

Respuesta del tarwi a la inoculación con cepas de rizobias aisladas de plantas silvestres y cultivadas de *Lupinus* a nivel de invernadero

Omar Mollinedo; Marlene Angulo; Noel Ortuño*

Fundación PROINPA - * Actualmente Docente de la FCAYP - UMSS

E mail: m.angulo@biotopbolivia.org

Resumen. Las bacterias de *Rhizobium* inciden hasta un 90% en los rendimientos del cultivo de tarwi, por eso es necesario determinar el efecto de aislamientos de *Lupinus mutabilis* Sweet y *Lupinus* spp. en el desarrollo del tarwi y tener conocimiento de aislamientos de bacterias simbióticas. Fueron aisladas, seleccionadas e inoculadas diferentes cepas de rizobias, a partir de ocho aislamientos de tarwi cultivado, en la comunidad de Jutilaya (La Paz); dos aislamientos de tarwi silvestre provinieron de Punamá (La Paz) y Challapata (Oruro), se inocularon y evaluaron en condiciones de invernadero; utilizando un diseño de Bloques Completos al Azar, con 4 repeticiones. El aislamiento de tarwi cultivado T1 es el que más destacó en las principales variables agronómicas, como altura de planta, diámetro del cuello del tallo, materia seca de planta, materia seca de nódulos y número de vainas. El aislamiento de tarwi silvestre que más destaca es T9, especialmente en el incremento de la materia seca de planta, número y materia seca de nódulos y número de vainas. Los aislamientos que favorecieron el rendimiento de vaina, fueron aquellos provenientes de tarwi cultivado, como T1, T3, T6 y el aislamiento T9, proveniente de tarwi silvestre. Tomando en cuenta todas las variables, se seleccionaron los aislamientos T1 y T10, por tener las mayores medias en variables agronómicas, frente al testigo y al resto de los tratamientos.

Palabras clave: Bacterias de *Rhizobium*; Inoculación; FBN

Summary. Tarwi response to inoculation with strains of isolated rhizobia from wild and cultivated *Lupinus* plant at greenhouse level. The *Rhizobium* bacteria affect up to 90% in tarwi crop yields; that is why, it is necessary to determine the effect of *Lupinus mutabilis* Sweet and *Lupinus* spp. isolation in tarwi development and to have knowledge of symbiotic bacteria isolations. In the community of Jutilaya (La Paz), different strains of rhizobia were isolated, selected and inoculated, from eight isolates of cultivated tarwi. Two isolates of wild tarwi coming from Punamá (La Paz) and Challapata (Oruro), were inoculated and evaluated under greenhouse conditions, using a Complete Randomized Blocks Design, with 4 repetitions. The isolation of T1 cultivated tarwi is the one that stood out within the main agronomic variables, due to its plant height, diameter of the stem neck, dry matter of the plant and nodules and number of pods. The wild tarwi isolation that stands out is T9, especially in the increase of dry matter of plant, number and dry matter of nodules and number of pods. The isolates that favored the pod yield were those from cultivated tarwi, such as T1, T3, T6 and the T9 isolate, from wild tarwi. Taking into account all the variables, the isolates T1 and T10 were selected, because they had the highest means in agronomic variables, compared to the witness and the rest of the treatments.

Keywords: *Rhizobium* bacteria; Inoculation; FBN

Introducción

El mal manejo de los suelos agrícolas durante décadas, y el uso excesivo de agroquímicos, han conducido a un desequilibrio de la ecología microbiana del suelo, lo que se manifiesta en la degradación de sus propiedades físicas, químicas y biológicas y en la disminución de la eficiencia de mineralización y humificación de la materia orgánica del suelo y el incremento de la incidencia de enfermedades radiculares (Soriano y Gonzales 2012).

La Fundación PROINPA está promoviendo la difusión de este cultivo en Bolivia, viendo sus ventajas en la mejora de los suelos, en el incremento de la productividad de los sistemas de cultivos y sobre todo considerando su valor alimenticio para favorecer a las familias locales (Gandarillas *et al.* 2018).

Se conoce muchos grupos de microorganismos benéficos, que son aplicados a las semillas, tubérculos y al suelo, que son capaces de colonizar las raíces de las plantas, estimulando el crecimiento y rendimiento de los cultivos (Soriano y Gonzales 2012). Estos microorganismos son conocidos como rizo bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR).

