



“Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible”

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

Trabajo de tesis

**Fijación biológica de nitrógeno en tres
variedades mejoradas de frijol común (*Phaseolus
vulgaris* L.) por medio del método de dilución
isotópica ^{15}N**

Autor

Br. Adolfo Fernando Álvarez Ruíz

Asesores

Ing. M.Sc. Leonardo García Centeno
Ing. José René Jarquín Díaz
Ing. M.Sc. Rodolfo Munguía Hernández
Ing. M.Sc. Martha Gutiérrez Castillo
Dr. José Antonio Vera Núñez
Ing. Ana Pineda Medina

Managua, Nicaragua
Marzo, 2022



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

*"Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible"*

Trabajo de tesis

**Fijación biológica de nitrógeno en tres
variedades mejoradas de frijol común (*Phaseolus
vulgaris* L.) por medio del método de dilución
isotópica ^{15}N**

Autor

Br. Adolfo Fernando Álvarez Ruíz

Asesores

Ing. M.Sc. Leonardo García Centeno
Ing. José René Jarquín Díaz
Ing. M.Sc. Rodolfo Munguía Hernández
Ing. M.Sc. Martha Gutiérrez Castillo
Dr. José Antonio Vera Núñez
Ing. Ana Pineda Medina

Presentado a la consideración del honorable comité
evaluador como requisito final para optar al grado de
Ingeniero Agrónomo

Managua, Nicaragua
Marzo, 2022

Hoja de aprobación del Comité Evaluador

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable comité evaluador designado por la Decanatura de la Facultad de Agronomía como requisito final para optar al título profesional de:

Ingeniero Agrónomo

Miembros del Comité Evaluador

Dr. Victor Aguilar Bustamante
Presidente

MSc. Jorge Gómez Martínez
Secretario

MSc. Martha Moraga Quezada
Vocal

Lugar y Fecha: Facultad de Agronomía, Sala Magna, 14 de Diciembre de 2021

DEDICATORIA

El presente trabajo de culminación de estudios, lo dedico primeramente a Dios por darme la vida, salud, fuerzas y serenidad en aquellos momentos de debilidad, que me permitieron llegar hasta este punto importante de nuestras vidas, que es la culminación de nuestra ardua carrera.

A mi padre Luis Adolfo Álvarez Thompson y madre Iris Magdelis Ruiz Cruz, que son mis ejemplos a seguir. Por ayudarme económica y emocionalmente durante toda mi vida por haberme inculcado valores para ser una persona de bien para la sociedad, porque son la fuente de inspiración que me impulsarme para seguir luchando cada día de mi vida.

A mi esposa Rosa Idalia Reyes de Álvarez por impulsarme, hacer positivo y salir adelante en todos nuestros proyectos de vida.

A mis hermanos Luis Adolfo Álvarez Ruiz, Karla Álvarez Ruiz por haber creído en mí desde mis primeros pasos, por el apoyo que me brindaron a lo largo de mis estudios. A mis verdaderos amigos Ing. José Rene Jarquín Díaz, Ing. Jaring Briones, Ing. Samuel Úbeda e Ing. Belén Martínez, y por aquellos que me brindaron su apoyo.

Br. Adolfo Fernando Álvarez Ruiz

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a Dios por llegar a culminar esta meta, que me dio las fuerzas para seguir adelante, superando los obstáculos que se me presentaron día a día.

A mis padres **Luis Adolfo Álvarez Thompson** e **Iris Magdeles Ruiz Cruz**, por estar cuando necesité de su apoyo, por sus valiosos conocimientos y enseñanzas que me acompañarán durante el resto de mi vida.

De manera muy especial a mi esposa **Ing. Rosa Idalia Reyes de Álvarez** quien estuvo acompañándome y apoyándome incondicionalmente durante esta etapa de mi vida.

A la Universidad Nacional Agraria (UNA), por la formación académica brindada durante todos estos años, por las becas obtenidas que me ayudaron en todas las etapas mis estudios universitarios.

Con gratitud y aprecio a mis asesores **MSc. Leonardo García Centeno** e **Ing. José René Jarquín Díaz**, quienes contribuyeron fuertemente a mi formación profesional y a la elaboración de esta tesis, pero sobre todo fueron excelentes amigos y colegas de trabajo.

Al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) por apoyarme en todos los aspectos que estaban a su alcance en la elaboración de mi tesis, por todos los conocimientos técnicos aprendidos, por la ayuda en el establecimiento de nuestro ensayo y por todo su apoyo durante la etapa de campo de nuestro trabajo.

A mis amigos **Silvio Dubban López Carrión**, y a los maestros **Martha Gutiérrez** y **Rodolfo de Jesús Munguía**, por apoyar y contribuir significativamente en la realización de este trabajo de investigación.

Br. Adolfo Fernando Álvarez Ruíz

ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
INDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE ANEXOS	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos específicos	3
III. MARCO DE REFERENCIA	4
3.1. Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN)	4
3.1.1. Fisiología de la fijación biológica	4
3.1.2. Asimilación del nitrógeno fijado	5
3.1.3. Factores que afectan la FBN	6
3.2. Eficiencia de la simbiosis rizobios - leguminosas	6
3.3. Métodos para medir la fijación biológica de nitrógeno en leguminosas	7
3.3.1. Método de la producción de materia seca	7
3.3.2. Método de la diferencia de nitrógeno total	7
3.3.3. Producción de nódulos	8
3.3.4. Actividad de reducción de acetileno	9
3.3.5. Método del valor-A	9
3.3.6. Método de dilución isotópica	9
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	11
4.1. Ubicación y descripción del área de estudio	11
4.2. Diseño experimental	13
4.3. Descripción del material biológico utilizado	14
4.3.1. Inóculos	14

4.3.2.	Variedades de frijol	15
4.4.	VARIABLES EVALUADAS	17
4.4.1.	Producción de biomasa seca aérea (kg ha ⁻¹)	17
4.4.2.	Rendimiento de grano (kg ha ⁻¹)	17
4.4.3.	Nitrógeno total (%)	18
4.4.4.	Rendimiento del nitrógeno total (kg ha ⁻¹)	18
4.4.5.	Nitrógeno derivado del fertilizante (%)	18
4.4.6.	Nitrógeno derivado del aire (%)	19
4.4.7.	Nitrógeno derivado del suelo (%)	20
4.5.	Manejo agronómico del experimento	21
4.5.1.	Establecimiento de los cultivos de referencia	21
4.6.	Recolección de datos	22
4.7.	Procesamiento y análisis de datos	22
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
5.1.	Biomasa seca aérea producida (kg ha ⁻¹), nitrógeno total en biomasa (%) y rendimiento del nitrógeno (kg ha ⁻¹)	24
5.1.1.	Nitrógeno derivado del fertilizante en la biomasa aérea (% Nddf), derivado del aire (% Ndda) y del suelo (% Ndds)	28
5.1.2.	Rendimiento del nitrógeno derivado del fertilizante (RNddf), del aire (RNdda) y del suelo (RNdds) en la biomasa aérea (kg ha ⁻¹)	31
5.2.	Rendimiento de grano (kg ha ⁻¹)	34
5.2.1.	Porcentaje de nitrógeno en el grano derivado del fertilizante (% Nddf), aire (% Ndda) y suelo (% Ndds)	38
5.2.2.	Rendimiento de nitrógeno derivado del fertilizante (RNddf), aire (RNdda) y suelo (RNdds) en grano en kg ha ⁻¹	41
VI.	CONCLUSIONES	46
VII.	RECOMENDACIONES	47
VIII.	LITERATURA CITADA	48
IX.	ANEXOS	60

INDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
1.	Propiedades químicas del suelo del área experimental	12
2.	Tratamientos evaluados	13
3.	Resultados de nitrógeno total (%) en la biomasa aérea (kg ha ⁻¹) y su rendimiento (kg ha ⁻¹)	25
4.	Porcentaje del nitrógeno derivado del fertilizante (Nddf), aire (Ndda) y suelo (Ndds) en la biomasa aérea	29
5.	Rendimiento del nitrógeno derivado del fertilizante (RNddf), aire (RNdda) y suelo (RNdds) en la biomasa aérea en kg ha ⁻¹	32
6.	Resultados de nitrógeno total (%) en grano (kg) y su rendimiento (kg)	36
7.	Porcentaje del nitrógeno derivado del fertilizante (Nddf), aire (Ndda) y suelo (Ndds) en grano	39
8.	Rendimiento del nitrógeno derivado del fertilizante (RNddf), aire (RNdda) y suelo (RNdds) en grano	42
9.	Resumen del nitrógeno contenido en cada componente del rendimiento y el proveniente de cada fracción, derivado del fertilizante (Nddf), del aire (Ndda) y del suelo (Ndds) en kg ha ⁻¹ y %	44

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1.	Ubicación del Centro de Experimentación Agrícola La Compañía	11
2.	Distribución de los tratamientos y cultivos de referencia en campo	14

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO	PÁGINA
1. Fertilizante nitrogenado con isótopos de ^{15}N	60
2. Resultados de los análisis de varianza de las variables evaluadas	60

RESUMEN

La fijación biológica de nitrógeno (FBN) a través de la asociación simbiótica con rizobios que nodulan las raíces de leguminosas, es una estrategia ecológicamente sólida y biológicamente eficiente para mejorar la productividad de estos cultivos a través de su contribución a la absorción de nitrógeno, pudiendo llegar a sustituir eficazmente el uso de fertilizantes nitrogenados. En este estudio se evaluó la capacidad de FBN de tres variedades mejoradas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.); INTA Ferroso, INTA Nutritivo e INTA Biofortificado en simbiosis con dos cepas del género *Rhizobium* spp., mediante el método de dilución isotópica del ^{15}N . Para ello se estableció un ensayo en Bloques Completos al Azar (BCA) con seis tratamientos y cinco repeticiones; se establecieron tres cultivos de referencia, sorgo (*Sorghum vulgare* L. cv. Tortillero precoz), maíz (*Zea mays* L. cv. NB-S) y arroz (*Oryza sativa* L. cv. INTA Fortaleza Secano) seleccionando este último para determinar el aporte del nitrógeno atmosférico en el cultivo fijador. El análisis de las variables evaluadas se realizó a través de Análisis de Varianza ($p=0.05$) y pruebas de separación de medias según Tukey ($p=0.05$). Los resultados indican que, en términos generales, a pesar de que no se detectó significancia estadística, los seis tratamientos expresaron una notable efectividad simbiótica, puesto que más del 50 % del nitrógeno total acumulado por las seis combinaciones provino del aporte atmosférico a través de la simbiosis, siendo superior cuando se utilizó el inóculo Zamorano en cualquiera de los tres cultivares. Este comportamiento, en términos agronómicos repercutió positivamente en el rendimiento de grano de los seis tratamientos, que alcanzó valores entre 1 336 y 2 034 kg ha⁻¹ y la producción de biomasa aérea que estuvo en un rango de 465 y 967 kg ha⁻¹. Estos resultados sugieren que la inoculación con rizobios tiene el potencial para mejorar la productividad del frijol común con una mínima aplicación de fertilizantes nitrogenados.

Palabras clave: Efectividad simbiótica, leguminosas, nitrógeno atmosférico, isotopos, inoculación, fertilizante marcado.

ABSTRACT

The biological nitrogen fixation (BNF) through the symbiotic association with rhizobia that nodulate the roots of legumes, is an ecologically sound and biologically efficient strategy to improve the productivity of these crops through its contribution to the absorption of nitrogen, being able to get to effectively replace the use of nitrogen fertilizers. In this study, the BNF capacity of three improved varieties of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) was evaluated; INTA Ferroso, INTA Nutritivo and INTA Biofortified in symbiosis with two strains of the genus *Rhizobium* spp., using the ^{15}N isotopic dilution method. For this, a Randomized Complete Blocks (RCB) trial with six treatments and five repetitions, it's establish three reference crop, sorghum (*Sorghum vulgare* L. cv. Tortillero precoz), corn (*Zea mays* L. cv. NB-S) and (*Oryza sativa* L. cv. INTA Fortaleza Secano), selecting the last for determine the contribution of atmospheric nitrogen in the fixing crop. The analysis of the evaluated variables was carried out through Analysis of Variance ($p = 0.05$) and tests of separation of means according to Tukey ($p = 0.05$). The results indicate that, in general terms, even though statistical significance was not detected, the six treatments expressed a remarkable symbiotic effectiveness, since more than 50 % of the total nitrogen accumulated by the six combinations came from the atmospheric contribution through the symbiosis, being superior when the Zamorano inoculum was used in any of the three cultivars. This behavior, in agronomic terms, had a positive impact on the grain yield of the six treatments, which reached values between 1 336 and 2 034 kg ha⁻¹ and the production of aerial biomass that was in a range of 465 and 967 kg ha⁻¹. These results suggest that inoculation with rhizobia has the potential to improve common bean productivity with minimal application of nitrogenous fertilizers.

Keywords: Symbiotic effectiveness, legumes, atmospheric nitrogen, isotopes, inoculation, marked fertilizer.

I. INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa con una cosecha de grano para consumo benévolo de mayor producción en el mundo. Este cultivo es originario de América Latina quien aporta aproximadamente 50 % de la producción mundial. Como otras leguminosas de grano, el frijol aporta proteínas y minerales a la dieta humana, lo que contribuye al crecimiento y desarrollo del ser humano (Beebe *et al.*, 2017).

Según el Instituto Nacional Tecnológico (INATEC, 2018) en Nicaragua, el frijol produce más de 200 mil ocupaciones directas e indirectas en la producción y comercialización porque se exporta a otros países Centroamericanos en forma de grano comercial y semilla. El Gobierno de Reconciliación y Unidad Nacional (GRUN, 2020) reporta que en el ciclo de siembra 2019-2020 se cosecharon 459 714.2 ha de frijol rojo, para una producción de 195 454.5 t, que de acuerdo con la Asociación de Productores y Exportadores de Nicaragua (APEN) se exportaron 44 100 t por un valor de US\$ 44.3 millones (APEN, 2020).

Delgadillo y Gómez (2015) destacan que “Es importante analizar el cultivo de frijol, ya que está en manos de pequeños y medianos productores, muchos de ellos de subsistencia, con pocos recursos, tecnología nada avanzada, obteniendo bajos rendimientos, sin tener conexiones ni conocimiento al mercado nacional.” (p.14)

Según Gaitán y Mairena (2017) las leguminosas herbáceas como el frijol común son aprovechadas como abono verde a nivel mundial, debido a que tienen la capacidad de relacionarse simbióticamente con las bacterias del género *Rhizobium* spp para fijar nitrógeno atmosférico. Estos microorganismos habitan muy agrupados en las raíces (nódulos) de las leguminosas, donde, la planta huésped proporciona el sustrato energético, el cual consiste principalmente en sacarosa y se favorece del nitrógeno orgánico reducido por el microorganismo; que poseen la enzima nitrogenasa, que es la encargada de desdoblar el nitrógeno atmosférico.

La eficacia de diferentes leguminosas y sus micro simbioses ha sido representada en varias publicaciones por Handarson *et al.* (1993), demostrando en términos generales que el frijol común es un pobre fijador de nitrógeno atmosférico en relación con otras leguminosas como la Soya (*Glycine max* L.) y Frijol Mungo (*Vigna radiata* L). La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés), detalla que la aplicación de fertilizantes nitrogenados en cultivos de frijol incrementa considerablemente los rendimientos de este rubro, por tal razón se deduce que el porcentaje de nitrógeno atmosférico que fija el frijol común no es suficiente para obtener altos rendimientos (FAO, 1984).

No obstante, esto ha sido objeto de debates y discusiones, porque los resultados alrededor de este proceso son muy variables. Esto ha impulsado el estudio de procedimientos más eficientes para el análisis de los flujos de la entrada y salida del nitrógeno en los sistemas agrícolas, para ello, se han desarrollado una serie de métodos que permiten estimar la fijación de N₂ que han sido ampliamente descritos y discutidos en varias publicaciones. Uno de los más generalizados y que ha ganado particular interés por su eficiencia, es el método de dilución isotópica de ¹⁵N, que permite hacer estimaciones globales de la fijación biológica de nitrógeno, utilizando un fertilizante con ¹⁵N en condiciones variables de la producción de frijol común. El método está basado en la dilución diferencial en la planta del fertilizante marcado con ¹⁵N por el nitrógeno del suelo y de la fijación.

Existen pocas investigaciones a nivel nacional en cuanto al estudio de la simbiosis *Rhizobium* spp., con frijol común utilizando técnicas isotópicas, por tal motivo, el objetivo de este estudio es evaluar la capacidad de la fijación biológica de nitrógeno en simbiosis con dos cepas del género *Rhizobium* spp., mediante el método de dilución isotópica del ¹⁵N en tres cultivares de frijol rojo (*Phaseolus vulgaris* L.) en condiciones de campo.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar la capacidad de la fijación biológica de nitrógeno de tres variedades de frijol rojo (*Phaseolus vulgaris* L.) en simbiosis con dos cepas del género *Rhizobium* spp mediante el método de dilución isotópica del ^{15}N .

2.2. Objetivos específicos

Comparar la capacidad de fijación biológica de nitrógeno en condiciones de campo de tres variedades de frijol rojo (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculadas con dos cepas del género *Rhizobium* spp.

Identificar las interacciones entre las tres variedades de frijol rojo (*Phaseolus vulgaris* L.) y las dos cepas de *Rhizobium* spp que maximicen una alta capacidad de fijación con un alto potencial de rendimiento.

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1. Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN)

Según Paredes (2013), el ciclo del nitrógeno en el suelo representa solamente una parte del ciclo total del nitrógeno en la naturaleza. La disponibilidad de este elemento es de gran importancia para las plantas, ya que es uno de los elementos más importante para la nutrición vegetal; las plantas lo absorben en forma de Nitrato (NO_3^-) o Amonio (NH_4^+) que utilizan en la síntesis de proteínas y de otros compuestos orgánicos vegetales. Cuando los restos vegetales y animales regresan al suelo, son objeto de numerosas transformaciones, en su mayoría de carácter biológico. Todos estos procesos son muy dinámicos y son regulados por la acción de los microorganismos.

