días con solución Sandman diluida 1:4 (v:v).

En el ensayo de invernadero se utilizaron macetas conteniendo 2,25 Kg de una mezcla de suelo y arena en la proporción 3:2 (p:p). El suelo fue previamente tamizado a través de una malla 0,16 mm. Cada maceta fue sembrada con 4 semillas y después de una semana se ralearon dejando las dos más vigorosas. Se utilizó cinco macetas por tratamiento. En ese mismo momento se realizó la inoculación retirando cuidadosamente el suelo a nivel del cuello y agregando 2,5 mL del cultivo de *Rhizobium* a cada planta. Al control con nitrógeno se le agregó 200 mL de solución Sandman conteniendo 103,4 mg de urea por litro de solución (CIAT, 1988). Los riegos se efectuaron cada cuatro días con agua destilada estéril y cada siete días con solución Sandman diluida 1:4 (v:v). El ensayo de laboratorio duró 46 días y el de invernadero duró un mes en la variedad ICA 450 y dos meses y medio en la variedad Criollo Iqueño.

#### Evaluaciones, análisis y diseño experimental

Los variables evaluadas fueron longitud, peso seco y contenido de nitrógeno de la parte aérea; número de foliolos; y número y peso seco de nódulos. El peso seco se determinó luego de secar los materiales a 60° C por 48 h. El contenido de nitrógeno se cuantificó mediante la metodología Kjeldahl (AOAC, 1990). Se utilizó el criterio de Lalande *et al.* (1990) para clasificar las cepas en muy infectivas si el promedio

(x) del número de nódulos inducidos por ella fue mayor al promedio general (X) más la desviación estándar (S), infectivas si  $[(X+S) > x > (X-S)]$ , y no infectivas si  $x < (X-S)$ . Adicionalmente, los datos de nodulación se analizaron mediante las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis (Diseño Completo al Azar) y Friedman (Diseño Bloque Completo al Azar), y las medias se compararon mediante la prueba t (de Student). La longitud y peso seco de la parte aérea se analizaron mediante análisis de variancia en arreglo factorial para un diseño completo al azar en el caso del ensayo de laboratorio y para un diseño bloques al azar en el caso del ensayo de invernadero. En ambos casos las medias se compararon mediante la prueba t (de Student). En los casos relevantes se determinaron coeficientes de correlación (Calzada, 1982).

#### Resultados

##### Ensayo a nivel de laboratorio

El análisis estadístico del peso seco de la parte aérea (PSPA) reveló diferencias altamente significativas ( $\alpha = 0,01$ ) entre los dos cultivares de pallar. A pesar de que el PSPA de la mayoría de tratamientos inoculados con las cepas de rizobios fue mayor al de los controles, estas diferencias no fueron significativas (Tabla 1).

En la Tabla 2 se muestran las comparaciones del número de nódulos (ND) según el criterio de Lalande *et al.* (1990) y la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. En ambos casos se observaron tendencias similares. La cepa más infectiva en ambos cultivares fue PLB211b, mientras que entre las cepas infectivas se destacaron PLL113 en ambos cultivares y PLC213 en Ica 450. Al promediar el ND de todas las cepas se observó una marcada diferencia entre los cultivares, con Criollo Iqueño produciendo casi 2,5 veces más nódulos (Tabla 2) (Foto 2). Por otro lado, las cepas PLL113 y PLB211b fueron más precoces en comparación al resto de cepas ya que indujeron la formación de nódulos después de 4-5 días de inoculadas frente a los 15-21 días del resto.

Se obtuvieron correlaciones positivas entre el PSPA y la longitud de la parte aérea (LPA) de 0,73 y 0,71 para los cultivares Criollo Iqueño e Ica 450, respectivamente ( $\alpha=0,05$ ). Así mismo, el número de foliolos (NF) se correlacionó con el PSPA. Al graficar la LPA y el NF a través del tiempo se observó que la pendiente de crecimiento aumentó entre los 35 y 46 días en la mayoría de tratamientos inoculados. Coincidentemente, el ND también aumentó significativamente en ese mismo periodo (Figuras 1 y 2).