El presente estudio considera a las bacterias fijadoras del nitrógeno atmosférico pertenecientes al género *Rhizobium*, que presentan simbiosis específica con el simbionte (Sucojayo *et al.* 1998) y bacterias específicas que fijan nitrógeno atmosférico a través de la formación de nódulos en las raíces de los géneros *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*. El objetivo del trabajo fue evaluar y seleccionar aislamientos de rizobias de plantas cultivadas y silvestres de lupinos, que mejoren

el crecimiento y la productividad del cultivo de tarwi, en condiciones de invernadero.

En Bolivia el tarwi es cultivado en los departamentos de Potosí, La Paz, Cochabamba y Chuquisaca, desde los 2000 hasta los 3800 msnm. La producción nacional de tarwi, para el año 2008, alcanzó 1208 TM. El rendimiento de tarwi a nivel nacional es de 1895 kg/ha (Gandarillas *et al.* 2018).

Desde hace más de veinte años, en Bolivia se emplea tecnología viable en la agricultura a través de la *Fijación Biológica de Nitrógeno* (FBN), fruto de la relación de simbiosis de bacterias del género *Rhizobium* con especies leguminosas (Mamani y Calisaya 2018).

La inoculación de semillas de leguminosas de interés agrícola, como en el caso de tarwi, es una alternativa para elevar los rendimientos de esta especie y a la vez mejorar la fertilidad y la estructura de los suelos (Campero 2000).

El uso de aislamientos nativos de rizobias inoculados artificialmente, representa la posibilidad de gestionar la fertilización biológica del cultivo, mediante el uso de biofertilizantes, con la finalidad de suplementar el nitrógeno, así como también, activar procesos bioquímicos adicionales, asociados con otros microorganismos presentes en el suelo.

De esta forma, se puede incrementar la disponibilidad de otros nutrientes y sustancias promotoras del crecimiento (Rodríguez y López 2009).

Para el aprovechamiento de los microorganismos, es importante tener conocimientos acerca de las bacterias nativas presentes en el cultivo de tarwi, debido a

que han sido poco estudiadas en el país y representan una oportunidad en el incremento del desarrollo de los cultivos y para el manejo de suelos, desde el punto de vista del reciclaje de nutrientes y como rotación de cultivos.

Materiales y métodos

El trabajo de investigación se realizó en el *Centro de Facilidades para la Investigación y Capacitación* Quipaquipani, propiedad de la Fundación PROINPA. Quipaquipani se encuentra a 4 km al sur de Viacha y 41 km de la ciudad de La Paz, a 16°40'26.5" de latitud Sur, 68°18'58" de longitud Oeste y a una altitud de 3881 msnm.

Aislamiento de bacterias

Se tomaron muestras de raíces con nódulos de plantas de tarwi, provenientes de Jutilaya, Punamá (provincia Camacho, La Paz) y Challapata (provincia Abaroa, Oruro).

Para el aislamiento de las rizobias, los nódulos fueron desinfectados y colocados en bolsas de polietileno, donde se añadió 1 ml de solución salina para su maceración. De cada solución macerada se extrajo 100 µl que luego se colocaron en tubos Ependorff con 900 µl de solución salina, para realizar las diluciones seriadas (10^{-2} a 10^{-3}). Luego se tomó una muestra de 100 µl de la dilución 10^{-3} y se transfirió a una placa Petri con medio LMA (extracto de levadura manitol agar) donde se dispersó las bacterias para luego sellar las placas.

Estas se incubaron a 28°C por 24 horas, colocándolas en posición invertida para evitar la condensación del agua sobre la superficie del medio.

Implementación del ensayo

Para la multiplicación de los aislamientos, se prepararon diez matraces Erlenmeyer (de 25 ml) que contenían 15 ml de medio de cultivo líquido LM (levadura manitol). Cada matraz se inoculó con un aislamiento diferente.

El sustrato de siembra estaba conformado por turba, arena y suelo agrícola del lugar, en una proporción 2:2:1. Fue esterilizado con vapor de agua durante una hora a 120°C, luego colocado en bolsas de plástico (29cm * 20 cm) los cuales fueron dispuestos dentro el invernadero a manera de macetas.