Uno de los procesos que contribuye a incrementar las reservas de nitrógeno en el suelo, es la FBN, Vázquez (1996), expresa que la FBN se concreta por organismos procariotas y se realiza en tres formas básicas: Libre (*Klebsiella* sp, *Clostridium* sp), no simbiótica (*Azospirillum* sp, *Azotobacter* sp) y simbiótica (*Rhizobium* spp), siendo la fijación simbiótica la más sobresaliente desde el punto de vista agrícola, puesto que es la fuente que más aporta a la nutrición de los plantas, especialmente en leguminosas; por ello se han realizado profundos estudios para poder entender los mecanismos fundamentales de dicho proceso.

3.1.1. Fisiología de la fijación biológica

Existen grandes diferencias en la morfología y fisiología de todos los organismos fijadores de nitrógeno, el proceso de fijación que lo lleva a cabo, es similar en todos los organismos. Fernández *et al.* (2002) expresa que este sistema se denomina nitrogenasa, y la reacción que se produce es la siguiente:



El proceso de fijación lleva asociada una reducción de H^+ a H_2 en todos los sistemas donde se ha probado, sin embargo, muchos de estos sistemas tienen acoplado un sistema de reciclar el hidrógeno mediante la presencia de la enzima hidrogenasa. La reacción de reducción del nitrógeno es un proceso endergónico que requiere un mínimo de energía de 960 kJ por mol de nitrógeno, por lo que debe acoplarse a un sistema que produzca ATP de una manera eficiente. El ATP necesario se produce mediante el proceso de fosforilación oxidativa acoplado a la cadena transportadora de electrones que utiliza el oxígeno como aceptor final de los mismos. (p.196)

3.1.2. Asimilación del nitrógeno fijado

La asimilación de nitrógeno fijado varía dependiendo del organismo fijador, se distinguen entre fijación de nitrógeno en vida libre y fijación de nitrógeno en simbiosis.

Fijación de nitrógeno en vida libre

Dentro de estos microorganismos fijadores de nitrógeno en vida libre se encuentran los anaerobios estrictos, anaerobios facultativos y aerobios. Dentro de cada uno de estos grupos se encuentran géneros capaces de tomar la energía de sustancias químicas (quimiótrofos) o de tomarla de la luz (fotógrafos) (Fernández *et al.*, 2002).

Fijación de nitrógeno en simbiosis

Según Fernández *et al.*, (2002) existen tres formas de asociaciones fijadoras: rizocenosis, simbiosis asociativas y rizoendosimbiosi. La rizocenosis es la que abarca la relación entre microorganismos del suelo con los géneros *Azotobacter*, *Azopirillum* y *Beijerinckia* los cuales conquistan el suelo rizósferico y las raíces de las plantas, sucediendo una indudable ventaja ecológica establecida por la alta relación C/N que en este hábitat establece.

La simbiosis asociativa formada por tres géneros *Anabaena*, *Nostoc* y *Calothrix* que son organismos fotógrafos con una disposición de hábitat muy grande que pueden formar heterocistos que es donde se encuentra la nitrogenasa. Rizoendosimbiosi o simbiosis Rizobios-leguminosa esta

asociación es la que suministra mayor porcentaje de nitrógeno en los ecosistemas terrestres teniendo un gran impacto ecológico y agronómico Fernández *et al.* (2002) afirma:

Esta asociación de reducción del nitrógeno en una estructura morfológica llamada nódulos que se forma por la unión de microorganismos del género *Rhizobium* spp., en las raíces de las leguminosas. La asociación del *Rhizobium* spp., con las leguminosas es específica y solo se da cuando en el suelo existen rizobio o rizobios característicos de la planta que son las bacterias del perfil del suelo que fijan nitrógeno después de haberse establecido en los nódulos. En general el rizobio infecta la leguminosa a través de los pelos radiculares, el proceso se lleva a cabo en una serie de etapas las cuales son el reconocimiento, la infección, el desarrollo del nódulo y la fijación de nitrógeno propiamente dicha. (p.198)

3.1.3. Factores que afectan la FBN

Lozano (1999), indica que los principales factores que afectan la FBN son la efectividad de la bacteria, condiciones del suelo, contenido de nitrógeno inorgánico en el suelo, el nivel de fósforo, calcio, hierro, cobalto, molibdeno, factores climáticos, temperatura, la intensidad de la luz y periodos prolongados de sequía.

3.2. Eficiencia de la simbiosis rizobios - leguminosas

Para Lindstrom y Mousivi (2019), la relación FBN entre rizobios y leguminosas es una simbiosis asociativa en la que se lucran tanto las plantas como las bacterias. En esta relación simbiótica, los rizobios son alojados y suministrados con fuentes de carbono por las leguminosas y a cambio, las leguminosas reciben amoníaco adecuado por los rizobio. Rizobios es un nombre genérico para cierto grupo Gram-negativo de Alphaproteobacteria y Betaproteobacteria que son las que pueden formar nódulos en la raíz, o en algunos casos en los tallos, de sus hospederos y fijar nitrógeno en la simbiosis con leguminosas como su planta hospedera. Este proceso utiliza energía solar para reducir el nitrógeno gas inerte a amoníaco a temperatura y presión normal, y por lo tanto hoy, especialmente, es importante para la producción sostenible de alimentos.

3.3. Métodos para medir la fijación biológica de nitrógeno en leguminosas

Según Fonseca-López *et al.*, (2020), “existen varias limitantes para cuantificar la fijación del nitrógeno, por ejemplo, el grado de complejidad del proceso, costos y sensibilidad de las técnicas, equipos de alta tecnología, mano de obra calificada, disponibilidad de reactivos, entre otros.” (p. 3), por esta razón, se han desarrollado varios métodos para medir la fijación simbiótica, todos tienen algunas ventajas y desventajas, el método más adecuado depende en gran medida del objetivo del experimento. A continuación, se describirá de manera general los métodos más utilizados y discutidos en investigaciones.

3.3.1. Método de la producción de materia seca

Peñas y Zapata (1991) indican que el nitrógeno es el factor limitante para el desarrollo y la producción de materia seca de las plantas leguminosas, puesto que ésta alcanza a ser correlacionada efectivamente con la cantidad de nitrógeno originario de la fijación, el método es aprovechado para estimar una gran cantidad de cepas de *Rhizobium* spp., y no se considera destructivo, solo se registra el peso fresco y las plantas son resembradas para la producción de semillas.

3.3.2. Método de la diferencia de nitrógeno total

Según Peña y Zapata (1991) este método consiste en la cuantificación del porcentaje de nitrógeno en los cultivares fijadores y las plantas no fijadoras (cultivos de referencia), la principal desventaja de este método consiste en que las leguminosas y los cultivos de referencia deben extraer porcentajes similares de nitrógeno del suelo, cuando no es así, pueden obtener estimaciones erróneas de la fijación del nitrógeno.

3.3.3. Producción de nódulos

Se ha observado muchas veces que la cantidad y peso de los nódulos se correlacionan positivamente con la cantidad de nitrógeno fijado. Estas medidas pueden ser útiles cuando se tiene que valorar un gran porcentaje de cepas, de *Rhizobium* spp. Las visualizaciones de nódulos cuando se efectúa en conjunto con otras medidas son específicamente beneficiosas para la interpretación de los datos en estudio y pueden ser un fuerte indicador de la eficiencia del proceso de fijación (Hardarson y Danso, 1993).

Si bien los nódulos se desarrollan como consecuencia de la asociación simbiótica entre planta y bacterias (Fonseca-Lopez *et al.*, 2020), la evaluación de este parámetro por sí solo suele ser un método limitado para analizar la eficiencia de la fijación biológica de nitrógeno, ya que cuando influyen algunos parámetros ambientales específicos como humedad, compactación, pH, nutrición del cultivo y tensión de oxígeno, la determinación del número y masa de nódulos no es una variable confiable bajo ciertas condiciones (Chavarría, 2000).

Hashem *et al.* (2018), afirma que la nodulación también cambia de acuerdo con la edad de los cultivos, por esta razón, esta técnica tiende a ser menos precisa, al requerirse muestras en todos los estados fenológicos de la planta donde existe mayor producción y translocación de fotoasimilados, y mantenerlas bajo las mismas condiciones con el objetivo de disminuir el error de muestreo (Fonseca-Lopez *et al.*, 2020).

Al respecto, Fernández-Canigia (2020) indica que la mayor tasa de fijación biológica se produce en la prefloración (R5) que coincide con la mayor demanda de nitrógeno. El autor expresa que:

Luego de R5 la tasa de fijación disminuye hasta hacerse nula antes de la madurez fisiológica. Este fenómeno ocurre porque la planta destina gran cantidad de hidratos de carbono (fuente de energía para los rizobios) hacia los granos, desactivando así la actividad de la fijación biológica de N₂. Los nódulos quedan sin “alimentación”, mueren y se desprenden. (p. 52)

3.3.4. Actividad de reducción de acetileno

En este método, las raíces noduladas son encubadas en acetileno y etileno producido luego de horas específicas, se mide por cromatografía de gases. Aunque se dice que es simple de efectuar, este solo garantiza medidas puntuales de la actividad de nitrogenasa. Estas mediciones no son adecuadas para cuantificar la fijación de nitrógeno dado a que el factor de calibración es distinto para distintos sistemas fijadores (Hardarson y Danso, 1993). Algunos autores como Angel *et al.* (2018) señalan que las desventajas de este método radican en que es menos sensible y no se recomienda aplicarla en muestras donde la actividad diazotrófica es baja o esporádica, y que además se puede presentar fuga de gases durante la incubación.

3.3.5. Método del valor-A

En este método se aplican distintas proporciones de fertilizante nitrogenado a las plantas fijadoras y no fijadoras, será inevitable colocar una dosis mayor al cultivo de referencia no fijador para procurar su crecimiento adecuado, específicamente en suelos de baja fertilidad, sin embargo al elevar los niveles de nitrógeno inorgánico se puede abatir la fijación de nitrógeno, por esta razón resulta práctico aplicar una dosis moderada de fertilizante marcado con ^{15}N al cultivo de referencia, mientras que el cultivo fijador recibe una baja proporción (Hardarson y Danso, 1993).

3.3.6. Método de dilución isotópica

Según Braun *et al.* (2018), este método se basa en la detección de isótopos en las fuentes de nitrógeno disponible para el crecimiento de las plantas (N-suelo, N- fertilizante y nitrógeno), a partir de la diferencia entre los isótopos que abundan naturalmente (^{15}N) o que han sido adicionados o empobrecidos en el suelo o en el sustrato, lo que permite identificar en la planta el nitrógeno proveniente de las distintas fuentes (marcadas y no marcadas con el trazador ^{15}N).

Para su implementación, este método involucra el crecimiento de plantas fijadoras de nitrógeno y plantas de referencia (no fijadoras), en suelos tratados con fertilizantes orgánicos o inorgánicos enriquecidos o empobrecidos con ^{15}N (Hardarson y Danso, 1993). La detección del isótopo ^{15}N es posible debido a su mayor peso (con una masa atómica de 15) en comparación con los átomos de

nitrógeno que se encuentran en la atmósfera (con una masa atómica de 14), lo que permite que durante el proceso se separen y, posteriormente, sean colectados y cuantificados en el espectrofotómetro (Fonseca-López *et al.*, 2020).

Chalk y Craswell (2018) indican que la presencia del cultivo no fijador permite realizar la comparación con la planta fijadora a partir de la diferencia en la concentración de átomos isotópicos cuando estas crecen en un suelo que ha sido fertilizado con isótopos ^{15}N .

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación y descripción del área de estudio

Este estudio se realizó en el Centro de Experimentación Agrícola La Compañía, propiedad del Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria (INTA). El centro se encuentra ubicado en el km 45 carretera San Marcos – Masatepe en el departamento de Carazo, en las coordenadas geográficas $11^{\circ}54'30''$ de latitud Norte y $86^{\circ}10'50''$ de longitud Oeste, a una altitud media de 470 msnm.

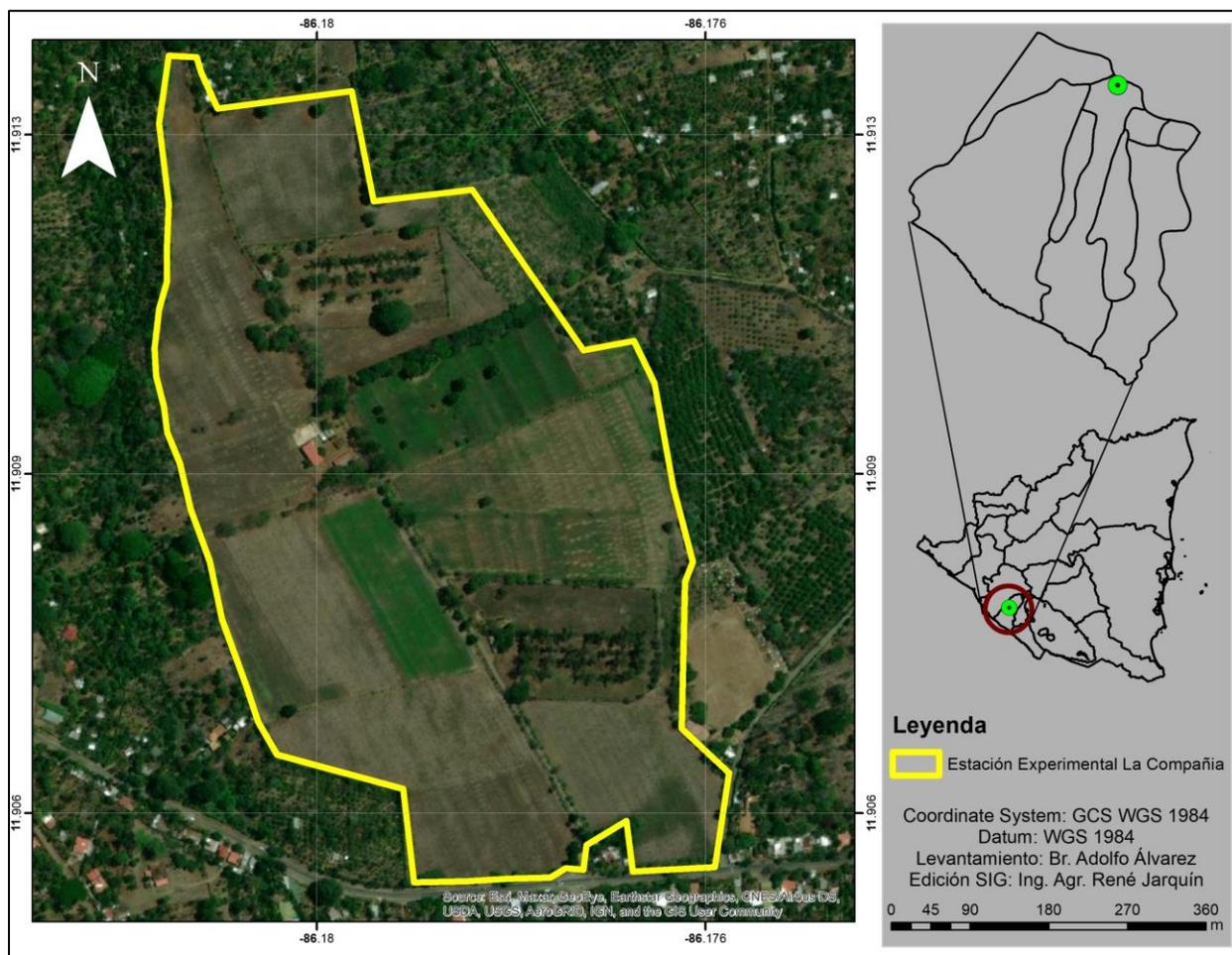


Figura 1. Ubicación del Centro de Experimentación Agrícola La Compañía.

Según el Instituto Nacional de Estudios Territoriales (INETER), esta zona presenta temperaturas medias anuales entre 25 y 24 °C, precipitaciones anuales de 1 200 a 1 500 mm bien distribuidos, una humedad relativa media del 71 % y se encuentra a una altitud de 455.41 metros sobre el nivel del mar (INETER, 2018). Según la clasificación de zonas de vida de Holdridge, esta zona se cataloga como Bosque Tropical Premontano Húmedo (bh-PT). En relación con el tipo de clima, la clasificación de Köppen describe a esta zona como tropical de sabana (Ortiz, 2020).

En cuanto a las características edáficas, el Ministerio Agropecuario (MAG) cataloga a los suelos de esta zona como Andisoles, del suborden Ustands, los cuales se caracterizan por presentar color oscuro, ser altamente porosos, ligeros, permeables, con buena estructura y fácil de laborar. A pesar de que se consideran suelos muy fértiles, son fijadores de fosforo, no obstante, presentan otras bondades como una buena profundidad, un escurrimiento superficial de lento a moderado y riesgo de erosión que va de nulo a moderado (MAG, 2015). Algunas de estas características se evidencian en el siguiente cuadro que muestra las propiedades químicas del suelo del área experimental.

Cuadro 1. Propiedades químicas del suelo del área experimental

pH	MO -----%-----	N	P ppm	K ---meq	Ca 100 g ⁻¹	Mg suelo--	Fe	Cu	Mn	Zn
							-----ppm-----			
6.19	10.72	0.54	0.0	0.34	7.37	0.98	10.25	3.9	34.5	2.79

*Suelo de textura franco-arcillo-arenoso (Fuente: García-Centeno *et al.*, 2021)

Un estudio de Ortiz (2020) realizado en este mismo sitio, determinó que estos suelos se caracterizan además por una densidad aparente de 0.72 g cm⁻³, una conductividad eléctrica de 43.9 μS cm⁻¹ y una humedad disponible que se encuentra entre una capacidad de campo de 30.05 % y punto de marchitez permanente de 16.24 %.

4.2. Diseño experimental

El experimento se estableció en campo con un diseño de bloques completos al azar (BCA) propiamente dicho en bifactorial con cinco repeticiones. Los factores en estudio fueron las tres variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), las cuales son: INTA Ferroso, INTA Nutritivo e INTA Biofortificado; que representaron el Factor A, y los dos inóculos microbianos del género *Rhizobium* spp., que conformaron el Factor B (Inóculo Zamorano e inóculo INTA). En total, el experimento se manejó con seis tratamientos distribuidos en treinta unidades experimentales. En el siguiente cuadro se describen los tratamientos evaluados.