##### Ensayo a nivel de invernadero

El análisis de variancia del PSPA y LPA no reveló interacciones entre cultivares y tratamientos. Se observaron diferencias altamente significativas ( $\alpha =$

0,01) entre los cultivares y diferencias significativas entre los tratamientos (cepas y controles) ( $\alpha = 0,05$ ). En el cultivar Criollo Iqueño, la mayor LPA se observó en las plantas inoculadas con la cepa PLL113. Aunque todas las cepas incrementaron el PSPA por encima del control sin nitrógeno, no se observaron diferencias significativas con el control con nitrógeno (Tabla 3). En el cultivar Ica 450 las cepas PLL113 y PLC213 indujeron un mayor PSPA que los controles con y sin nitrógeno (Tabla 3).

Adicionalmente, la LPA fue significativamente mayor en las plantas inoculadas con las cepas PLL113, PLA142a, PLC111 y PLC213 en comparación al control sin nitrógeno (Tabla 3).

Los promedios del ND en ambos cultivares fueron menores a los obtenidos en el ensayo de laboratorio, sin embargo, al evaluar estos datos según el criterio de Lalande *et al.* (1990) y la prueba no paramétrica de Friedman, se observaron tendencias muy similares a las obtenidas en el ensayo de laboratorio (Tabla 4).

Todas las cepas fijaron nitrógeno atmosférico ya que el contenido de este elemento en las plantas inoculadas fue mayor al de las plantas del control sin nitrógeno. En el cultivar Criollo Iqueño las cepas PLL113, PLA142a, PLC213 y PLC111 fueron muy efectivas en la fijación ya que incrementaron hasta un 26,5% la cantidad de nitrógeno en comparación al control con nitrógeno (Figura 3a). En el cultivar Ica 450, todas las cepas fueron eficientes incrementando hasta un 48,4% el contenido de nitrógeno respecto al control con nitrógeno (Figura 3b).

## Discusión

Los escasos estudios sobre nodulación en pallar se han centrado sólo en el análisis de inoculación cruzada con otros hospederos del grupo del caupí, e incluso en la mayoría de estos se trabajó se utilizaron cepas aisladas de otras leguminosas que también podían nodular pallar (Thies *et al.*, 1991). Anteriormente se ha reportado el aislamiento y análisis fenotípico de cepas nativas aisladas de pallar, determinando que tanto cepas con características del género *Rhizobium* como de *Bradyrhizobium* nodulan esta leguminosa en Perú (Matos-Cuzcano *et al.*, 1998). En este estudio incluimos 6 de las cepas descritas anteriormente, analizando sus características simbióticas e interacción con dos cultivares de pallar.

Las semillas de los cultivares de pallar que utilizamos aquí son bastante más grandes en comparación a otras leguminosas como el frijol común o la soya (Vásquez, 1993). Esto explicaría el por qué no se observaron diferencias significativas en el PSPA en el ensayo de laboratorio. Las diferencias debidas a los tratamientos no pudieron expresarse debido a la gran cantidad de reservas presentes en los cotiledones que fueron suficientes para que las plantas alcanzaran el desarrollo máximo con el sistema de

cultivo empleado (tubos). Con otras leguminosas como el trébol, el frijol común o cultivares de pallar de grano pequeño es posible observar diferencias de crecimiento en plantas cultivadas en tubos de ensayo (CIAT, 1988; Beck *et al.*, 1993).

Kipe-Nolt *et al.* (1991) señalan que las cepas con nodulación precoz formarán mayor número de nódulos. En concordancia con esto, las cepas PLL113 y PLB211b indujeron la formación de nódulos con mayor rapidez y, en general, también fueron las más infectivas en ambos cultivares. Prevost (1987) refiere que las variaciones en la infectividad pueden considerarse como inherentes a la constitución genética de la cepas de rizobios. Las cepas PLL113 y PLB211b son de crecimiento lento y fenotípicamente muy diferentes al resto de cepas por lo que han sido asignadas al género *Bradyrhizobium* (Matos-Cuzcano *et al.*, 1998).

Caldwell (1969), Dazzo *et al.* (1978) y Dazzo (1980) relacionan la infectividad a algún grado de especificidad antigénica entre las cepas y las paredes celulares de la raíz del huésped. Todas las cepas analizadas aquí fueron aisladas del cultivar Criollo Iqueño y coincidentemente produjeron más nódulos en este cultivar, lo que sugiere que la especificidad podría darse también a nivel de cultivar.