Con las manos apropiadamente desinfectadas con alcohol al 70%, se sembraron tres semillas de tarwi por cada bolsa.

La inoculación con cada aislamiento consistió en la aplicación de 500 µl ($1/2$ ml) del inóculo al cuello de cada planta, cuando estas presentaban de 2 a 4 hojas verdaderas. Para una unidad experimental, que consistía en cuatro bolsas o macetas, se utilizaron 2000 µl (2 ml) de un inóculo (tratamiento) y para las cuatro repeticiones de cada inóculo se utilizó 8000 µl (8 ml). Al testigo solo se aplicó 500 µl de agua estéril por planta (bolsa o maceta).

Se utilizó el diseño experimental de Bloque Completamente al Azar, con 4 repeticiones, 11 tratamientos (10 aislamientos, 1 testigo sin aplicación -Cuadro 1-).

Cada unidad experimental (4 bolsas con dos plantas de tarwi cada una), fueron distribuidas aleatoriamente al interior de cada bloque.

Cuadro 1. Tratamientos del ensayo

Comunidad	Código del aislamiento	Código del tratamiento
Jutilaya	*RH1	T1
	*RH2	T2
	*RH3	T3
	*RH4	T4
	*RH5	T5
	*RH6	T6
	*RH7	T7
	*RH8	T8
Punama	**RHS1	T9
Challapata	**RHS2	T10
--	TESTIGO (sin inóculo)	T11

*RH: Rizobia de tarwi cultivado

**RHS: Rizobia de tarwi silvestre

Las variables de respuesta fueron:

- Caracterización bioquímica de las rizobias aisladas
- Altura de planta
- Diámetro de cuello
- Materia seca vegetal (%)
- Longitud, peso, y volumen radicular
- Número de vainas
- Materia seca de nódulos
- Rendimiento en vaina verde

Resultados y discusión

DESARROLLO DE COLONIAS EN MEDIO DE CULTIVO

Se observó que todos los aislamientos de tarwi cultivado (*Lupinus mutabilis* S.) y tarwi silvestre (*Lupinus* spp.) presentaron morfología macroscópica típica del géne-

ro *Rhizobium*, desarrollando colonias transparentes o blanquecinas y de consistencia mucilaginosas, en el medio de cultivo LMA.

Estas mismas características fueron descritas por Chincheros (1996) y Pérez *et al.* (2008), quienes obtuvieron aislamientos de leguminosas, a los cuales los caracterizaron como bacterias de crecimiento rápido, que formaban colonias grandes y de aspecto mucoso en medio LMA, comunes en las especies de los géneros de crecimiento rápido *Rhizobium* y *Sinorhizobium*, que forman parte de la familia Rhizobiaceae que se caracteriza por presentar colonias grandes, circulares, blancas o de color beige, convexas, semi traslúcidas y mucilaginosas.

Mediante las características estudiadas en el presente trabajo, no fue posible diferenciar estos dos géneros, ya que no existían diferencias fenotípicas entre ellos debido a su cercanía filogenética.

CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE LAS RIZOBIAS AISLADAS

Prueba por reacción ácida o alcalina del medio. En la prueba por reacción ácida o alcalina del medio, se observó que los aislamientos reaccionaron de manera diferente, generando un cambio en el pH debido a la acidificación del medio por la bacteria, cambiando de un color inicial verde (pH neutro) a un color amarillento (pH ácido), presentándose en 9 de los 10 aislamientos con un porcentaje superior (90,9%).

Aislamientos obtenidos de nódulos de soya, presentaron las mismas características al diferenciar bacterias del género *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*, presentado pH bajos y pH altos, respectivamente (Sadovsky *et al.* 1983).

Prueba de tinción de Gram. De acuerdo a la prueba de tinción diferencial de Gram, se observó que las bacterias de los diez aislamientos se tiñeron de color rosa, característica propia del género *Rhizobium*, debido al tipo de pared celular delgada.

Según Chincheros (1996), esta coloración se debe al colorante safranina que tiñe a bacterias Gram negativas, esta característica es una forma de identificación a los géneros *Rhizobium*.

VARIABLES AGRONÓMICAS

El Cuadro 2 presenta los valores medios de las cinco variables agronómicas de respuesta para todos los tratamientos evaluados.