Cuadro 2. Tratamientos evaluados

No.	Tratamiento	Descripción
T1	a ₁ b ₁	Variedad INTA Ferroso + Inoculo Zamorano
T2	a ₁ b ₂	Variedad INTA Nutritivo + Inoculo Zamorano
T3	a ₁ b ₃	Variedad INTA Biofortificado + Inoculo Zamorano
T4	a ₂ b ₁	Variedad INTA Ferroso + Inoculo INTA
T5	a ₂ b ₂	Variedad INTA Nutritivo + Inoculo INTA
T6	a ₂ b ₃	Variedad INTA Biofortificado + Inoculo INTA

Los tratamientos fueron distribuidos en campo tal como lo muestra la figura 2. Adicionalmente, se establecieron de forma paralela tres parcelas con cultivos de referencia, que fueron arroz (*Oryza sativa* L. cv. INTA Fortaleza Secano), sorgo (*Sorghum vulgare* L. cv. Tortillero precoz) y maíz (*Zea mays* L. cv. NB-S). Cada unidad experimental, incluyendo las cinco parcelas donde se establecieron los cultivos de referencia, tuvo unas dimensiones de 3.5 m de ancho y 5 m de largo, con un distanciamiento entre bloques de 1 m. Para el caso de los tratamientos se consideró como parcela útil un área de 2.5 m de ancho por 4 m de largo para evitar el efecto de borde. Dentro de la parcela útil se estableció una micro parcela isotópica de 1 m² donde se aplicó el fertilizante marcado con el isótopo ¹⁵N.

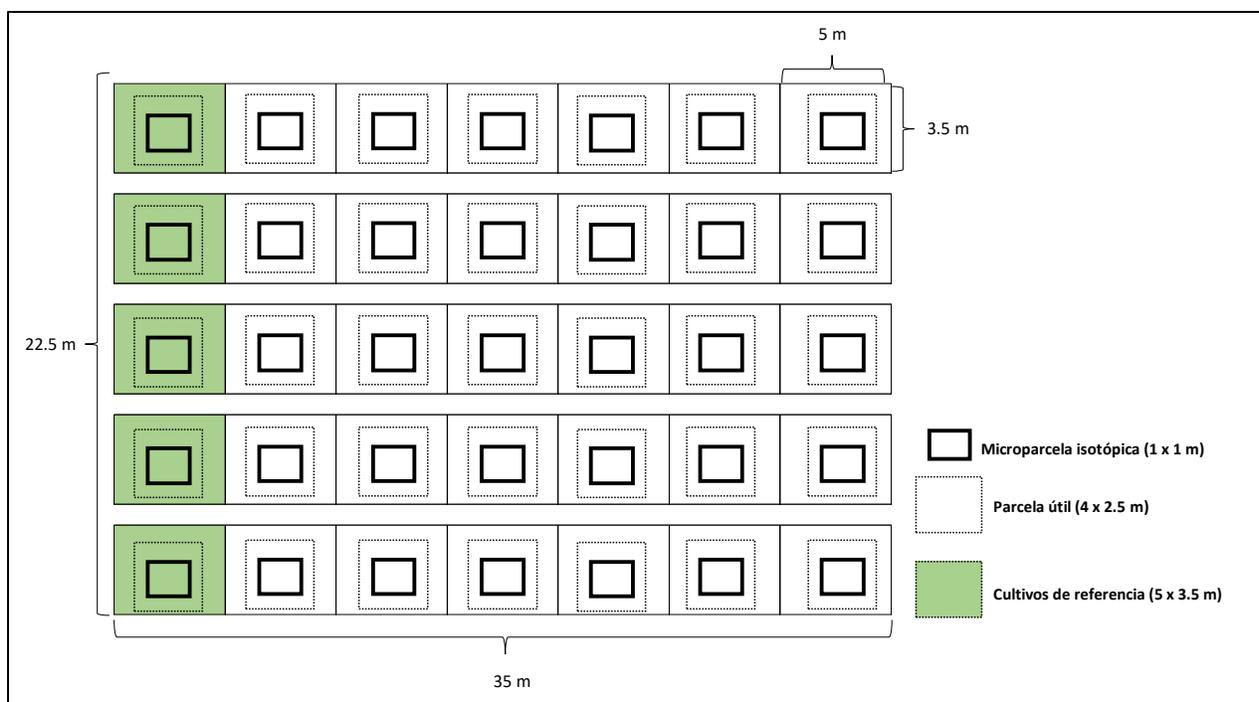


Figura 2. Distribución de los tratamientos y cultivos de referencia en campo.

4.3. Descripción del material biológico utilizado

4.3.1. Inóculos

Como inoculantes, se utilizaron dos cepas de bacterias diazótrofes simbióticas del género *Rhizobium* spp., cada una perteneciente a la colección del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y de la Escuela Panamericana El Zamorano.

El inóculo proveniente del Zamorano es una cepa denominada CIAT 899 (*Rhizobium tropici*) que tiene las siguientes características: borde liso, color transparente, aspecto translucido brillante, formar circular irregular, textura muy mucosa, diámetro 4.4 mm, tiempo de aparición 2 días. Resistentes a pH ácidos de 4.0, 4.4, 4.6, 5.0, con alta efectividad de nodulación.

El inóculo proveniente del INTA pertenece a la especie *R. leguminosarum* bv. *trifolii*, y posee las siguientes características: efectividad en diversidad leguminosas herbáceas, capacidad de reproducirse, sobrevivencia en semillas y suelo, capacidad de migración desde el lugar de la inoculación, habilidad de colonizar la rizósfera del huésped y capacidad para sobrevivir en condiciones adversas.

4.3.2. Variedades de frijol

Las variedades de frijol común usadas en este experimento fueron tres variedades comerciales mejoradas, difundidas y de amplia aceptación a nivel, proporcionadas por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) quien fue el ente que trabajó en su desarrollo y liberación. Las variedades son INTA Ferroso, INTA Nutritivo e INTA Biofortificado.

INTA Ferroso

Según INTA (2015), esta variedad es una leguminosa con crecimiento arbustivo con guía corta, cultivo anual, con alto contenido de hierro, altura de 40-50 cm, días a cosecha de 69 a 74, cantidad de semillas por vaina de 5-7, germinación de 3-6 días, número de vainas por planta de 13-20, floración 33-36 días, color de semilla rojo claro, duración de la floración de 7-11 días, resistente a la enfermedad como el mosaico común, maduración fisiológica de 66-68 días.

Mendieta y Mercado (2016) afirma que es: “Tolerante a las enfermedades como el mosaico dorado, mancha angular, se recomienda sembrar esta variedad en zonas del país como, Masatepe, Esquipulas, San Ramón, Dalia, Jinotega, San Rafael del Norte, Yalí, Condega, Jalapa, Quilalí, Wiwilí, Pueblo Nuevo, Niquinohomo, San Marcos, Diriamba, El Crucero y Ticuantepe, con un rendimiento de 1 000 a 1 500 kg ha⁻¹. (p.6)

INTA Nutritivo

En cuanto a esta variedad, INTA (2018a) señala que es resistente a enfermedades como el mosaico dorado y mosaico común, tolerante a mancha angular, contiene altos contenido de hierro y zinc, su evito de crecimiento es erecto arbustiva guía corta, florece entre los 34-36 días, la distribución de las vainas es en la parte media de la planta, el tiempo de su madures fisiológica es de 66-68 días, color del grano rojo vino brillante, tolerante a la humedad, las zonas en las que podemos establecer este cultivo son Matagalpa, San Dionisio, Esquipulas, Jinotega, La Concordia, San Rafael del Norte, Pantasma, Yalí, Estelí, Condega, Masatepe, Jalapa, Quilalí, Wiwilí, Rivas, Masaya, Jinotepe y El Crucero, con un rendimiento de 1 090 a 1 140 kg ha⁻¹.

INTA Biofortificado

INTA (2018b) afirma que esta variedad de frijol es un cultivo anual, leguminosa, resistente a enfermedades como el mosaico dorado, mancha angular, se recomienda sembrar esta variedad en zonas del país como, Masatepe, Esquipulas, Jinotega, La Concordia, San Rafael del norte, Yalí, Condega, Jalapa, Quilalí, Masaya, Jinotepe, Rivas.

INTA (2018b), indica que posee alto contenido de hierro y zinc, su hábito de crecimiento es arbustivo indeterminado de guía corta, tiempo de floración 32 - 34 días, la distribución de sus vainas se encuentra en la parte media de la planta, maduración fisiológica de 60-65 días, se puede sembrar en postrera y apante, días a cosecha de 72 - 74 días, es tolerante a la sequía, color de grano rojo claro brillante, con un rendimiento de 1 200 a 1 300 kg ha⁻¹.

4.4. Variables evaluadas

4.4.1. Producción de biomasa seca aérea (kg ha⁻¹)

Después de cosechadas las plantas, se separaron de éstas las vainas y raíces, quedando la biomasa aérea disponible (hojas, tallos y ramas), las cuales se secaron en un horno a una temperatura de 75 °C por 72 horas, posteriormente se pesaron las muestras. El rendimiento se determinó con la siguiente fórmula:

$$PBSA = PSB * 1000 * A$$

En donde:

PBSA: Producción de biomasa seca aérea (kg ha⁻¹)

PSB: Peso seco de biomasa aérea (g m⁻²)

A: Área de una hectárea (m²)

4.4.2. Rendimiento de grano (kg ha⁻¹)

Se determinó luego de ser cosechado. Las plantas en estudio se trasladaron al laboratorio de fisiología vegetal de la Universidad Nacional Agraria (UNA) donde se separaron los granos de frijol de las vainas y se procedió a su pesaje fresco y seco del grano. El peso seco se obtuvo a través de un proceso de secado de 72 horas a una temperatura de 65°C. Este rendimiento se determinó con la siguiente fórmula.

$$Rto = PSG * 1000 * A$$

En donde:

Rto: Rendimiento de grano (kg ha⁻¹)

PSG: Peso seco de grano (g m⁻²)

A: Área de una hectárea (m²)

4.4.3. Nitrógeno total (%)

Se determinó luego del proceso de secado y molido de las muestras tanto de biomasa como de grano. Estas muestras fueron enviadas a la Universidad de California en Estados Unidos, donde se les realizó el análisis a través de espectrometría de masas.

4.4.4. Rendimiento del nitrógeno total (kg ha⁻¹)

Este cálculo se hizo a través de los resultados de nitrógeno total en la biomasa seca aérea y grano, utilizando la siguiente formula.

$$RNT = \frac{Nt (\%) * RTO (kg ha^{-1})}{100}$$

En donde:

RNT: Rendimiento de nitrógeno total

Nt (%): Porcentaje de nitrógeno total

RTO: Rendimiento de biomasa seca (kg ha⁻¹)

4.4.5. Nitrógeno derivado del fertilizante (%)

El nitrógeno derivado del fertilizante (Nddf) se calculó a través de los resultados del análisis de espectrometría de masa; la prueba determinó también el porcentaje de átomos de ¹⁵N en abundancia presentes en la muestra. Para conocer el % Nddf se utilizó la siguiente formula:

$$\%Nddf = \frac{\% At. 15_N ex. P}{\% At. 15_N ex. F} * 100$$

En donde:

% Nddf: Porcentaje de nitrógeno derivado del fertilizante

% At. ^{15}N ex. P: Porcentaje de átomos de ^{15}N en exceso en la planta

% At. ^{15}N ex. F: Porcentaje de átomos de ^{15}N en exceso del fertilizante

Una vez calculado el % Nddf, se determinó el rendimiento de nitrógeno derivado del fertilizante con la siguiente formula:

$$RNddf = \frac{RNt * \%Nddf}{100}$$

En dónde:

RNddf: Rendimiento de nitrógeno derivado del fertilizante (kg ha^{-1})

RNt: Rendimiento de nitrógeno total (kg ha^{-1})

%Nddf: Porcentaje de nitrógeno derivado del fertilizante (%)

4.4.6. Nitrógeno derivado del aire (%)

El nitrógeno derivado del aire (Ndds) se obtuvo a través de los porcentajes de nitrógeno derivado del fertilizante tanto para el cultivo fijador como el no fijador. Para calcular el porcentaje de nitrógeno derivado del aire se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%Ndda = \left(1 - \frac{\%Nddf_{cf}}{\%Nddf_{nf}}\right) * 100$$

En donde:

%Ndda: Porcentaje de nitrógeno derivado del aire (%)

%Nddf_{cf}: Porcentaje de nitrógeno derivado del fertilizante en cultivo fijador

%Nddf_{nf}: Porcentaje de nitrógeno derivado del fertilizante en cultivo no fijador (cultivo de referencia)

Una vez calculado el % Ndda se determinó el rendimiento de nitrógeno derivado del aire con la siguiente formula:

$$RNdda = \frac{RNt * \%Ndda}{100}$$

En donde:

RNddf: Rendimiento de nitrógeno derivado del aire (kg ha⁻¹)

RNt: Rendimiento de nitrógeno total (kg ha⁻¹)

%Ndda: Porcentaje de nitrógeno derivado del aire (%)

4.4.7. Nitrógeno derivado del suelo (%)

El nitrógeno derivado del suelo (Ndds) se obtuvo a través de la diferencia del porcentaje de nitrógeno fijado por el fertilizante y la atmosfera. Para ello se utilizó la siguiente formula:

$$\%Ndds = 100 - (\%Nddf + \%Ndda)$$

En donde:

%Ndds: Porcentaje de nitrógeno derivado del suelo (%)

%Nddf: Porcentaje de nitrógeno derivado del fertilizante (%)

%Ndda: Porcentaje de nitrógeno derivado del aire (%)

Una vez calculado el % Ndds se determinó el rendimiento de nitrógeno derivado del suelo con la siguiente formula:

$$RNdds = RNtotal - (RNddf + RNdda)$$

En donde:

RNdds: Rendimiento de nitrógeno derivado del suelo (kg ha⁻¹)

RNddf: Rendimiento de nitrógeno derivado del fertilizante (kg ha⁻¹)

RNdda: Rendimiento de nitrógeno derivado del aire (kg ha⁻¹)

4.5. Manejo agronómico del experimento

La preparación del terreno se realizó con dos pases de grada. Antes de la siembra se realizó una primera fertilización donde se aplicó 210 g de 18-46-0 para cada unidad experimental tanto para los tratamientos como los cultivos de referencia¹. La siembra de las variedades de frijol se realizó por golpes, se depositó tres semillas por cada golpe a un distanciamiento de 10 cm cada uno, con una distancia entre surcos de 50 cm, por lo que en cada unidad experimental se establecieron siete surcos. El proceso de inoculación de los microorganismos a las semillas de frijol se realizó en el Centro Nacional de Investigación Agropecuaria (CNIA), y consistió en una combinación de suelo y un sustrato a base de materia orgánica en una proporción 1:1 a la cual se le agregó 711.6 g ha⁻¹ del inoculante, posteriormente se mezcló la semilla en este sustrato y se dejó reposar por una hora, luego se procedió a la siembra.

La siembra se hizo de forma manual, por golpes a cada 10 cm, donde se depositaron 3 semillas por postura, para un promedio de 30 semillas por metro lineal. Posterior a la siembra, se realizó la segunda fertilización, donde se aplicó una dosis de 20 kg ha⁻¹ de Urea 46 % enriquecido con 4.85 % átomos en exceso de ¹⁵N, para un total de 5.2 % de abundancia de este isótopo. Para su aplicación, se delimitó dentro de cada unidad experimental una micro parcela, la cual se denominó parcela isotópica que tuvo un área de 1 m². Para el manejo fitosanitario se aplicó de manera preventiva el insecticida Dipel con una dosis de 250 g por cada 400 l de agua para el control de plagas insectiles. El manejo de arvenses se realizó de forma mecánica con controles de una vez por semana mediante machete y azadón.

4.5.1. Establecimiento de los cultivos de referencia

Para cuantificar la fijación biológica de nitrógeno mediante el empleo de método de dilución isotópica, se recomienda utilizar un mínimo de tres cultivos no fijadores, es decir, que funcionen como cultivos de referencia (Hardarson, 1985). Estos se seleccionaron en función de su comportamiento y características morfológicas y fisiológicas, en cuanto a los mecanismos de

¹ Esta aplicación se hizo debido a las características ándicas predominantes en estos suelos.

absorción de nutrientes, tipo de sistema radical y ciclo biológico de la planta, parámetros que tienen que ser similares al cultivo fijador.

Contiguo a los bloques donde se distribuyeron los tratamientos se establecieron los tres cultivos de referencia, maíz (*Zea mays* L. cv. NB-S), sorgo (*Sorghum vulgare* L. cv. Tortillero precoz) y arroz (*Oryza sativa* L. cv. INTA Fortaleza Secano). Este último fue el cultivo seleccionado para utilizar sus datos, para correlacionar y calcular la cantidad de nitrógeno aportado por el aire en las tres variedades de frijol evaluadas, dado que tuvo un comportamiento similar al cultivo fijador en cuanto a la absorción de nitrógeno proveniente del suelo y del fertilizante.

4.6. Recolección de datos

A los 70 días se cosechó todo el ensayo y se pesó la producción de biomasa fresca (kg ha^{-1}), biomasa seca (kg ha^{-1}) y rendimiento de grano (kg ha^{-1}), todos los datos obtenidos fueron organizados en hojas de cálculo en Excel para su posterior procesamiento y análisis.

4.7. Procesamiento y análisis de datos

Los variables evaluadas se analizaron mediante el procedimiento de Análisis de Varianza (ANDEVA), de detectar significancia, *a posteriori* se realizó una prueba de separación de medias según el criterio de Tukey ($p=0.05$) a través del software estadístico INFOSTAT versión 2020. El modelo aditivo lineal del experimento fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \rho_k + \varepsilon_{ijk}$$

En donde:

i : 1,2,3, ... $a = 2$: Niveles del factor A (Inóculos)

j : 1,2,3, ... $b = 3$: Niveles del factor B (Variedades de frijol)

k : 1,2,3, ... $r = 5$: Repeticiones

Y_{ij} : Es la k -ésima observación de la variable estudiada en el i -ésimo tratamiento.