El crecimiento de las plantas evaluado a través de su longitud y número de foliolos estuvo relacionado con la nodulación ya que la tasa de crecimiento de las plantas y el número de nódulos aumentaron en el mismo periodo (Figuras 1 y 2). Resultados similares han sido reportados por Luyo (1992) en frijol común. Más nódulos implicarían un aumento en la fijación de nitrógeno capaz de estimular el crecimiento. Por otro lado, una mayor área foliar ofrecería mayor de disponibilidad de fotosintatos para la fijación de nitrógeno (Orive y Temprano, 1983; Prevost *et al.*, 1987).

El PSPA puede ser utilizado como indicador de la eficiencia en la fijación de nitrógeno (CIAT, 1988; Lalande *et al.*, 1990). A nivel de laboratorio se observó un incremento no significativo en el PSPA en los tratamientos inoculados en comparación a los controles (Tabla 1), sin embargo, en invernadero las plantas tratadas con rizobios fueron significativamente mejores que los controles (Tabla 3). Resultados similares han sido reportados para diferentes cultivos por Antoun *et al.* (1986), Somasegaran *et al.* (1990), Luyo (1992) y van Rossum (1993).

En el presente trabajo se obtuvo que la fijación de nitrógeno aportó hasta un 76,8% del nitrógeno a la planta en el cultivar Criollo Iqueño y 76,2% en Ica 450. En comparación Lalande *et al.* (1990) indicaron que el 86% del nitrógeno presente en las plantas inoculadas provino de la fijación de nitrógeno.

Se podría asegurar que las cepas que no ofrecen resultados en experimentos de laboratorio resultarían

inadecuadas en el campo, por lo que es muy importante realizar ensayos de selección previos a su liberación como inoculantes. En estos ensayos se deben considerar todos los factores que permitirán un buen desempeño a nivel de campo. La nodulación temprana podría inducir un inicio más temprano de la fijación de nitrógeno (Pijnenborg & Lie, 1990). Stowers & Elkan (1980) postulan que una infectividad precoz podría superar el efecto de las cepas nativas no eficientes pues las cepas precoces serían más competitivas. Por otro lado, Zvietcovich y Morán (1991) señalan que una característica deseable es un espectro amplio de hospederos. Si bien en este estudio la mayoría de cepas tuvieron un buen comportamiento, las cepas PLL113 de *Bradyrhizobium* sp. y PLC213 de *Rhizobium* sp. se destacaron por ser las más estables en su infectividad y eficiencia simbióticas en ambos cultivares. En vista de ello se recomiendan como candidatas a ser utilizadas en ensayos de campo.