μ : Estima la verdadera media poblacional.

α_i : Efecto del i-ésimo nivel del factor A (Inóculos)

β_j : Efecto debido al j-ésimo nivel del factor B (Variedades de frijol)

$(\alpha\beta)_{ij}$: Estima el efecto de la interacción entre los dos factores

ρ_k : Efecto de k-ésimo bloque.

ε_{ij} : Estima el elemento aleatorio de variación generado en el experimento.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Biomasa seca aérea producida (kg ha^{-1}), nitrógeno total en biomasa (%) y rendimiento del nitrógeno (kg ha^{-1})

El nitrógeno es la principal limitante de la productividad agrícola, por ello, la producción agrícola convencional ha dependido históricamente de la aplicación de fertilizantes nitrogenados, sin embargo, la aplicación de estos insumos es en general ineficiente debido a que sólo una tercera parte del fertilizante aplicado es absorbido de forma eficiente por el cultivo (Shrawat *et al.*, 2008). Según Corrales-González *et al.* (2016), esta eficiencia se expresa como “unidad de biomasa generada por unidad de nutriente aplicado.” (p. 256)

En el cuadro 3, se observa que las variedades presentaron diferencias significativas (p -valor < 0.05) en cuanto a su efecto en las variables nitrógeno total en biomasa aérea (%) y producción de biomasa seca aérea (kg ha^{-1}). Para la primera variable, se determinó que la variedad INTA Ferroso expresó el mayor porcentaje de nitrógeno en la biomasa (1.24 %), seguido de las variedades INTA Nutritivo (0.93 %) e INTA Biofortificado (0.87 %).

Al analizar la producción de biomasa se observan tendencias distintas, ya que las variedades INTA Nutritivo (832 kg ha^{-1}) e INTA Biofortificado (765 kg ha^{-1}) fueron estadísticamente superiores a la variedad INTA Ferroso (601 kg ha^{-1}). En relación con el rendimiento del nitrógeno total en la biomasa aérea (kg ha^{-1}), no se detectaron diferencias significativas en la cantidad de nitrógeno necesario para producir la misma cantidad de biomasa con cualquiera de los genotipos, no obstante, en la variedad INTA Nutritivo se registró el mayor rendimiento de nitrógeno en comparación con las demás (7.89 kg ha^{-1}).

Cuadro 3. Resultados de nitrógeno total (%) en la biomasa aérea (kg ha⁻¹) y su rendimiento (kg ha⁻¹)

Tratamientos		NTBA	BSA	RNTBA
		%	kg ha ⁻¹	
Variedades	INTA Ferroso	1.24 a	601 b	7.41
	INTA Nutritivo	0.93 ab	832 a	7.89
	INTA Biofortificado	0.87 b	765 a	6.99
p-valor		0.0362	<0.0001	NS
Inóculo	Zamorano	1.16 a	870.7 a	9.86 a
	INTA	0.87 b	594.7 b	5.0 b
	p-valor	0.0230	<0.0001	<0.0001
Variedad + Inóculo	INTA Fe - Zamorano	1.37	737	9.86
	INTA Nutri - Zamorano	1.02	967	9.78
	INTA Bio - Zamorano	1.09	908	9.92
	INTA Fe -INTA	1.12	465	4.96
	INTA Nutri - INTA	0.84	697	5.99
	INTA Bio - INTA	0.66	622	4.05
	p-valor	NS	NS	NS
CV (%)		31.78	11.48	26.27

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). // NTBA: Nitrógeno total en la biomasa aérea. BSA: Biomasa seca aérea. RNTBA: Rendimiento de Nitrógeno total en la biomasa aérea. CV: Coeficiente de variación.

Con respecto al efecto de los inóculos, se determinó diferencias significativas en las tres variables evaluadas, donde la cepa Zamorano resultó ser estadísticamente superior a la cepa proveniente del INTA. Las mayores diferencias se observan en la producción de biomasa (870.7 kg ha⁻¹) y rendimiento de nitrógeno (9.86 kg ha⁻¹), donde esta cepa superó a la del INTA por 276 y 4.86 kg ha⁻¹ respectivamente.

Las diferencias numéricas observadas en los factores principales tienden a ser relativamente similares al analizar sus interacciones, pese a que no se detectó significancia estadística (p -valor > 0.05). Para la variable nitrógeno total, todas las variedades inoculadas con la cepa Zamorano expresaron en promedio mayor porcentaje de nitrógeno total en la biomasa (1.16 %) en comparación con las inoculadas con la cepa INTA (0.87 %). Cabe resaltar que la variedad INTA Ferroso inoculada con ambas cepas, fue la que presentó los dos valores más altos de nitrógeno total en la biomasa (1.37 % y 1.12 % con Zamorano e INTA respectivamente), esto significa que esta variedad acumula altos porcentajes de nitrógeno en la biomasa independientemente del

inoculo utilizado. El tratamiento que registró la menor cantidad de nitrógeno resultó ser la combinación de la variedad INTA Biofortificado inoculada con la cepa INTA (0.66 %).

En relación con la producción de biomasa aérea, no se detectaron diferencias significativas (p -valor > 0.05), sin embargo, agronómicamente, las variedades INTA Nutritivo (967 kg ha^{-1}) e INTA Biofortificado (908 kg ha^{-1}) inoculadas con la cepa Zamorano, fueron las combinaciones que expresaron los rendimientos más altos. La menor producción de biomasa se determinó para el tratamiento INTA Ferroso + INTA con 465 kg ha^{-1} . Por otra parte, pese a que no se encontró significancia (p -valor > 0.05), los mayores rendimientos de nitrógeno total en la biomasa aérea se observaron en las variedades INTA Biofortificado (9.92 kg ha^{-1}) e INTA Ferroso (9.86 kg ha^{-1}), ambas inoculadas con la cepa Zamorano. En cambio, cuando se inocularon ambas variedades con la cepa proveniente del INTA, éstas expresaron el menor rendimiento (4.05 y 4.96 kg ha^{-1} respectivamente) con respecto a las demás.

Los valores de nitrógeno total en la biomasa aérea fueron inferiores a los encontrados por López-Alcocer *et al.* (2020), quienes estudiaron el comportamiento individual de 27 cepas de *Rhizobium* spp., inoculadas en una variedad criolla de frijol común; en su estudio los valores variaron en un rango de 3.45 % y 4.38 %, sin embargo, la producción de biomasa fue considerablemente menor a la registrada en este experimento, ya que los valores oscilaron en un rango de 250 y 170 kg ha^{-1} , que en comparación con los valores máximos y mínimos obtenidos en este estudio, estos fueron de 967 y 465 kg ha^{-1} respectivamente, por lo que las diferencias se atribuyen a un efecto de dilución del nitrógeno, la que varía en función de la biomasa, ya que en la medida que ésta aumenta, la proporción de este macronutriente disminuye por efecto de biomasa aérea incrementada (De Caram, *et al.*, 2007).

Otro estudio realizado en Nicaragua por Vargas (1998) evaluando la efectividad de la fijación biológica en cuatro variedades de frijol común, encontró valores de nitrógeno en los tejidos tallos, ramas y hojas que oscilaron entre 2.8 y 3.6 %, no obstante, estos valores corresponden a una producción de biomasa que varió en un rango de 541 y 797 kg ha^{-1} , la cual sigue siendo relativamente inferior a la registrada en este experimento.

Con respecto al rendimiento del nitrógeno, Hall (2009) indica que los programas modernos de mejoramiento de frijol común, no se enfocan en el mejoramiento de genotipos eficientes en la fijación simbiótica de nitrógeno, sino que liberan genotipos de alto rendimiento que funcionan de manera consistente bajo las prácticas de producción convencionales, que implican la aplicación general de 33 a 67 kg ha⁻¹ de fertilizantes nitrogenados para obtener rendimientos de grano superiores a los 700 kg ha⁻¹.

Dado que el rendimiento del nitrógeno en la biomasa aérea depende de la producción total de materia seca, se observa que los tres tratamientos con la mayor producción fueron los que obtuvieron el mayor rendimiento del macronutriente. En general, los resultados obtenidos en este experimento para esta variable se encuentran en los rangos encontrados por Tsai *et al.* (1993a), quienes evaluaron niveles de fertilización con P, K y S sobre la fijación biológica de nitrógeno en frijol común, encontrando que los tratamientos que fueron manejados sin aplicación de fertilizantes expresaron rendimientos de nitrógeno en un rango de 9.3 y 15.8 kg ha⁻¹. No obstante, estos resultados fueron los más bajos en este estudio, ya que las unidades experimentales que fueron tratadas con las dosis máximas² alcanzaron valores promedios de 517.6 kg ha⁻¹ de nitrógeno. Estos resultados indican que un balance adecuado de nutrientes en el suelo es esencial para optimizar las tasas de fijación de nitrógeno.

En términos generales, se observó que las tres variedades inoculadas con la cepa Zamorano fueron más eficientes en la acumulación de nitrógeno en la biomasa aérea, sin embargo, es a través de los resultados posteriores que se pudo discernir si esta diferencia se atribuyó a una mayor efectividad de la simbiosis, ya que, ha sido reportado por algunos autores como Lindström & Mousavi (2019) y Vitousek *et al.* (2013) que bajo determinadas condiciones puede darse la simbiosis, pero manifestarse una baja efectividad para la fijación de nitrógeno atmosférico.

² 200 mg kg de suelo⁻¹ de Fósforo, 256 mg kg de suelo⁻¹ de Potasio y 40 mg kg de suelo⁻¹ de Azufre.

5.1.1. Nitrógeno derivado del fertilizante en la biomasa aérea (% Nddf), derivado del aire (% Ndda) y del suelo (% Ndds)

El cuadro 4 indica que la variedad INTA Ferroso se diferenció estadísticamente de las otras dos variedades, resultando con el mayor porcentaje de Nddf en la biomasa aérea, con 1.44 % y con el 62.22 % de Ndds. Para la misma variable, las variedades INTA Nutritivo e INTA Biofortificado obtuvieron los menores porcentajes de Nddf (con 0.7 % y 0.85 %) y porcentajes de Ndds (30.44 % y 36.63 %) respectivamente. En cuanto al Ndda, las variedades INTA Biofortificado (68.9 %) e INTA Nutritivo (62.52 %) fueron estadísticamente superiores a la variedad INTA Ferroso (36.34 %).

Esto es importante desde el punto de vista del suministro de nitrógeno para el cultivo, ya que los resultados indican que estas variedades obtienen del aire en promedio 65.7 % del nitrógeno que necesitan. Respecto a los inóculos evaluados, los mayores porcentajes de Nddf y Ndds se observaron en el inóculo proveniente del INTA (1.14 % y 39.59 %), en cambio, el inóculo Zamorano obtuvo el mayor porcentaje de Ndda con 62.6 %. Estos resultados indican que el uso del inóculo Zamorano aumentó en un 13 % la cantidad de nitrógeno fijada del aire a través de la fijación biológica con respecto al inóculo del INTA.

Cuadro 4. Porcentaje del nitrógeno derivado del fertilizante (Nddf), aire (Ndda) y suelo (Ndds) en la biomasa aérea

Tratamientos		Nddf	Ndda	Ndds
		%		
Variedades	INTA Ferroso	1.44 a	36.34 b	62.22 a
	INTA Nutritivo	0.85 b	62.52 a	36.63 b
	INTA Biofortificado	0.70 b	68.90 a	30.44 b
p-valor		0.0004	0.0004	0.0004
Inóculo	Zamorano	0.84 b	62.60 a	36.61 b
	INTA	1.14 a	49.30 b	49.59 a
	p-valor	0.0359	0.0369	0.0369
Variedad + Inóculo	INTA Fe -Zamorano	1.40	39.20	59.43
	INTA Nutri - Zamorano	0.50	78.70	20.87
	INTA Bio - Zamorano	0.70	69.80	29.52
	INTA Fe -INTA	1.50	33.48	65.02
	INTA Nutri - INTA	1.21	46.40	52.40
	INTA Bio - INTA	0.73	67.93	31.35
	p-valor	NS	NS	NS
CV (%)	37.15	29.44	37.33	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). // Nddf: Nitrógeno derivado del fertilizante. Ndda: Nitrógeno derivado del aire. Ndds: Nitrógeno derivado del suelo. CV: Coeficiente de variación.

Al analizar las interacciones, no se detectaron diferencias significativas (p -valor > 0.05) en ninguna de las tres variables evaluadas. Sin embargo, se registró el mayor porcentaje de nitrógeno proveniente del fertilizante (1.50 %) y del suelo (65.02 %) en el tratamiento INTA Ferroso + INTA; lo contrario ocurrió con la variable Ndda, ya que los resultados del análisis estadístico para este mismo tratamiento indican que obtuvo el porcentaje más bajo (33.48 %) con relación a los demás.

Al respecto, el tratamiento INTA Nutritivo + Zamorano (78.7 %) resultó con el porcentaje más alto del Ndda. Un comportamiento opuesto se observó en este mismo tratamiento para las demás variables, ya que para Nddf y Ndds, éste obtuvo los porcentajes más bajos, con 0.5 y 20.87 % respectivamente. Es importante destacar que la variedad INTA Biofortificado inoculada con ambas cepas, obtuvo cantidades similares de Ndda, con una diferencia de 1.87 % a favor de la cepa Zamorano. Esto sugiere que esta variedad responde bien a cualquiera de los dos inoculantes sin afectar la fijación de nitrógeno atmosférico. Por su parte, la variedad INTA Nutritivo responde mejor a la inoculación con la cepa Zamorano aumentando en un 32 % más el porcentaje de nitrógeno que cuando se inoculó con la cepa INTA.

A pesar de que el ANDEVA no detectó diferencias significativas en las interacciones, es importante destacar que al analizar el aporte neto del nitrógeno total acumulado en la biomasa aérea, se observa que en promedio, alrededor del 56 % provino principalmente del aire, lo que contrasta a la creencia de que el frijol común es invariablemente un pobre fijador de nitrógeno atmosférico, los resultados evidencian que las tres variedades evaluadas tienen un alto potencial de fijación simbiótica bajo las condiciones en las que se desarrolló el experimento, ya que la principal fuente de este elemento planta provino de esta vía.

No obstante, si bien este estudio se realizó para evaluar la capacidad de fijación, es valioso resaltar que la otra fuente principal de este nitrógeno provino del suelo (alrededor del 43.1 %), cuya disponibilidad está regulada por la acción de los microorganismos. Los resultados obtenidos para esta variable fueron superiores a los reportados por Tsai *et al.*, (1993a), quienes bajo diferentes niveles de fertilidad de suelo registraron que el aporte de Ndds varió en un rango de 8.7 y 31.7 %, lo cual es considerablemente menor a los resultados de este estudio.

En este sentido, desde hace varias décadas se reconoce que los procesos de fijación de nitrógeno y mineralización de nutrientes llevados a cabo por los microorganismos, son cruciales y complementarios en los agroecosistemas, porque estos metabolizan formas recalcitrantes de nitrógeno y otros nutrientes, que se liberan a la solución del suelo, y que además de contribuir sustancialmente a la nutrición de las plantas disminuyendo la entrada de insumos externos y optimizan otros procesos biológicos que tienen efectos positivos sobre el crecimiento vegetal (Jacoby *et al.*, 2017). Sin embargo, es preciso señalar que algunos cultivares como INTA Ferroso, dependen en mayor medida del nitrógeno disponible del suelo ($\approx 60\%$), que, del aporte atmosférico inducido por la fijación, lo que indica que probablemente, en suelos pobres en nitrógeno y no fertilizados, la producción de biomasa de esta variedad sea considerablemente inferior a la reportada en este estudio.

Las cantidades nitrógeno de la fijación determinados en este estudio, son comparables a los reportados por Bliss (1993a), quien afirma que es común encontrar variedades adaptadas localmente capaces de obtener entre el 40 % – 50 % del nitrógeno en la planta derivado de la fijación con rendimientos de Ndda de 50 kg ha^{-1} . Cuando se alcanzaron estos niveles de fijación y

otros factores no fueron mayormente limitantes, el autor reporta que se produjeron rendimientos de 1 000 a 1 500 kg ha⁻¹; los cuales son similares a los registrados en este estudio (Cuadro 6).

En cuanto al % Nddf, un experimento similar en frijol cowpea en condiciones de campo conducido por Sarr *et al.*, (2008), obtuvo resultados similares con respecto a esta variable, con valores que oscilaron entre 0.019 % y 15.3 %, lo cual se correlacionó con una baja eficiencia del fertilizante, que se atribuye a pérdidas por lixiviación, volatilización e inmovilización microbiana, que ocurren con mayor intensidad (entre 55 % – 60 %) en una profundidad de 0 a 15 cm, considerando además la baja respuesta que tienen las leguminosas a los fertilizantes nitrogenados.

Es importante destacar que la contribución porcentual de la fijación simbiótica al nitrógeno total en la biomasa aérea registrada en el mejor tratamiento (INTA Nutritivo + Zamorano), ha sido superior a la encontrada por algunos autores que han trabajado en leguminosas de grano utilizando el mismo método, tanto en condiciones de maceta (Vesterager *et al.*, 1995) como de campo (Ikram *et al.*, 1995; Cadisch *et al.*, 1989), cuyos valores máximos registrados fueron del 70 %. Otros estudios realizados por Galiana *et al.* (2002) en especies leguminosas de tipo leñoso, estimaron una fijación de nitrógeno por el método de abundancia natural de ¹⁵N entre el 55 % – 62 %.

No obstante, Miranda y Bliss (1991) aclaran que las cantidades de nitrógeno fijadas del aire son muy variables, pero se estima que tienen un valor medio estimado del 39 %, por lo que, en términos generales, es destacable la efectividad de la simbiosis de las tres variedades con las dos cepas utilizadas en este estudio.

5.1.2. Rendimiento del nitrógeno derivado del fertilizante (RNddf), del aire (RNdda) y del suelo (RNdds) en la biomasa aérea (kg ha⁻¹)

El uso del isótopo ¹⁵N a través del principio de dilución isotópica, provee una medida integrada de la cantidad de nitrógeno acumulado por el cultivo durante su ciclo de crecimiento, permitiendo diferenciar del nitrógeno total, la cantidad proveniente de los tres aportes que tiene la planta (en el caso de las leguminosas); el nitrógeno fijado del aire, el nitrógeno disponible del suelo y el nitrógeno aportado por el fertilizante aplicado, estas tres fracciones corresponden al RNdda, RNdds y RNddf respectivamente.

En el cuadro 5, se muestra que los valores más altos de RNddf y RNdds se registraron en la variedad INTA Ferroso con 0.11 y 5.0 kg ha⁻¹ respectivamente. Para estas dos variables, la prueba de separación de medias no identificó categorías estadísticamente diferentes en las variedades INTA Nutritivo e INTA Biofortificado. No obstante, se observó que hubo un mayor rendimiento de nitrógeno proveniente del aire en estos dos cultivares (5.19 y 5.0 kg ha⁻¹ respectivamente), que resultaron ser estadísticamente superiores a la variedad INTA Ferroso (3.0 kg ha⁻¹).

Cuadro 5. Rendimiento del nitrógeno derivado del fertilizante (RNddf), aire (RNdda) y suelo (RNdds) en la biomasa aérea en kg ha⁻¹

Tratamientos		RNddf	RNdda kg ha ⁻¹	RNdds
Variedades	INTA Ferroso	0.11 a	3.00 b	5.00 a
	INTA Nutritivo	0.06 b	5.19 a	3.00 b
	INTA Biofortificado	0.05 b	5.00 a	2.11 b
p-valor		0.0034	0.0017	0.0023
Inóculo	Zamorano	0.09 a	6.09 a	4.00 a
	INTA	0.06 b	2.42 b	3.00 b
p-valor		0.0316	<0.0001	0.0384
Variedad + Inóculo	INTA Fe -Zamorano	0.14 a	4.00	6.00
	INTA Nutri - Zamorano	0.05 b	8.00	2.22
	INTA Bio - Zamorano	0.07 ab	7.00	3.00
	INTA Fe -INTA	0.07 ab	2.00	3.29
	INTA Nutri - INTA	0.07 b	3.00	3.05
	INTA Bio - INTA	0.03 b	3.00	1.22
p-valor		0.0495	NS	NS
CV (%)		48.0	33.70	46.74

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). // RNddf: Rendimiento de Nitrógeno derivado del fertilizante. RNdds: Rendimiento de Nitrógeno derivado del suelo. RNdda: Rendimiento de Nitrógeno derivado del aire. CV: Coeficiente de variación.

El mayor rendimiento del nitrógeno derivado de las tres fuentes de este nutriente para el cultivo se observó en la cepa proveniente del Zamorano, quien fue estadísticamente superior a la cepa INTA, logrando un rendimiento tres veces mayor; estos mismos resultados se reflejan al analizar los efectos de las interacciones. Con relación al RNddf y RNdds en la biomasa aérea, la variedad INTA Ferroso inoculada con la cepa Zamorano expresó los mayores rendimientos, con 0.14 y 6.0 kg ha⁻¹ respectivamente, sin embargo, este mismo tratamiento resultó con el rendimiento más bajo para la variable RNdda con 4.0 kg ha⁻¹ junto con los tratamientos INTA Ferroso (2.0 kg ha⁻¹),

INTA Nutritivo (3.0 kg ha^{-1}) e INTA Biofortificado (3.0 kg ha^{-1}) todos inoculados con la cepa proveniente del INTA.

Para la variable RNdda, no se detectó diferencias estadísticas, sin embargo, en términos agronómicos, los tratamientos INTA Nutritivo, INTA Biofortificado e INTA Ferroso inoculados con la cepa Zamorano, expresaron los mayores rendimientos del nitrógeno del aire, con 8.0 , 7.0 y 4.0 kg ha^{-1} respectivamente. Un comportamiento opuesto se observó cuando estas variedades fueron inoculadas con la cepa proveniente del INTA, ya que estas obtuvieron los rendimientos más bajos para RNdda. Por otra parte, los valores más bajos de RNddf y RNdds en la biomasa aérea se observaron en las variedades INTA Biofortificado inoculada con la cepa del INTA, con rendimientos de 0.03 y 1.22 kg ha^{-1} respectivamente, e INTA Nutritivo, inoculado con la cepa Zamorano con 0.05 y 2.22 kg ha^{-1} en orden de variables.

Aunque el frijol común es considerado muchas veces como un pobre fijador de nitrógeno atmosférico, estos resultados sugieren que hubo un aporte considerable de esta fuente en la biomasa aérea en términos de rendimiento en relación con las otras dos. Los valores más altos de RNdda registrados en los tratamientos INTA Nutritivo e INTA Biofortificado inoculados con la cepa Zamorano (8.0 y 7.0 kg ha^{-1}), se encuentran en el rango determinado por Tsais *et al.* (1993b), quien evaluó 31 genotipos de frijol común clasificados como fijadores altamente eficientes, obteniendo valores de RNdda en un rango de 5.6 y 21.1 kg ha^{-1} .

No obstante, otro estudio de Tsai *et al.* (1993a), realizado bajo condiciones controladas utilizando una variedad de frijol común, demostró que es posible incrementar considerablemente el rendimiento del nitrógeno atmosférico si las aplicaciones de fertilizantes nitrogenados son mínimas y las aplicaciones Fósforo, Potasio y Azufre son adecuadas, bajo estas últimas condiciones el rendimiento del nitrógeno en la biomasa aérea fue de hasta 750.4 kg ha^{-1} , y cuando las aplicaciones fueron mínimas los valores fueron de 26.2 kg ha^{-1} , que aún siguen siendo considerablemente superiores a los de este estudio. Es probable que la disponibilidad de Fosforo donde se realizó el ensayo³ haya sido un factor limitante por las características ándicas de estos

³ Pese a la aplicación que se hizo al preparar el suelo.

suelos, lo cual Ramaekers *et al.* (2013), resalta como uno de los principales factores abióticos que afectan la capacidad de fijación.

Se observó que existe una mayor efectividad simbiótica cuando se utilizó el inóculo Zamorano ya que con su uso se obtuvieron los aportes más notables de nitrógeno a la planta, en términos de rendimiento y nitrógeno total. Al respecto, Vasquez (1996), expresa que, dentro del estudio de los sistemas simbióticos, se han reportado numerosos casos que indican que existe una enorme variación de preferencia entre micro y macro simbioses, esta preferencia según Hardarson & Jones (1979), se encuentra controlada principalmente por factores genéticos del hospedero. Heichel *et al.* (1984), agregan que es común encontrar una diferente preferencia por especie o cultivar para unas cepas en particular. Esto sugiere que hubo una mayor compatibilidad del inóculo Zamorano con las tres variedades en comparación el inóculo INTA.

Basado en los resultados mostrados en los cuadros 3, 4 y 5, se asume que la simbiosis del inóculo proveniente del Zamorano con las tres variedades de frijol fue sobresaliente, ya que estos tratamientos registraron los mayores valores de nitrógeno total, rendimiento de biomasa y rendimiento de nitrógeno en biomasa aérea, siendo la mayor fuente de este elemento el aportado por el aire a través del proceso de fijación. Estos resultados permiten inferir que existe una mayor compatibilidad entre huésped – simbiote; por ello, se afirma que esta cepa específica de rizobios puede ejercer efectos sobre la morfología y fisiología en cualquiera de las tres variedades que conduce a un incremento de la cantidad de nitrógeno atmosférico proveído a la planta, lo cual es considerablemente superior al aportado por las otras dos fuentes.

5.2. Rendimiento de grano (kg ha⁻¹)

La inoculación de las leguminosas, especialmente de frijol común, tiene un gran potencial para incrementar el rendimiento de grano con menores costos de producción que usando fertilizantes químicos. Por lo tanto, es ventajoso seleccionar cepas efectivas para variedades específicas de la región donde se cultiva esta especie para fines alimenticios (Cantaro-Segura *et al.*, 2019).

Los resultados mostrados en el cuadro 6, indican que el ANDEVA no detectó diferencias significativas sobre la variable nitrógeno total en grano para el factor variedades, sin embargo, en el caso del rendimiento de grano y el rendimiento del nitrógeno total en grano, la variedad INTA Nutritivo expresó los promedios más altos, con 1 913 y 56.65 kg ha⁻¹ respectivamente. La prueba de Tukey agrupó a las variedades INTA Ferroso (1 457 kg ha⁻¹) e INTA Biofortificado (1 641 kg ha⁻¹) como estadísticamente iguales (e inferiores a INTA Nutritivo) para el rendimiento de grano. En el caso del rendimiento del nitrógeno, la variedad INTA Ferroso resultó con el promedio más bajo (41.3 kg ha⁻¹), en cambio, INTA Biofortificado (50.5 kg ha⁻¹) fue estadísticamente igual a la variedad INTA Nutritivo para esta variable.

Se determinó que para el factor inóculos no existen diferencias significativas sobre el nitrógeno total (p -valor <0.05), no obstante, en el caso del rendimiento de grano y rendimiento del nitrógeno total en grano, la cepa Zamorano fue estadísticamente superior ($p>0.05$), observándose promedios de 1 791.3 y 52.1 kg ha⁻¹ respectivamente. La diferencia más notable se observa en cuanto al rendimiento, ya que el uso de la cepa Zamorano muestra una diferencia de +242 kg ha⁻¹ con respecto a la cepa del INTA.

Cuadro 6. Resultados de nitrógeno total (%) en grano (kg) y su rendimiento (kg)

Tratamientos		NTG	RG	RNTG
		%	kg ha ⁻¹	
Variedades	INTA Ferroso	2.85 a	1457 b	41.3 b
	INTA Nutritivo	2.97 a	1913 a	56.65 a
	INTA Biofortificado	3.07 a	1641 b	50.5 a
p-valor		0.1134	0.0001	0.0002
Inóculo	Zamorano	2.9 a	1791.3 a	52.1 a
	INTA	3.0 a	1549.3 b	46.8 b
	p-valor	0.2882	0.0029	0.0463
Variedad + Inóculo	INTA Fe -Zamorano	2.8ab	1578	43.32
	INTA Nutri - Zamorano	2.8 ab	2034	56.54
	INTA Bio - Zamorano	3.2 a	1762	56.57
	INTA Fe -INTA	2.9 ab	1336	39.27
	INTA Nutri - INTA	3.2 ab	1792	56.75
	INTA Bio - INTA	2.9 ab	1520	44.42
	p-valor	0.0095	NS	NS
CV (%)		7.60	11.95	14.04

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). //NTG: Nitrógeno total en el grano. RG: Rendimiento de grano. RNTG: Rendimiento de Nitrógeno total en el grano. CV: Coeficiente de variación.

En el cuadro 6 no se observan diferencias significativas para las variables rendimiento de grano (kg ha⁻¹) y rendimiento de nitrógeno total en el grano (kg ha⁻¹), a pesar de ello, para la variable nitrógeno total en el grano (%), si se detectaron (p -valor < 0.05). En cuanto al rendimiento de grano, se observa que el tratamiento que obtuvo el promedio más alto fue la variedad INTA Nutritivo inoculada con la cepa Zamorano, con 2 034 kg ha⁻¹, en cambio, el tratamiento con el valor más bajo fue la variedad INTA Ferroso inoculada con la cepa INTA con 1 336 kg ha⁻¹.

En cuanto al rendimiento del nitrógeno total en el grano, la variedad INTA Nutritivo inoculada con ambas cepas (56.75 y 56.54 kg ha⁻¹ con INTA y Zamorano respectivamente), junto a la variedad INTA Biofortificado inoculada con la cepa Zamorano (56.57 kg ha⁻¹), registraron los valores más altos en comparación con los demás tratamientos. La combinación que registró el rendimiento más bajo fue en la variedad INTA Ferroso + INTA, con un promedio de 39.27 kg ha⁻¹. En relación con el nitrógeno total en grano, la prueba de Tukey separó dos categorías estadísticas, dónde el tratamiento INTA Biofortificado + Zamorano resultó con el promedio más alto (3.2 %),

el cual es + 0.4 % superior a los tratamientos con los porcentajes más bajos (INTA Ferroso e INTA Nutritivo inoculados con la cepa Zamorano).

Los resultados del rendimiento de grano obtenidos en este ensayo concuerdan con los rangos encontrados por Samago *et al.* (2018), quienes evaluaron durante dos años el crecimiento de dos variedades de frijol común, el rendimiento simbiótico y el rendimiento de grano en respuesta a la inoculación de dos cepas de *Rhizobium* spp., obteniendo rendimientos que variaron en un rango de 1 840 y 2 050 kg ha⁻¹. Estos resultados demuestran que con el uso de bacterias simbióticas es posible obtener rendimientos comparables con los sistemas de agricultura convencional altamente dependientes de insumos externos que predominan en el país. De acuerdo con cifras del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA, 2009), con un manejo convencional tradicional⁴ los rendimientos de grano en algunas zonas productoras del país pueden alcanzar hasta 1 900 kg ha⁻¹, cifra que se encuentra en el rango registrado por los tratamientos evaluados (1 336 – 2 034 kg ha⁻¹).

El uso de técnicas isotópicas permite hacer una comparación muy precisa del RNTG y el RNTBA, ya que permite analizar a dónde se distribuye el nitrógeno absorbido. Los resultados descritos previamente indican que la concentración final del nitrógeno disminuye en la hoja, tallo y vaina y tiene un aumento considerablemente mayor en el grano. Según Lata-Tenesaca *et al.* (2017), esto es resultado de que las variedades modernas de frijol común tienden a concentrar el nutriente en el grano fresco, disminuyéndolo para el follaje, lo que según Bitocchi *et al.* (2012), se correlaciona positivamente con el mayor contenido de proteínas en el grano, lo cual responde a la importancia nutricional que tienen estos cultivares.

Un aspecto importante que resaltar, es el rango del rendimiento del nitrógeno en el grano registrado en los tratamientos evaluados (39.27 kg ha⁻¹ – 56.75 kg ha⁻¹), los cuales son considerablemente superiores a los reportados por un estudio de Tsai *et al.* (1993b), quienes evaluaron en campo el comportamiento de 31 líneas de frijol común seleccionadas específicamente por su sobresaliente capacidad de fijación en simbiosis, cuyos valores oscilaron entre 4.72 kg ha⁻¹ y 26.84 kg ha⁻¹; los

⁴ Considerando aplicaciones 92 kg ha de nitrógeno más la adición de otros macro y micronutrientes.

autores atribuyeron estos resultados al efecto que tuvo la aplicación de fertilizantes nitrogenados en las unidades experimentales, lo cual afectó la formación y funcionamiento de los nódulos.

5.2.1. Porcentaje de nitrógeno en el grano derivado del fertilizante (% Nddf), aire (% Ndda) y suelo (% Ndds)

Numerosos estudios utilizan como un fuerte indicador el porcentaje de Ndda en semillas para evaluar la capacidad y efectividad de la fijación biológica de nitrógeno (Barbosa *et al.*, 2018; Polania *et al.*, 2016). Esto es consecuencia de que las variedades de frijol común mejorado trasladan gran parte de su nitrógeno de las partes vegetativas a las semillas, por lo que esta variable conduce a una adecuada selección tanto de macro como micro simbioses con buenas capacidades de fijación de nitrógeno (Reinprecht *et al.*, 2020).

En el cuadro 7, se observa que el análisis estadístico detectó que no hubo efecto de las variedades en las cantidades de nitrógeno derivados del fertilizante, aire y suelo, expresadas en porcentaje. No obstante, se aprecia que en cuanto a los inóculos si hubo significancia. La cepa INTA resultó con los promedios más altos de Nddf y Ndds siendo estadísticamente superior, con 1.13 y 49.2 % respectivamente, en cambio la cepa Zamorano presentó los promedios más bajos 0.6 % y 29.1 % para las mismas variables. Esto es evidente si consideramos que con esta cepa se obtuvieron los valores más bajos de Nddf y Ndds en la biomasa, por tanto, las cantidades traslocadas al grano de estas fracciones debían resultar menores. Con relación al Ndda, la prueba de Tukey indica que la cepa Zamorano fue superior a la proveniente del INTA, con un promedio de 70.3 % respecto al 44.4 % del otro inóculo.

Cuadro 7. Porcentaje del nitrógeno derivado del fertilizante (Nddf), aire (Ndda) y suelo (Ndds) en grano

Tratamientos		Nddf	Ndda	Ndds
		%		
Variedades	INTA Ferroso	1.02	49.8	49.2
	INTA Nutritivo	0.79	61.3	37.9
	INTA Biofortificado	0.79	60.9	49.2
p-valor		NS	NS	NS
Inóculo	Zamorano	0.60 b	70.3 a	29.1 b
	INTA	1.13 a	44.4 b	54.5 a
	p-valor	0.0037	0.0036	0.0036
Variedad + Inóculo	INTA Fe -Zamorano	0.85	57.9	41.1
	INTA Nutri - Zamorano	0.30	85.3	14.4
	INTA Bio - Zamorano	0.66	67.6	31.8
	INTA Fe -INTA	1.19	41.6	57.26
	INTA Nutri - INTA	1.27	37.3	61.42
	INTA Bio - INTA	0.93	54.2	44.9
	p-valor	NS	NS	NS
CV (%)		51.62	38.40	51.57

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). // Nddf: Nitrógeno derivado del fertilizante. Ndda: Nitrógeno derivado del aire. Ndds: Nitrógeno derivado del suelo. CV: Coeficiente de variación.

Como se aprecia en el cuadro 7, los efectos de interacción no indujeron diferencias significativas en cuanto al nitrógeno aportado por las tres fuentes al grano. Sin embargo, las variedades INTA Nutritivo e INTA Ferroso inoculadas con la cepa proveniente del INTA, resultaron con los porcentajes más altos de Nddf y Ndds, siendo agrónomicamente superiores a los demás. Es interesante destacar que estos mismos tratamientos fueron quienes registraron los promedios más bajos de Ndda, con 37.3 % y 41.6 % respectivamente.