#### Literatura citada

- Antoun H., Pare T. & Joyal P. 1986. Effects de inoculation avec des souches du *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*, sur le rendement et la teneur en azote du haricot (*Phaseolus vulgaris*). Rev. Ecol. Syst. 113: 337-346.
- Association of Official Analytical Chemists. 1990. Nitrogen (total) (Crude Protein) in Plants. Kjeldahl Methods (AOAC 978.04) Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> Ed Vol I. Pag. 59.
- Beck D.P., Materon L.A. & Afandi F. 1993. Practical *Rhizobium*-Legume Technology Manual. Technical Manual N° 19. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA). Aleppo.
- Caldwell B. 1969. Initial competition of root nodule bacteria on soybean in a field environment. Agron. J. 61: 813-815.
- Calzada J. 1982. Métodos estadísticos para la investigación. Ed. Milagros. Lima.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 1988. Simbiosis Leguminosa-Rizobio. Manual de Métodos de Evaluación, Selección y Manejo Agronómico. Cali.
- Dazzo F., Yanke W. & Brill W. 1978. Trifolin: a *Rhizobium* recognition protein from white clover. Biochem. Biophys. Acta. 539: 276-286.
- Dazzo F. 1980. Determinants of host specificity in the *Rhizobium*-clover symbiosis. : 165-188. In: Nitrogen Fixation. Symbiotic Association and Cyanobacteria. N. Newton y W. Orane-Johnson (eds.). Ed. University Park Press. Baltimore.
- Gutiérrez-Salgado A., Gepts P. & Debouck D.G. 1995. Evidence for two gene pools of the Lima bean, *Phaseolus lunatus* L., in the Americas. Gen. Res. Crop Evol. 42: 15-28.
- Kipe-Nolt J., Montealegre J. y Tohme J. 1991. Restricción en la nodulación por parte de *Phaseolus vulgaris* L. para superar el problema de competencia en *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*. p. 59. En: RELEZA II. Segunda Reunión de Leguminosas de Grano de la Zona Andina. Colombia.
- Lalande R., Bigwanesa P. & Antoun H. 1990. Symbiotic effectiveness of strains of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* isolated from soils of Rwanda. Plant Soil. 121: 41-46.
- Luyo C. 1992. Aislamiento, purificación, autenticación y selección de cepas eficientes de *Rhizobium leguminosarum* en dos variedades de *Phaseolus vulgaris* (Bayo y Canario PF-210), *in vitro*. Tesis para optar el título de biólogo. UNMSM.
- Matos-Cuzcano G., Ormeño-Orrillo E. y Zuñiga-Davila D. 1998. Diversidad de los rizobios que nodulan el cultivo de pallar (*Phaseolus lunatus* L.) en la costa central del Perú. Ecología. 1: 42-46.
- Orive R. y Temprano F. 1983. Simbiosis *Rhizobium*-Leguminosa.: 53-67. En: Leguminosas de Grano. Ed. Mundi Prensa. Madrid.
- Pijnenborg W. & Lie T. 1990. Effect of lime pelleting on the nodulation of lucerne (*Medicago sativa* L.) in acid soil. A comparative study carried-out in the field, in pots and in rhizotrons. Plant Soil. 121: 225-234.
- Prevost D., Bordeleau L. & Antoun H. 1987. Symbiotic effectiveness of indigenous arctic rhizobia on a temperate forage legume: Saifon (*Onobrychis viciifolia*). Plant Soil. 104: 63-69.
- Somasegaran P., Abaidoo R.C. & Kumaga F. 1990. Host-*Bradyrhizobium* relationships and nitrogen-fixation in the Bambarra groundnut [*Voandzeia subterranea* (L.) Thours nom. Cons.]. Trop. Agric. (Trinidad). 67: 137-142.
- Stowers M. & Elkan G. 1980. Criteria for selecting infective and efficient strains of *Rhizobium* for use in tropical agriculture. North Carolina Agricultural Research Service. Raleigh.
- Thies J.E., Bohlool B.B. & Singleton P.W. 1991. Subgroups of the cowpea miscellany: symbiotic specificity within *Bradyrhizobium* spp. for *Vigna unguiculata*, *Phaseolus lunatus*, *Arachis hypogaea*, and *Macroptilium atropurpureum*. Appl. Environ. Microbiol. 57: 1540-1545.
- Van Rossum D., Muyotcha A., van Verseveld H.W., Stouthamer A.H. & Boogerd F.C. 1993. Effects of *Bradyrhizobium* strain and host genotype, nodule dry weight and leaf area on groundnut (*Arachis hypogaea* L. ssp. *fastigiata*) yield. Plant Soil. 154: 279-288.
- Vásquez J. 1993. El cultivo del pallar. Manual N° 4-93. Instituto Nacional de Investigación Agraria. Lima.
- Vincent J.M. 1970. Manual práctico de Rizobiología. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires.
- Zvietcovich G. y Moran O. 1991. Buscando la cepa

promisoria para la costa peruana. p. 145. En: RELEZA II. Segunda Reunión de Leguminosas de Grano de la Zona Andina. Colombia

**Tabla 1.** Peso seco de la parte aérea (PSPA) en los cultivares de *P. lunatus* Criollo Iqueño e Ica 450 inoculados con cepas de rizobios y sus controles sin inoculación en el ensayo a nivel de laboratorio.