Para esta misma variable, el tratamiento que tuvo el mayor porcentaje de Ndda fue la combinación de la variedad INTA Nutritivo + Zamorano, quien fue notablemente superior a los demás tratamientos con un porcentaje de 85.3 %, superando en un 48 % a la variedad INTA Nutritivo + INTA, quien resultó con el promedio más bajo (37.3 %). Al igual que con los resultados observados en el cuadro 4 en la biomasa aérea, los mayores aportes de nitrógeno en el grano provinieron principalmente del aire y en menor medida del suelo. Jacoby *et al.* (2017) expresa que, comercialmente, la asociación simbiótica entre leguminosas y bacterias se explota de forma rutinaria y generalizada para reducir el uso de fertilizantes nitrogenados, sin embargo, hoy en día,

los enfoques de agricultura sostenible tratan de encontrar nuevas formas de refinar y optimizar la efectividad de este proceso en los agroecosistemas.

En este sentido, las investigaciones en las comunidades microbianas de la rizósfera parecen ser la ruta más adecuada para encontrar la respuesta, ya que las funciones que los microorganismos de esta zona desempeñan, estimulan la nutrición de las plantas y tienen inclusive, el potencial de generar relaciones mutualistas con diazótrofos (Weese *et al.*, 2015). Existen numerosos estudios que indican que la promoción del crecimiento de las plantas inoculadas con cepas bacterianas se optimiza a través de la movilización microbiana del nitrógeno del suelo hacia las raíces (Shaharoon *et al.*, 2008; Adesemoye *et al.*, 2009), incluyendo el efecto del incremento en la biodisponibilidad del elemento mediante la mineralización.

Los rangos de % Ndda de este experimento en los tratamientos evaluados (37.3 % – 85.3 %), son notablemente superiores a los encontrados por Reinprecht *et al.* (2020), quienes evaluaron el efecto del uso de fertilizantes nitrogenados con y sin inoculación de una cepa de *Rhizobium* spp., en 22 genotipos de frijol, encontrando valores de Ndda en el grano entre 20.4 % cuando solo se fertilizó con 100 kg de nitrógeno, 25.4 % cuando se inoculó y fertilizó con la misma dosis, y 42.6 % cuando solo se inoculó. Estas diferencias con respecto a los resultados reportados en este estudio⁵, se atribuyen a que los altos niveles de fertilidad pueden suprimir la capacidad de fijación simbiótica, por tal razón, una dosis baja como la aplicada en este experimento (20 kg ha⁻¹) sumado a las características edáficas donde se desarrolló, indujeron una mayor efectividad de la simbiosis que se tradujo en un incremento del Ndda en el grano.

Por otra parte, otro estudio de Tsais *et al.* (1993b) en la que también se aplicó nitrógeno, sin embargo, con una dosis menor (60 kg ha⁻¹) a la aplicada en el ensayo de Reinprecht *et al.* (2020) en los tratamientos fertilizados, registró valores de %Ndda en la semilla de 31 genotipos de frijol en un rango de 12.8 % y 60.6 %, que pese a que aún estos valores se encuentran fuera del rango reportado en este estudio, es otro ejemplo que evidencia que la aplicación de fertilizantes nitrogenados tiene un efecto depresivo sobre el proceso de fijación. Sin embargo, es posible

⁵ Es necesario aclarar que el estudio de Reinprecht *et al.* (2020) tenían el propósito de identificar cultivares mejorados que expresaran su mayor potencial productivo en suelos ricos en nitrógeno.

encontrar variedades que tengan una respuesta inferior a la simbiosis, tal como ocurrió con la variedad INTA Ferroso, inoculada con ambas cepas, ya que mostró una mayor dependencia del nitrógeno aportado por el suelo (principalmente) y por el fertilizante en comparación a los demás tratamientos.

Bliss (1993b), menciona que, obtener rendimientos de semilla económicamente rentables entre 1 000 y 2 000 kg ha⁻¹ en sistemas de producción de pequeña y/o mediana escala, no sería posible si los niveles de porcentaje de Ndda fueran bajos. Sin embargo, debido a que estos datos son muy variables, muchas veces es difícil generalizar y realizar comparaciones por las interacciones entre varios factores como genotipo, la cepa rizobiana, el entorno de crecimiento, la etapa de crecimiento de las leguminosas y el nitrógeno del suelo disponible para las plantas (Wilker *et al.*, 2019); algunos autores como Heilig *et al.* (2017), Kamfwa *et al.* (2015) y Wilker *et al.* (2019), determinaron como valores bajos de % Ndda en sus investigaciones de 9.8 %, 3.6 % y 35.8 % respectivamente, los cuales son superados notablemente por los obtenidos en este experimento con los tratamientos evaluados.

Algunas experiencias como la de Hardarson *et al.* (1993), evaluando la efectividad simbiótica de 10 genotipos de frijol común en Guatemala, concluye que cuando que el porcentaje y rendimiento del Ndda alcanzaron valores de 71 % y 106 kg ha⁻¹ respectivamente, el rendimiento promedio de grano de los genotipos fue de 3 400 kg ha⁻¹.

5.2.2. Rendimiento de nitrógeno derivado del fertilizante (RNddf), aire (RNdda) y suelo (RNdds) en grano en kg ha⁻¹

El cuadro 8 indica que las tres variedades no presentaron diferencias significativas (p-valor>0.05) para las variables RNddf y RNdds en grano, no obstante, se observó un mayor rendimiento del nitrógeno proveniente del suelo en las variedades INTA Nutritivo (21.28 kg ha⁻¹) e INTA Ferroso (20.34 kg ha⁻¹) en relación con INTA Biofortificado (18.31 kg ha⁻¹). Con respecto al RNdda, la variedad INTA Nutritivo fue estadísticamente superior a las demás, con 34.93 kg ha⁻¹, seguido de la variedad INTA Biofortificado con 31.81 kg ha⁻¹ y en último lugar la variedad INTA Ferroso con 20.53 kg ha⁻¹.

En cuanto al efecto de los inóculos, en el cuadro 8 se observan diferencias significativas; la cepa proveniente del Zamorano resultó con los mayores promedios de RNdda y RNdds, con 37.6 y 25.7 kg ha⁻¹ respectivamente, no fue el caso para la variable RNddf, donde se obtuvo el rendimiento más bajo (0.3 kg ha⁻¹). Por otra parte, la cepa INTA presentó el RNddf más alto (0.5 kg ha⁻¹) y expresó un efecto notablemente inferior a la cepa Zamorano para las variables RNdda y RNdds, obteniendo los promedios más bajos.

Cuadro 8. Rendimiento del nitrógeno derivado del fertilizante (RNddf), aire (RNdda) y suelo (RNdds) en grano

Tratamientos		RNddf	RNdda kg ha ⁻¹	RNdds
Variedades	INTA Ferroso	0.4	20.53 b	20.34
	INTA Nutritivo	0.4	34.93 a	21.28
	INTA Biofortificado	0.4	31.81 ab	18.31
p-valor		NS	0.0278	NS
Inóculo	Zamorano	0.3 b	37.6 a	25.7 a
	INTA	0.5 a	20.6 b	14.2 b
p-valor		0.0050	0.0006	0.0051
Variedad + Inóculo	INTA Fe -Zamorano	0.36 ab	25.8	17.18 ab
	INTA Nutri - Zamorano	0.17 b	48.14	8.23 b
	INTA Bio - Zamorano	0.36 ab	38.8	17.43 ab
	INTA Fe -INTA	0.49 ab	15.3	23.50 ab
	INTA Nutri - INTA	0.71 a	21.72	34.32 a
	INTA Bio - INTA	0.40 ab	24.84	19.18 ab
p-valor		0.0297	NS	0.0295
CV (%)		50.59	40.29	50.63

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). // RNddf: Rendimiento de Nitrógeno derivado del fertilizante. RNdds: Rendimiento de Nitrógeno derivado del suelo. RNdda: Rendimiento de Nitrógeno derivado del aire. CV: Coeficiente de variación.

Con relación al efecto de interacción sobre el rendimiento del nitrógeno proveniente de las tres principales fuentes, en el cuadro 8 se aprecian diferencias significativas para las variables rendimiento de nitrógeno derivado del fertilizante y del suelo (kg ha⁻¹). La variedad INTA Nutritivo inoculada con la cepa INTA fue superior para estas dos variables con rendimientos de 0.71 kg ha⁻¹ y 34.32 kg ha⁻¹ respectivamente. En cambio, INTA Nutritivo + Zamorano, expresó los rendimientos más bajos para estas mismas variables con 0.17 y 8.23 kg ha⁻¹ correspondientemente.

En cuanto al RNdda, pese a que no se detectaron diferencias estadísticas, este último tratamiento resultó con los rendimientos más altos (48.14 kg ha^{-1}), superando notablemente al tratamiento INTA Ferroso + INTA, que obtuvo el valor más bajo (15.3 kg ha^{-1}), con una diferencia de 32.84 kg ha^{-1} . Esta diferencia es comparable con los valores reportados por Sánchez (1981), quien afirma que para obtener rendimientos promedios de 1 t ha^{-1} , el cultivo remueve del suelo alrededor de 31 kg ha^{-1} de nitrógeno a través del grano, no obstante, el rendimiento de INTA Nutritivo + Zamorano superó en un 103.4 % este rendimiento, con un 54.8 % más de nitrógeno acumulado, que de los cuales, el 85.1 % de toda esta cantidad (48.14 kg ha^{-1}) fue aportado por la atmosfera.

Para ambas variedades, el nitrógeno atmosférico y del suelo fueron las fuentes que representaron los mayores aportes de este nutriente. Los 20 kg ha^{-1} de nitrógeno aplicados en las parcelas tuvieron poca influencia en la nutrición de la planta y consecuentemente en la acumulación de esta fuente en el grano a la madurez ($<0.71 \text{ kg ha}^{-1}$), lo cual concuerda con un estudio conducido por Longeri *et al.* (1993) quienes, usando el mismo método, analizaron el proceso fijación y removilización de nitrógeno en dos cultivares de frijol común, encontrando valores medios de RNddf de 1.7 kg ha^{-1} en la etapa de madurez fisiológica.

Los rangos del RNdda en el grano obtenidos en este experimento (15.3 kg ha^{-1} y 48.14 kg ha^{-1}), son considerablemente mayores a los reportados por Tsai *et al.* (1993b), quienes, al evaluar la fijación de 31 tipos de frijol mediante la misma técnica, obtuvieron valores máximos y mínimos de 18.6 y 2.2 kg ha^{-1} respectivamente. En cambio, en otro estudio realizado por Rymuza *et al.* (2020) se encontraron valores similares a los registrados en este experimento; estos autores evaluaron durante dos años el consumo y distribución del nitrógeno en tres leguminosas herbáceas, determinando un RNdda en la semilla que varió entre 29.7 kg ha^{-1} y 51.2 kg ha^{-1} durante el periodo evaluado.

Se conoce que la demanda de nitrógeno por las semillas es alta, por tal razón, es importante enfatizar que las diferencias de rendimiento de este nutriente entre el grano y la biomasa aérea (Cuadros 8 y 5 respectivamente), son un indicador de los niveles de remoción de nitrógeno en el suelo. Por dar un ejemplo, sin considerar el rendimiento del nitrógeno atmosférico, el tratamiento INTA Nutritivo + Zamorano tuvo una acumulación neta de nitrógeno en el grano cuatro veces

superior a la acumulada en la biomasa, por lo que es evidente la importancia que tiene el uso de bacterias para reducir los efectos depresivos sobre los contenidos de nitrógeno en el suelo y disminuir la aplicación de fertilizantes para restituir las cantidades exportadas por el cultivo, o bien, para garantizar la producción de cultivos en suelos con baja fertilidad de nitrógeno. En el siguiente cuadro se sintetizan los principales resultados y conclusiones derivadas de este estudio.

Cuadro 9. Resumen del nitrógeno contenido en cada componente del rendimiento y el proveniente de cada fracción, derivado del fertilizante (Nddf), del aire (Ndda) y del suelo (Ndds) en kg ha⁻¹ y %

Tratamientos		RNTBA	RNTG	NTAB	Nddf	Ndda	Ndds
		kg ha ⁻¹					
Variedades	INTA Ferroso	7.4	41.3	48.7	0.5	23.3	24.9
	INTA Nutritivo	7.9	56.7	64.5	0.5	39.7	40.1
	INTA Biofortificado	7.0	50.5	57.5	0.5	35.6	27.0
Promedios		7.4±0.5	49.5±7.7	56.9±7.9	0.5±0.0	32.8±8.5	30.7±8.3
%		13.1	86.9	100	0.9	57.8	53.9
Inóculo	Zamorano	9.9	52.1	62.0	0.4	42.8	18.8
	INTA	5.0	46.8	51.8	0.6	23.2	28.0
	Promedios	7.4±3.4	49.5±3.7	56.9±7.2	0.5±0.1	33±13.8	23.4±6.5
%		13.1	86.9	100	0.9	58.0	41.1
Variedad + Inóculo	INTA Fe - Zamorano	9.86	43.32	53.18	0.51	28.95	23.66
	INTA Nutri - Zamorano	9.87	56.54	66.41	0.22	55.95	10.2
	INTA Bio - Zamorano	9.92	56.57	66.49	0.44	45.17	20.92
	INTA Fe -INTA	4.96	39.27	44.23	0.54	18.00	23.94
	INTA Nutri - INTA	5.99	56.75	62.74	0.79	24.17	37.99
	INTA Bio - INTA	4.05	44.42	48.47	0.44	26.83	21.21
Promedios		7.4±2.7	49.5±8.5	56.9±9.6	0.5±0.2	33.2±14.4	23.0±8.9
%		13.1	86.9	100	0.9	58.3	40.4

RNTBA: Rendimiento de Nitrógeno total en la biomasa aérea. RNTG: Rendimiento de Nitrógeno total en el grano. NTBA: Nitrógeno total absorbido. Nddf: Nitrógeno derivado del fertilizante. Ndda: Nitrógeno derivado del aire. Ndds: Nitrógeno derivado del suelo.

En contraposición a las afirmaciones tradicionales de que el cultivo de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) depende de la aplicación de fertilizantes nitrogenados para obtener un buen rendimiento en campo (Sánchez, 1981; Fassbender, 1967; Yadegari, 2014; Cantaro-Segura *et al.*, 2019; Granda *et al.*, 2009; Gómez *et al.*, 1998), los resultados de este estudio, considerando las condiciones de suelo y clima en las que fue desarrollado, indican todo lo contrario, ya que, a pesar de que no se detectó significancia cuando se evaluó el efecto combinado de los factores principales,

es notable que el aporte al nitrógeno contenido en cada componente del rendimiento provino principalmente del aire ($>32 \text{ kg ha}^{-1}$), lo que indica que alrededor del 58 % del nitrógeno total derivó de la atmósfera a través del proceso de fijación.

Un factor clave que explica estos resultados es el éxito de la interacción entre los inóculos y las variedades seleccionadas, observándose una mayor compatibilidad con la cepa Zamorano inoculada en cualquiera de los tres genotipos, esto se reflejó en la alta efectividad simbiótica dada por los aportes promedio de nitrógeno derivado del aire en estos tratamientos, que en promedio fue de 43.4 kg ha^{-1} , el cual fue considerablemente mayor al registrado en las otras dos fuentes de este nutriente.

VI. CONCLUSIONES

En términos generales, no se detectó significancia en las interacciones, sin embargo, en términos agronómicos, las tres variedades de frijol presentaron un comportamiento sobresaliente en cuanto a su capacidad de fijación en simbiosis con los inóculos evaluados. Los resultados sugieren que la inoculación con rizobios tiene el potencial para mejorar la productividad del frijol común con una mínima aplicación de fertilizantes nitrogenados.

Se identificó una mayor efectividad simbiótica cuando se utilizó el inóculo Zamorano con cualquiera de las tres variedades, ya que estos tratamientos obtuvieron los valores más altos de nitrógeno total en la biomasa y grano, siendo la fuente principal de este nutriente aportado por el aire, no obstante, independientemente de la cepa, el aporte de esta fuente al cultivo representó más del 50 % del nitrógeno total en todos los tratamientos, lo cual incidió positivamente en el rendimiento de grano y la producción de biomasa.

VII. RECOMENDACIONES

Utilizar cualquiera de las combinaciones (variedad + cepa) para la producción de frijol, si se busca reducir el uso de fertilizantes nitrogenados, considerando las condiciones de suelo, clima y manejo en las que fue desarrollado este experimento.

Si se utiliza la variedad INTA Ferroso, los suelos deben ser ricos en nitrógeno (materia orgánica).

VIII. LITERATURA CITADA

- Adesemoye, A. O., Torbert, H. A., & Kloepper, J. W. (2009). Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial Ecology*, 58(4), 921-929. <https://doi.org/10.1007/s00248-009-9531-y>
- Angel, R., Panhölzl, C., Gabriel, R., Herbold, C., Wanek, W., ... Wobken, D. (2018). Application of stable-isotope labelling techniques for the detection of active diazotrophs. *Environmental Microbiology*, 20(1), 44-61. doi:10.1111/1462-2920.13954.
- Asociación de Productores y Exportadores de Nicaragua. (2020). *Sector productor y exportador ante una nueva variedad*. Autor. <https://apen.org.ni/>
- Aviles, E., y Centeno, J. (1999). Evaluación de una mezcla de cepas de Rhizobium bajo diferentes niveles de fertilización en tres variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en Nicaragua. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria]
- Barbosa, N., Portilla, E., Buendia, H. F., Raatz, B., Beebe, S., & Rao, I. (2018). Genotypic differences in symbiotic nitrogen fixation ability and seed yield of climbing bean. *Plant and Soil*, 428(1), 223-239. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3665-y>
- Beebe, S. Ramírez, J. Álvarez, P. Ricaute, J. Mora, A. Guerrero, A. Rosas, J. Rodrigues, J. Berg, M. (2017) Modelación del frijol en Latinoamérica. [file:///C:/Users/LThompson/Downloads/modelacion_de_frijol_en_latinoame_rica_20180202_final_online%20\(4\).pdf](file:///C:/Users/LThompson/Downloads/modelacion_de_frijol_en_latinoame_rica_20180202_final_online%20(4).pdf)
- Bitocchi, E., Nanni, L., Bellucci, E., Rossi, M., Giardini, A., Zeuli, P. S., Logozzo, G., Stougaard, J., McClean, P., Attene, G., & Papa, R. (2012). Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(14), E788-E796. <https://doi.org/10.1073/pnas.1108973109>

- Blass, R. C. (2006). Plan de desarrollo turístico sustentable de la laguna de Venecia. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Ingeniería]
- Bliss, F. (1993a). Uso potencial para incrementar la fijación de Nitrógeno en frijol común. En: F. Bliss y G. Hardarson (Eds). Aumento de la fijación biológica de Nitrógeno en el frijol común en América Latina (pp. 173 – 176). OIEA y FAO
- Bliss, F. A. (1993b). Breeding common bean for improved biological nitrogen fixation. *Plant and Soil*, 152(1), 71-79. <https://doi.org/10.1007/BF00016334>
- Braun, J., Mooshammer, M., Wanek, W., Prommer, J., Walker, T. W. N., ... Richter, A. (2018). Full ¹⁵N tracer accounting to revisit major assumptions of dilution approaches for gross nitrogen mineralization N isotope pool. *Soil Biology and Biochemistry*, 117, 16-26. doi:10.1016/j.soilbio.2017.11.005.
- Cadisich G., Sylvester-Bradley R., Nösberger J. (1989). ¹⁵N-based estimation of nitrogen fixation by eight tropical forage-legumes at two levels of P:K supply. *Field Crops Research*. 22(3):181–194. doi: 10.1016/0378-4290(89)90091-9
- Cantaro-Segura, H., Huaranga-Joaquín, A., Zúñiga-Dávil, D., Cantaro-Segura, H., Huaranga-Joaquín, A., & Zúñiga-Dávil, D. (2019). Efectividad simbiótica de dos cepas de *Rhizobium* sp. En cuatro variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Perú. *Idesia (Arica)*, 37(4), 73-81. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292019000400073>
- Castillo, O., y Flores, J. (1999). Validación de tecnológica de una mezcla de cepas de *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseoli en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) a nivel de productores en el municipio de Boaco durante la época de primera de 1998 - 1999. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria]
- Chalk, P. M., & Craswell, E. T. (2018). An overview of the role and significance of ¹⁵N methodologies in quantifying biological N₂ fixation (BNF) and BNF dynamics in agroecosystems. *Simbiosis*, 75(1), 1-16. doi:10.1007/s13199-017-0526-z.

- Chavarría, A. (2000). Evaluación de una mezcla de cepas de *Rhizobium leguminosarum* bv phaseoli en la producción de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) a nivel de productores en el municipio de Estelí durante la época de primera de 1999. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio institucional. <https://repositorio.una.edu.ni/978/1/tnf01ch512.pdf>
- Corrales González, M., Rada, F., & Jaimez, R. (2016). Efecto del Nitrógeno en los parámetros fotosintéticos y de producción del cultivo de la gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolus ex Hook. F.). *Acta Agronómica*, 65(3), 255-260. <https://doi.org/10.15446/acag.v65n3.49555>
- Cruz, B. O. (2005). Rendimiento de tres cultivares de sorgo [(*sorghum bicolor* (L.) moench.] en el pacífico sur de nicaragua [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria]
- De Caram, G. A., Angeloni, P., & Prause, J. (2007). Determinación de la Curva de Dilución de Nitrógeno en Diferentes Fases Fenológicas del Girasol. *Agricultura Técnica*, 67(2), 189-195. <https://doi.org/10.4067/S0365-28072007000200009>
- Delgadillo Chavarría, A., y Gómez García, J. (2015). Análisis de la producción, exportaciones y precios del frijol (*Phaseolus vulgaris*) de Nicaragua periodo 2011-2013 [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria]
- Fassbender, W. (1967). La fertilización del frijol (*Phaseolus* spp). *Turrialba*, 17(1), 46 – 52
- Fernández, M., De María, N., y Rosario, M. (2002). *Fijación biológica de Nitrógeno: factores limitantes. Ciencia y Medio Ambiente*. <https://digital.csic.es/bitstream/10261/128283/1/Fijaci%C3%B3n%20Biol%C3%B3gica%20de%20Nitr%C3%B3geno%20en%20Cultivos%20de%20Leguminosas%20de%20Inter%C3%A9s%20Agrario.pdf>
- Fernández-Canigia, M. (2020). Factores determinantes de la nodulación. Nitragin. https://images.engormix.com/externalFiles/6_factores_determinantes_de_la_nodulacion.pdf

- Fonseca-López, D., Vivas-Quila, N. J., y Balaguera-López, H. E. (2020). Técnicas aplicadas en la investigación agrícola para cuantificar la fijación de Nitrógeno: Una revisión sistemática. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 21(1), 1-19. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num1_art:1342
- Fried, M., Middelboe, V., & Middleboe, V. (1977). *Use of ¹⁵N methodology to assess biological nitrogen fixation*. https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/21/086/21086591.pdf
- Gaitán, M., y Mairena, H. (2017). Cuantificación de la fijación biológica de Nitrógeno por cuatro especies de leguminosas mediante el método de abundancia natural. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria]
- Galiana, A., Balle, P., N'Guessan Kanga, A., & Domenach, A. M. (2002). Nitrogen fixation estimated by the 15N natural abundance method in *Acacia mangium* Willd. Inoculated with *Bradyrhizobium* sp. And grown in silvicultural conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(2), 251-262. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(01\)00179-1](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(01)00179-1)
- García-Centeno, L., Gutiérrez-Castillo, M., Zamora-Jarquín, A., Vera-Núñez, J. (2021). Fijación biológica de nitrógeno en la simbiosis *Rhizobium* spp.-cultivares de frijol rojo-fortificados/INTA (*Phaseolus vulgaris* L.) fertilizado con N “starter” por medio de la técnica de dilución isotópica de 15N en condiciones de campo. (Informe inédito). Universidad Nacional Agraria, Nicaragua.
- Granda, I., Colás, A., Cupull, R., Gutiérrez, Y., y Torres, R. (2009). Caracterización e identificación genética de aislados de *Rhizobium* en el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris*L.). *Centro Agríc.* 36: 5-14
- Gobierno de Reconciliación y Unidad Nacional. (2020). *Plan de producción consumo y comercio*. Autor

- Gómez, L.A., Hernández, G., Sánchez, T., Toscano, V., y Sánchez, M. (1998). Interacción genotipo de frijol común-cepa de *Rhizobium*. *Agron. Mesoam.* 9: 93-97. <https://doi.org/10.15517/am.v9i1.24648>
- Guo, J. H., Liu, X. J., Zhang, Y., Shen, J. L., Han, W. X., Zhang, W. F., Christie, P., Goulding, K. W. T., Vitousek, P. M., & Zhang, F. S. (2010). Significant Acidification in Major Chinese Croplands. *Science*, 327(5968), 1008-1010. <https://doi.org/10.1126/science.1182570>
- Hall, B. (2009). *Nitrogen Rates for Edible Beans*. <http://www.ontariosoilcrop.org/wp-content/uploads/2015/07/v6bea1.pdf>
- Hardarson, G. (1985). *The use of 15N methodology to assess N2 fixation aid guidelinees foe improvement of N2 fixation in grain legumes*. FAO/IAEA.
- Hardarson G. (1993). Métodos para medir la fijación biológica de Nitrógeno en leguminosas de grano. *Planta y Suelo*, (152) 19-23
- Hardarson, G., y Danso, S. (1993). Métodos para medir la fijación biológica de Nitrógeno en leguminosas de grano. En: F. Bliss y G. Hardarson (Eds). Aumento de la fijación biológica de Nitrógeno en el frijol común en América Latina (pp. 19 – 23). OIEA y FAO
- Hardarson, G., & Jones, D. (1979). The inheritance of preference for strains of *Rhizobium trifolii* by White clover (*Trifolium repens*). *Ann. Appl. Biol.* 92: 329 – 333
- Hardarson, G., Bliss, F., Gigales-Rivero, M., Henson, R., Kipe-Nolt, J., Longeri, L., Manrique, A., Peña-Cabriales, J., Pereira, P., Sanabria, C., y Tsai, S. (1993). Variación genotípica en la fijación biológica de Nitrógeno en frijol común. En: F. Bliss y G. Hardarson (Eds). Aumento de la fijación biológica de Nitrógeno en el frijol común en América Latina (pp. 67 – 78). OIEA y FAO

- Hashem, A., Kumar, A., Al-Dbass, A. M., Alqarawi, A. A., Al-Arjani, A. F., Singh, G., ... Allah, A. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi and biochar improves drought tolerance in chickpea. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(3), 614-624 doi:10.1016/j.sjbs.2018.11.005.
- Heichel, G., Hardarson, G., Barnes, D., & Vance, C. (1984). Dinitrogen fixation, herbage yield and rhizobial preference of selected alfalfa clone. *Crop. Sci.* 24: 1093 – 1097
- Heilig, J. A., Wright, E. M., & Kelly, J. D. (2017). Symbiotic Nitrogen Fixation of Black and Navy Bean under Organic Production Systems. *Agronomy Journal*, 109(5), 2223-2230. <https://doi.org/10.2134/agronj2017.01.0051>
- Ikram A., Sudin M. N., Jensen E. S. (1995). Estimating N₂-fixation by *Pueraria phaseoloides* in Rubber interrows using the ¹⁵N isotopic dilution technique. *Journal of Natural Rubber Research*, 10(3):199–208
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (2009). *Guía técnica para el cultivo de frijol en los municipios de Santa Lucía, Teuspetepe y San Lorenzo del Departamento de Boaco, Nicaragua*. Autor.
- Instituto Nicaragüense de Estudios Territoriales. (2018). Departamento de estadística y meteorología. Autor.
- Instituto Nacional Tecnológico. (2018). *Manual de granos básicos: Manual de protagonista*. Autor
- Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria. (2018). NB-S Variedad Mejorada de Maíz. http://www.funica.org.ni/docs/gran_basic_34.pdf

Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria. (2013). Variedad de Arroz INTA-Fortaleza secano. <https://inta.gob.ni/project/guia-tecnologica-del-cultivo-de-de-secano-arroz/>

Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria. (2015). Frijol INTA Ferroso <https://lac.harvestplus.org/variedad-de-frijol-inta-ferroso-candidata-para-ser-promovida-en-nicaragua/>

Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria. (2018a). Frijol Biofortificado (Brochure). Harvestplus. <https://inta.gob.ni/wp-content/uploads/2019/11/Brochure-Frijol-Biofortificado-HarvesPlus-2019.pdf>

Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria. (2018b). Frijol Nutritivo y Rendidor (Brochure). Harvestplus. <https://inta.gob.ni/wp-content/uploads/2019/11/Brochure-Frijol-Nutritivo-y-Rendidor-2019.pdf>

Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria. (2018c). Variedad Mejorada Sorgo Tortillero Precoz. <https://studylib.es/doc/5941549/sorgo-tortillero-precoz-variedad-mejorada>

Jacoby, R., Peukert, M., Succurro, A., Koprivova, A., & Kopriva, S. (2017). The Role of Soil Microorganisms in Plant Mineral Nutrition—Current Knowledge and Future Directions. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1617. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01617>

Kamfwa, K., Cichy, K. A., & Kelly, J. D. (2015). Genome-wide association analysis of symbiotic nitrogen fixation in common bean. *Theoretical and Applied Genetics*, 128(10), 1999-2017. <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2562-5>

Lata-Tenesaca, L., Villaseñor-Ortiz, D., & Chabla-Carrillo, J. (2017). Fraccionamiento de la absorción de nutrientes en cuatro etapas fenológicas del cultivo de frijol. *Revista Universidad y Sociedad*, 9(1), 20-27

- Lindström, K., & Mousavi, S. A. (2019). Effectiveness of nitrogen fixation in rhizobia. *Microbial Biotechnology*, 13(5), 1314-1335. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13517>
- Longeri, L., Vidal, I., y Herrera, A. (1993). Fijación y Removilización de Nitrógeno a través del ciclo de desarrollo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), usando la metodología de ^{15}N . En: F. Bliss y G. Hardarson (Eds). Aumento de la fijación biológica de Nitrógeno en el frijol común en América Latina (pp. 197 – 203). OIEA y FAO
- López-Alcocer, J. de J., Lépiz-Ildefonso, R., González-Eguiarte, D. R., Rodríguez-Macías, R., & López-Alcocer, E. (2020). Eficiencia en fijación biológica de nitrógeno de cepas de *Rhizobium* spp. Recolectadas en frijol cultivado y silvestre. *Revista Terra Latinoamericana*, 38(4), 841-852. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i4.654>
- Lozano, J. L. (1999) Uso de técnicas isotópicas de ^{15}N aplicadas al estudio de la fijación biológica de Nitrógeno en el cultivo de alfalfa (*Medicago sativa* L.) en la comarca lagunera México [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León]
- Mendieta, J., y Mercado, Y. (2016). Evaluación de alternativas agroecológicas y convencionales para el manejo del cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en época de postera comunidad Paulo Calero, Ticuantepe, Managua [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio institucional. <https://repositorio.una.edu.ni/3689/1/tnf01m491.pdf>
- Ministerio Agropecuario. (2015). *Atlas de suelos de Nicaragua*. Autor
- Miranda, B. D., & Bliss, F. A. (1991). Selection for Increased Seed Nitrogen Accumulation in Common Bean: Implications for Improving Dinitrogen Fixation and Seed Yield. *Plant Breeding*, 106(4), 301-311. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1991.tb00515.x>
- Oresani, S., Bodrero, M., y Enrico, J. (2007). Comportamiento de inoculantes para soja en la zona sur de la provincia de Santa Fe, Argentina. *Rev. Inv. Fac. Cs Agrarias*. 11: 23-29

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (1984). Legume Inoculants and Their Use. Rome. Recuperado de <https://www.ctahr.hawaii.edu/bnf/Downloads/Training/Legume%20use/Title.PDF>
- Ortiz, A. (2020). Láminas de riego y su efecto en la producción de semilla de frijol común en la estación experimental La Compañía, San Marcos, Carazo [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio institucional. <https://repositorio.una.edu.ni/4103/4/tnf06o85.pdf>
- Paredes, M. (2013). Fijación biológica de nitrógeno en leguminosas y gramíneas. [Tesis de pregrado, Universidad Católica Argentina]
- Peña-Cabriales, J., Grageda-Cabrera, O., Kola, V., y Hardarson, G. (1993). Tasas de fijación de N₂ a través del ciclo de desarrollo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). En: F. Bliss y G. Hardarson (Eds). Aumento de la fijación biológica de Nitrógeno en el frijol común en América Latina (pp. 129 – 135). OIEA y FAO
- Peñas, C. y Zapata, M. (1991) Métodos para medir la fijación biológica de Nitrógeno en leguminosas de grano. En G. Hardarson y S.K.A Danso (Eds.), “Aumento de la fijación biológica del Nitrógeno en el frijol común en américa latina” (pp. 19-23). Laboratorio del OIEA: Seiberssdorf, Austria y Divicion Conjunta de FAO/OIEA, P.O. Box 100, A-1400 Viena, Austria
- Perez Icabalceta, E., Urbina Aguirre, J. (2013). Caracterizacion de tres variedades de semilla criolla de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), época de primera en la finca cailagua, Guadalupe 1 Matagalpa periodo 2013-2014 [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua]
- Perticari, A., Arias N., Baigorri, H., De Battista, J., Montecchia, M., Pacheco, J., Simonella, A., Toresani, S., Ventimiglia, I., y Vicentini, R. (2003). Inoculación y fijación biológica de Nitrógeno en el cultivo de soja. SEMA

- Polania, J. A., Poschenrieder, C., Beebe, S., & Rao, I. M. (2016). Effective Use of Water and Increased Dry Matter Partitioned to Grain Contribute to Yield of Common Bean Improved for Drought Resistance. *Frontiers in Plant Science*, 7, 660. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00660>
- Ramaekers, L., Galeano, C. H., Garzón, N., Vanderleyden, J., & Blair, M. W. (2013). Identifying quantitative trait loci for symbiotic nitrogen fixation capacity and related traits in common bean. *Molecular Breeding*, 31(1), 163-180. <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9780-1>
- Reinprecht, Y., Schram, L., Marsolais, F., Smith, T. H., Hill, B., & Pauls, K. P. (2020). Effects of Nitrogen Application on Nitrogen Fixation in Common Bean Production. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1172. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01172>
- Rymuza, K., Radzka, E., Wysokiński, A. (2020). Nitrogen Uptake from Different Sources by Non-GMO Soybean Varieties. *Agronomy*. 10, 12 – 19. <https://www.mdpi.com/2073-4395/10/9/1219>
- Samago, T. Y., Anniye, E. W., & Dakora, F. D. (2018). Grain yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties is markedly increased by rhizobial inoculation and phosphorus application in Ethiopia. *Symbiosis (Philadelphia, Pa.)*, 75(3), 245-255. <https://doi.org/10.1007/s13199-017-0529-9>
- Sánchez, P. (1981). *Suelos del trópico: características y manejo*. IICA
- Sarr, P. S., Khouma, M., Sene, M., Guisse, A., Badiane, A. N., & Yamakawa, T. (2008). Effect of pearl millet–cowpea cropping systems on nitrogen recovery, nitrogen use efficiency and biological fixation using the ¹⁵N tracer technique. *Soil Science and Plant Nutrition*, 54(1), 142-147. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2007.00216.x>
- Shaharoon, B., Naveed, M., Arshad, M., & Zahir, Z. A. (2008). Fertilizer-dependent efficiency of Pseudomonads for improving growth, yield, and nutrient use efficiency of wheat

(*Triticum aestivum* L.). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79(1), 147-155.
<https://doi.org/10.1007/s00253-008-1419-0>

Shrawat, A. Carroll, R. DePauw, M. Taylor, G. Good, A. (2008). Genetic engineering of improved nitrogen use efficiency in rice by the tissue-specific expression of alanine aminotransferase. *Plant biotech j*, 6(7), 722-732. doi: 10.1111/j.1467-7652.2008.00351.x

Tsai, S., Bonetti, S., Agbala, R., y Rosetto, R. (1993a). Reducción del efecto del Nitrógeno mineral sobre la fijación biológica de Nitrógeno en frijol común incrementando los niveles de nutrimentos. En: F. Bliss y G. Hardarson (Eds). Aumento de la fijación biológica de Nitrógeno en el frijol común en América Latina (pp. 145 – 153). OIEA y FAO

Tsai, S., Da Silva, W., Cabezas, R., y Bonetti, R. (1993b). Variabilidad en la fijación biológica de Nitrógeno del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en cultivo intercalado con maíz. En: F. Bliss y G. Hardarson (Eds). Aumento de la fijación biológica de Nitrógeno en el frijol común en América Latina (pp. 103 – 112). OIEA y FAO

Vargas, X. (1998). Determinación de la capacidad de extracción de nutrientes, acumulación de materia seca y fijación biológica de Nitrógeno por cuatro variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria]

Vásquez, J. (1996). Fijación biológica de Nitrógeno en frijol de temporal y la diversidad genética de las poblaciones nativas de *Rhizobium*. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León]. Repositorio institucional <http://eprints.uanl.mx/451/1/1080073260.PDF>

Vesterager J. M., Østerby S., Jensen E. S., Schjoerring J. K. (1999). Symbiotic N₂-fixation by the cover crop *Pueraria phaseoloides* as influenced by litter mineralization. *Plant and Soil*. 177(1):1–10. doi: 10.1007/bf00010332

Vitousek, P. M., Menge, D. N. L., Reed, S. C., & Cleveland, C. C. (2013). Biological nitrogen fixation: Rates, patterns and ecological controls in terrestrial ecosystems. *Philosophical*

Transactions of the Royal Society B: *Biological Sciences*, 368(1621), 20130119.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0119>

Weese, D. J., Heath, K. D., Dentinger, B. T. M., & Lau, J. A. (2015). Long-term nitrogen addition causes the evolution of less-cooperative mutualists. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 69(3), 631-642. <https://doi.org/10.1111/evo.12594>

Wilker, J., Navabi, A., Rajcan, I., Marsolais, F., Hill, B., Torkamaneh, D., & Pauls, K. P. (2019). Agronomic Performance and Nitrogen Fixation of Heirloom and Conventional Dry Bean Varieties Under Low-Nitrogen Field Conditions. *Frontiers in Plant Science*, 10, 952. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00952>

Yadegari, M. (2014). Inoculation of beans (*Phaseolus vulgaris*) seeds with *Rhizobium phaseoli* and plant growth promoting Rhizobacteria. *Adv. Environ. Biol.* 8: 419-424.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Fertilizante nitrogenado con isótopos de ^{15}N .