Cepa	PSPA (g/planta) <sup>2</sup>	
	Criollo Iqueño	Ica 450
PLA142a	0,60	0,35
PLL113	0,58	0,48
PLC111	0,57	0,41
PLB211b	0,51	0,42
PLC213	0,50	0,48
N(+) <sup>2</sup>	0,46	0,41
PLB112b	0,47	0,39
N(-) <sup>2</sup>	0,44	0,37

<sup>1</sup> Los valores dentro de la misma columna no difieren significativamente según ANVA ( $\alpha = 0,05$ )

<sup>2</sup> N(+), control sin inocular y con nitrógeno; N(-), control sin inocular y sin nitrógeno

**Tabla 2.** Comparación del número de nódulos en los cultivares de *P. lunatus* Criollo Iqueño e Ica 450 inoculados con cepas de rizobios a nivel de laboratorio.

Cepa	Número de nódulos			
	Criollo Iqueño		Ica 450	
PLB211b	216,0	a <sup>1</sup> MI <sup>2</sup>	92,5	a MI
PLL113	177,5	ab I	51,8	a I
PLB112b	91,2	bc I	17,8	b I
PLA142a	85,8	c I	20,8	b I
PLC213	63,8	c I	62,7	a I
PLC111	37,5	c NI	43,0	a NI
Promedio	112,0		48,0	b

<sup>1</sup> Valores en la misma columna seguidos por la misma letra no difieren significativamente según la prueba t ( $\alpha = 0,05$ )

<sup>2</sup> MI, muy infectivo; I, infectivo; NI, no infectivo según criterio de Lalonde *et al.* (1990)

**Tabla 3.** Peso seco (PSPA) y longitud (LPA) de la parte aérea en los cultivares de *P. lunatus* Criollo Iqueño e Ica 450 inoculados con cepas de rizobios y sus controles sin inoculación a nivel de invernadero.

Cepa	Criollo Iqueño		Ica 450	
	PSPA (g/planta)	LPA (cm/planta)	PSPA (g/planta)	LPA (cm/planta)
PLL113	1,95 a <sup>1</sup>	10,05 a	1,65 a	6,64 a
PLA142a	1,87 a	9,03 bc	1,44 ab	6,63 a
PLC213	1,86 a	9,55 abc	1,59 a	6,52 a
PLC111	1,84 a	9,33 abc	1,44 ab	6,54 a
N(+) <sup>2</sup>	1,81 a	9,09 bc	1,18 c	6,26 ab
PLB112b	1,81 a	9,65 ab	1,33 bc	6,27 ab
PLB211b	1,76 a	9,00 bc	1,52 ab	6,36 ab
N(-) <sup>2</sup>	1,53 b	8,77 c	1,11 c	5,68 b

<sup>1</sup> Valores en la misma columna seguidos por la misma letra no difieren significativamente según la prueba t ( $\alpha = 0,05$ )

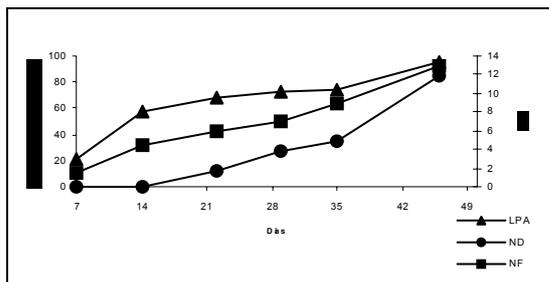
<sup>2</sup> N(+), control sin inocular y con nitrógeno; N(-), control sin inocular y sin nitrógeno

**Tabla 4.** Comparación del número de nódulos en los cultivares de *P. lunatus* Criollo Iqueño e Ica 450 inoculados con cepas de rizobios a nivel de invernadero.

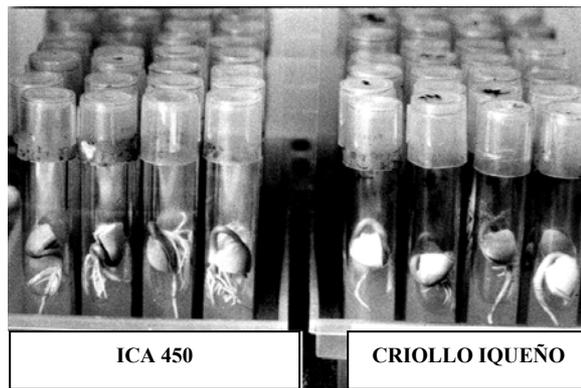
Cepa	Número de nódulos por planta			
	Criollo Iqueño		Ica 450	
PLB211b	34,8	a <sup>1</sup> MI <sup>2</sup>	28,7	a MI
PLL113	31,4	Ab MI	25,6	ab I
PLC213	22,0	Abc I	21,9	bc I
PLB112b	15,6	Bcd I	9,4	d NI
PLA142a	12,6	Cd I	10,3	d I
PLC111	10,0	d NI	11,8	cd I