Anexo 2. Resultados de los análisis de varianza de las variables evaluadas.

BSA (kg h⁻¹)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
BSA (kg h ⁻¹)	30	1.00	0.99	2.00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1019565.07	9	113285.01	529.30	<0.0001
Repetición	165390.31	4	41347.58	193.19	<0.0001
Genotipos	282499.60	2	141249.80	659.96	<0.0001
Inoculante	571295.16	1	571295.16	2669.27	<0.0001
Genotipos*Inoculante	380.00	2	190.00	0.89	0.4272
Error	4280.54	20	214.03		
Total	1023845.61	29			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=16.55262

Error: 214.0270 gl: 20

Genotipos	Medias	n	E.E.	
INTA-Nutritivo	831.99	10	4.63	A
INTA-Biofortificado	765.01	10	4.63	B
INTA-Ferroso	600.99	10	4.63	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=11.14321

Error: 214.0270 gl: 20

Inoculante	Medias	n	E.E.	
Zamorano	870.66	15	3.78	A

INTA 594.67 15 3.78 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

NTBA (%)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
NTBA (%)	30	0.52	0.30	30.63

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.06	9	0.23	2.37	0.0520
Repetición	0.56	4	0.14	1.46	0.2523
Genotipos	0.80	2	0.40	4.11	0.0319
Inoculante	0.61	1	0.61	6.35	0.0204
Genotipos*Inoculante	0.09	2	0.04	0.45	0.6410
Error	1.93	20	0.10		
Total	3.99	29			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.35177

Error: 0.0967 gl: 20

Genotipos	Medias	n	E.E.	
INTA-Ferroso	1.24	10	0.10	A
INTA-Nutritivo	0.93	10	0.10	A B
INTA-Biofortificado	0.87	10	0.10	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.23681

Error: 0.0967 gl: 20

Inoculante	Medias	n	E.E.	
Zamorano	1.16	15	0.08	A
INTA	0.87	15	0.08	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

RNTBA (g planta-1)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RNTBA (g planta-1)	30	0.72	0.60	26.36

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	201.13	9	22.35	5.83	0.0005
Repetición	14.68	4	3.67	0.96	0.4523
Genotipos	4.04	2	2.02	0.53	0.5987
Inoculante	177.00	1	177.00	46.17	<0.0001
Genotipos*Inoculante	5.42	2	2.71	0.71	0.5053
Error	76.67	20	3.83		
Total	277.80	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.49131

Error: 3.8334 gl: 20

Inoculante	Medias	n	E.E.	
Zamorano	9.86	15	0.51	A
INTA	5.00	15	0.51	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

RNddf (BA) kg ha-1

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RNddf (BA) kg ha-1	30	0.63	0.47	46.28

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.04	9	4.2E-03	3.82	0.0060
Repetición	0.01	4	1.6E-03	1.45	0.2532
Genotipos	0.02	2	0.01	7.80	0.0031
Inoculante	0.01	1	0.01	5.60	0.0281
Genotipos*Inoculante	0.01	2	4.0E-03	3.68	0.0437
Error	0.02	20	1.1E-03		
Total	0.06	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.03753

Error: 0.0011 gl: 20

Genotipos	Medias	n	E.E.	
INTA-Ferroso	0.11	10	0.01	A
INTA-Nutritivo	0.06	10	0.01	B
INTA-Biofortificado	0.05	10	0.01	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.02526

Error: 0.0011 gl: 20

Inoculante	Medias	n	E.E.	
Zamorano	0.09	15	0.01	A
INTA	0.06	15	0.01	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

RNdda (BA) kg ha-1

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RNdda (BA) kg ha-1	30	0.77	0.67	35.03

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	148.16	9	16.46	7.40	0.0001
Repetición	4.89	4	1.22	0.55	0.7010
Genotipos	34.76	2	17.38	7.82	0.0031
Inoculante	101.24	1	101.24	45.53	<0.0001
Genotipos*Inoculante	7.26	2	3.63	1.63	0.2203
Error	44.47	20	2.22		
Total	192.63	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.68716

Error: 2.2236 gl: 20

Genotipos	Medias	n	E.E.	
INTA-Nutritivo	5.19	10	0.47	A
INTA-Biofortificado	4.83	10	0.47	A
INTA-Ferroso	2.75	10	0.47	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)**Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.13579**

Error: 2.2236 gl: 20

Inoculante	Medias	n	E.E.	
Zamorano	6.09	15	0.39	A
INTA	2.42	15	0.39	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)**RNdds (BA) kg ha-1**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RNdds (BA) kg ha-1	30	0.65	0.50	44.37

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	71.28	9	7.92	4.19	0.0037
Repetición	12.53	4	3.13	1.66	0.1996
Genotipos	33.15	2	16.57	8.76	0.0019
Inoculante	10.07	1	10.07	5.32	0.0319
Genotipos*Inoculante	15.53	2	7.77	4.11	0.0321
Error	37.83	20	1.89		
Total	109.11	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.55609

Error: 1.8915 gl: 20

Genotipos	Medias	n	E.E.	
INTA-Ferroso	4.55	10	0.43	A
INTA-Nutritivo	2.64	10	0.43	B
INTA-Biofortificado	2.11	10	0.43	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)**Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.04756**

Error: 1.8915 gl: 20

Inoculante	Medias	n	E.E.	
Zamorano	3.68	15	0.36	A
INTA	2.52	15	0.36	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)**Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=2.73409**

Error: 1.8915 gl: 20

Genotipos	Inoculante	Medias	n	E.E.	
INTA-Ferroso	Zamorano	5.82	5	0.62	A
INTA-Ferroso	INTA	3.29	5	0.62	A B
INTA-Nutritivo	INTA	3.05	5	0.62	B
INTA-Biofortificado	Zamorano	3.00	5	0.62	B

INTA-Nutritivo	Zamorano	2.22	5	0.62	B
INTA-Biofortificado	INTA	1.22	5	0.62	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

%Nddf (BA)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%Nddf (BA)	30	0.70	0.56	34.21

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5.34	9	0.59	5.13	0.0011
Repetición	0.96	4	0.24	2.08	0.1221
Genotipos	3.01	2	1.51	13.00	0.0002
Inoculante	0.68	1	0.68	5.83	0.0255
Genotipos*Inoculante	0.69	2	0.35	3.00	0.0725
Error	2.32	20	0.12		
Total	7.66	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.38501

Error: 0.1158 gl: 20

Genotipos	Medias	n	E.E.
INTA-Ferroso	1.44	10	0.11 A
INTA-Nutritivo	0.85	10	0.11 B
INTA-Biofortificado	0.70	10	0.11 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.25919

Error: 0.1158 gl: 20

Inoculante	Medias	n	E.E.
INTA	1.14	15	0.09 A
Zamorano	0.84	15	0.09 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

%Ndda (BA)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%Ndda (BA)	30	0.70	0.56	27.06

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10557.80	9	1173.09	5.12	0.0011
Repetición	1922.21	4	480.55	2.10	0.1188
Genotipos	5944.32	2	2972.16	12.98	0.0002
Inoculante	1322.69	1	1322.69	5.78	0.0260
Genotipos*Inoculante	1368.58	2	684.29	2.99	0.0731
Error	4578.38	20	228.92		
Total	15136.17	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=17.11880

Error: 228.9189 gl: 20

Genotipos	Medias	n	E.E.
-----------	--------	---	------

INTA-Biofortificado	68.86	10	4.78	A
INTA-Nutritivo	62.52	10	4.78	A
INTA-Ferroso	36.34	10	4.78	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=11.52436

Error: 228.9189 gl: 20

Inoculante Medias n E.E.

Zamorano 62.55 15 3.91 A

INTA 49.27 15 3.91 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

%Ndds (BA)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%Ndds (BA)	30	0.70	0.56	34.31

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10085.90	9	1120.66	5.12	0.0011
Repetición	1836.45	4	459.11	2.10	0.1189
Genotipos	5678.12	2	2839.06	12.98	0.0002
Inoculante	1264.25	1	1264.25	5.78	0.0260
Genotipos*Inoculante	1307.07	2	653.54	2.99	0.0732
Error	4374.31	20	218.72		
Total	14460.21	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=16.73294

Error: 218.7155 gl: 20

Genotipos Medias n E.E.

INTA-Ferroso 62.22 10 4.68 A

INTA-Nutritivo 36.63 10 4.68 B

INTA-Biofortificado 30.44 10 4.68 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=11.26460

Error: 218.7155 gl: 20

Inoculante Medias n E.E.

INTA 49.59 15 3.82 A

Zamorano 36.61 15 3.82 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

RG (kg h-1)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RG (kg h-1)	30	0.61	0.53	11.95

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1491810.30	5	298362.06	7.49	0.0002
Genotipos	1052544.00	2	526272.00	13.20	0.0001
Inoculante	439266.30	1	439266.30	11.02	0.0029
Genotipos*Inoculante	0.00	2	0.00	0.00	>0.9999
Error	956572.47	24	39857.19		
Total	2448382.78	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=222.96505

Error: 39857.1864 gl: 24

Genotipos	Medias	n	E.E.
INTA-Nutritivo	1912.99	10	63.13 A
INTA-Biofortificado	1640.99	10	63.13 B
INTA-Ferroso	1457.00	10	63.13 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)**Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=150.45652**

Error: 39857.1864 gl: 24

Inoculante	Medias	n	E.E.
Zamorano	1791.33	15	51.55 A
INTA	1549.32	15	51.55 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes

NTG (%)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
NTG (%)	30	0.42	0.30	7.60

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.88	5	0.18	3.47	0.0169
Genotipos	0.24	2	0.12	2.39	0.1134
Inoculante	0.06	1	0.06	1.18	0.2882
Genotipos*Inoculante	0.58	2	0.29	5.69	0.0095
Error	1.22	24	0.05		
Total	2.10	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.44044

Error: 0.0507 gl: 24

Genotipos	Inoculante	Medias	n	E.E.
INTA-Biofortificado	Zamorano	3.21	5	0.10 A
INTA-Nutritivo	INTA	3.15	5	0.10 A B
INTA-Ferroso	INTA	2.94	5	0.10 A B
INTA-Biofortificado	INTA	2.93	5	0.10 A B
INTA-Nutritivo	Zamorano	2.78	5	0.10 A B
INTA-Ferroso	Zamorano	2.76	5	0.10 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

RNTG (g planta-1)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RNTG (g planta-1)	30	0.58	0.49	14.04

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1604.14	5	320.83	6.64	0.0005
Genotipos	1193.79	2	596.89	12.36	0.0002
Inoculante	213.13	1	213.13	4.41	0.0463
Genotipos*Inoculante	197.23	2	98.61	2.04	0.1517
Error	1159.00	24	48.29		
Total	2763.14	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=7.76105

Error: 48.2918 gl: 24

Genotipos	Medias	n	E.E.
INTA-Nutritivo	56.65	10	2.20 A
INTA-Biofortificado	50.49	10	2.20 A
INTA-Ferroso	41.30	10	2.20 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=5.23714

Error: 48.2918 gl: 24

Inoculante	Medias	n	E.E.
Zamorano	52.14	15	1.79 A
INTA	46.81	15	1.79 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

% NddfG

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% NddfG	30	0.40	0.27	51.62

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3.17	5	0.63	3.17	0.0246
Genotipos	0.35	2	0.17	0.87	0.4336
Inoculante	2.08	1	2.08	10.36	0.0037
Genotipos*Inoculante	0.75	2	0.38	1.87	0.1753
Error	4.81	24	0.20		
Total	7.98	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.33730

Error: 0.2003 gl: 24

Inoculante	Medias	n	E.E.
INTA	1.13	15	0.12 A
Zamorano	0.60	15	0.12 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

% Ndda (G)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% Ndda(G)	30	0.40	0.27	38.40

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7729.00	5	1545.80	3.19	0.0239
Genotipos	856.30	2	428.15	0.88	0.4262
Inoculante	5039.88	1	5039.88	10.40	0.0036
Genotipos*Inoculante	1832.82	2	916.41	1.89	0.1726
Error	11627.07	24	484.46		
Total	19356.07	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=16.58774

Error: 484.4612 gl: 24

Inoculante Medias n E.E.

Zamorano 70.28 15 5.68 A

INTA 44.35 15 5.68 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

% Ndds (G)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% Ndds (G)	30	0.40	0.27	51.57

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7418.80	5	1483.76	3.19	0.0239
Genotipos	822.17	2	411.08	0.88	0.4261
Inoculante	4837.68	1	4837.68	10.40	0.0036
Genotipos*Inoculante	1758.95	2	879.48	1.89	0.1727
Error	11160.40	24	465.02		
Total	18579.20	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=16.25144

Error: 465.0166 gl: 24

Inoculante Medias n E.E.

INTA 54.52 15 5.57 A

Zamorano 29.12 15 5.57 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

RNddf (G) (Kg/ ha-1)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RNddf (G) (Kg/ ha-1)	30	0.43	0.31	50.59

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.80	5	0.16	3.63	0.0138
Genotipos	0.02	2	0.01	0.22	0.8008
Inoculante	0.42	1	0.42	9.53	0.0050
Genotipos*Inoculante	0.36	2	0.18	4.09	0.0297
Error	1.06	24	0.04		
Total	1.86	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.15821

Error: 0.0441 gl: 24

Inoculante Medias n E.E.

INTA 0.53 15 0.05 A

Zamorano 0.30 15 0.05 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)**Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.41052**

Error: 0.0441 gl: 24

Genotipos Inoculante Medias n E.E.

INTA-Nutritivo INTA 0.71 5 0.09 A

INTA-Ferroso INTA 0.49 5 0.09 A B

INTA-Biofortificado INTA 0.40 5 0.09 A B

INTA-Biofortificado Zamorano 0.36 5 0.09 A B

INTA-Ferroso Zamorano 0.36 5 0.09 A B

INTA-Nutritivo Zamorano 0.17 5 0.09 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)**RNdda (G) (Kg/ ha-1)**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RNdda (G) (Kg/ ha-1)	30	0.53	0.43	40.29

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3652.73	5	730.55	5.32	0.0020
Genotipos	1147.16	2	573.58	4.18	0.0278
Inoculante	2154.43	1	2154.43	15.69	0.0006
Genotipos*Inoculante	351.14	2	175.57	1.28	0.2968
Error	3296.18	24	137.34		
Total	6948.91	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=13.08830

Error: 137.3408 gl: 24

Genotipos Medias n E.E.

INTA-Nutritivo 34.93 10 3.71 A

INTA-Biofortificado 31.81 10 3.71 A B

INTA-Ferroso 20.53 10 3.71 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=8.83197

Error: 137.3408 gl: 24

Inoculante Medias n E.E.

Zamorano	37.56	15	3.03	A
INTA	20.61	15	3.03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

RNdds (G) (Kg/ ha-1)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RNdds (G) (Kg/ ha-1)	30	0.43	0.31	50.63

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1855.10	5	371.02	3.63	0.0138
Genotipos	46.20	2	23.10	0.23	0.7995
Inoculante	971.85	1	971.85	9.50	0.0051
Genotipos*Inoculante	837.05	2	418.52	4.09	0.0295
Error	2454.07	24	102.25		
Total	4309.18	29			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=7.62072

Error: 102.2531 gl: 24

Inoculante Medias n E.E.

INTA	25.67	15	2.61	A
Zamorano	14.28	15	2.61	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=19.77416

Error: 102.2531 gl: 24

Genotipos	Inoculante	Medias	n	E.E.
INTA-Nutritivo	INTA	34.32	5	4.52 A
INTA-Ferroso	INTA	23.50	5	4.52 A B
INTA-Biofortificado	INTA	19.18	5	4.52 A B
INTA-Biofortificado	Zamorano	17.43	5	4.52 A B
INTA-Ferroso	Zamorano	17.18	5	4.52 A B
INTA-Nutritivo	Zamorano	8.23	5	4.52 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)