<sup>1</sup> Valores en la misma columna seguidos por la misma letra no difieren significativamente según la prueba t ( $\alpha = 0,05$ )

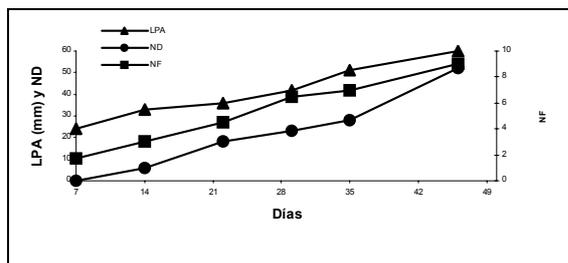
<sup>2</sup> MI, muy infectivo; I, infectivo; NI, no infectivo según criterio de Lalonde *et al.* (1990)



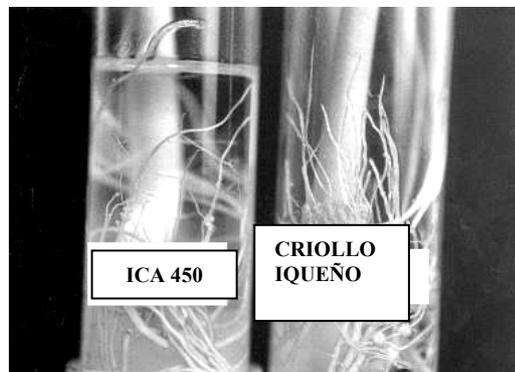
**Figura 1.** Variación en la longitud de la parte aérea (LPA), número de folíolos (NF) y número de nódulos (ND) en plantas del cultivar Criollo Iqueño inoculadas con la cepa de PLA142a de *Rhizobium* sp.



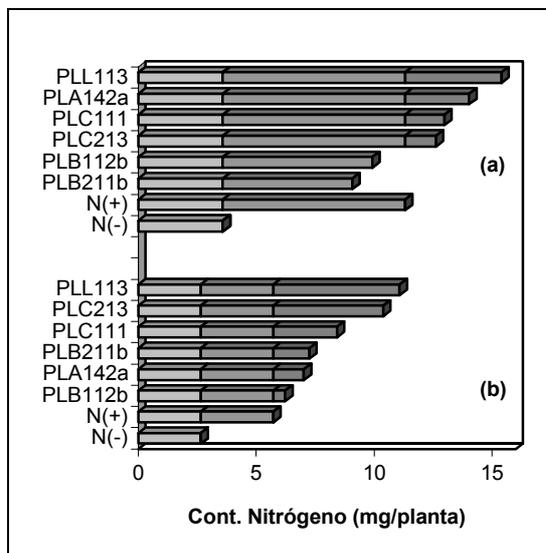
**Foto 1.** Ensayo de Laboratorio. Tubos con agar Sandman sembrados en semillas de pallar mostrando los cotiledones seccionados.



**Figura 2.** Variación en la longitud de la parte aérea (LPA), número de folíolos (NF) y número de nódulos (ND) en plantas del cultivar Ica 450 inoculadas con la cepa de PLL113 de *Bradyrhizobium* sp.



**Foto 2.** Ensayo de Laboratorio. Variación de la nodulación de la cepa de *Bradyrhizobium* PLL113 en los cultivares Criollo Iqueño e ICA 450.



**Figura 3.** Contenido de nitrógeno de la parte aérea de los cultivares Criollo Iqueño (a) e Ica 450 (b) de *P. lunatus* inoculadas con cepas de rizobios y sus controles a nivel de invernadero. N(-), control sin inocular y sin nitrógeno; N(+), control sin inocular y con nitrógeno.