Altura de planta. El análisis de varianza para la variable altura de planta, indica que existen diferencias altamente significativas entre tratamientos (P: 0,001). De acuerdo al Cuadro 2, el aislamiento que permitió una mejor altura de planta fue

T1, el mismo que proviene de tarwi cultivado. Le siguen en efecto los tratamientos T6 y T7 y luego T2, T3 y T5. El resto de los aislamientos tuvieron un efecto similar al testigo sin inoculación.

El efecto de la inoculación también fue observado por Alsina *et al.* (2008), al utilizar un aislamiento de colección (*Rhizobium lupini*), un aislamiento comercial y un testigo sin inocular, en tres diferentes variedades de tarwi, obteniendo como resultado un efecto diferenciado en la altura de planta, por el aislamiento de colección y el aislamiento comercial, frente al testigo. Chincheros (1996), observó los mismos efectos de 5 aislamientos, hasta los 65 días del cultivo de tarwi.

Diámetro de cuello. El análisis de varianza para diámetro de cuello muestra diferencias estadísticas (P: 0,0001) entre tratamientos. Los aislamientos que permitieron incrementar el diámetro de cuello, fueron T1 y T6 (Cuadro 2), ambos provenientes de tarwi cultivado.

Cuadro 2. Valores promedio para cinco variables agronómicas evaluadas

Código de tratamiento	Altura de planta (cm)	Diámetro del cuello (mm)	Materia seca vegetal (%)		Número de vainas por planta	Rendimiento en vaina verde (kg/ha)
			A floración	A cosecha		
T1	102.8 a	5.2 a	14.8 a	15.4 a	12 a	615 a
T2	88.7 c	4.9 b	14.5 a	13.6 b	5 b	243 b
T3	90.5 c	4.6 b	14.9 a	13.6 b	8 b	374 a
T4	82.0 d	4.6 b	14.6 a	19.8 a	12 a	225 b
T5	90.6 c	4.5 b	14.4 a	11.8 c	6 b	236 b
T6	95.9 b	5.0 a	14.6 a	15.2 b	7 c	300 a
T7	93.2 b	4.7 b	15.0 a	12.9 b	5 b	188 b
T8	83.2 d	4.4 b	14.4 a	12.1 b	5 b	185 b
T9	85.9 d	4.7 b	16.1 a	13.0 b	15 a	800 a
T10	78.2 d	4.2 b	14.3 a	9.9 c	5 b	175 b
T11	86.6 d	4.8 b	14.3 a	10.0 c	6 c	234 b

Valores medios con diferente letra, por columna, son estadísticamente diferentes (P: 0,05).

Estos resultados muestran que los aislamientos nativos podrían ser inductores de crecimiento en diámetro de tallo. El tratamiento T1 resalta, porque además de incrementar el diámetro, también incide en la altura de planta. El resto de los tratamientos tuvo un efecto similar al testigo sin inocular. Una de las condiciones para la fijación de N, es que debe producirse una rápida formación celular, lo que indica que la fijación de N está ligada al crecimiento, así mismo se ve reflejada en la relación C/N (Coyne 2000).

Materia seca vegetal. El análisis de varianza muestra diferencias significativas para la variable porcentaje de materia seca, evaluada a la cosecha (P: 0,0017) y no así en la evaluación de la misma variable al momento de floración (P: 0,097).

Los aislamientos que permitieron un mejor porcentaje de materia seca en la cosecha fueron T1 y T4 (17,76%), ambos provenientes de tarwi cultivado, seguido de T2, T3, T6, T7, T8 y T9 (11,43%), finalmente los aislamientos T10, T5 y el testigo sin inocular (10,5%) (Cuadro 2).

Al respecto, Alsina *et al.* (2008), muestran aumentos de la materia seca del 27% en las plantas, como efecto de la inoculación, esto se mantuvo durante los periodos de vegetación del cultivo de *Lupinus*. Chincheros (1996), también menciona que tres cepas de *Bradyrhizobium*, permitieron incrementos de la materia seca de tarwi en campo. Los aislamientos han tenido un efecto positivo en el incremento de la biomasa vegetal lo que seguramente está relacionado a una mejor fijación del N atmosférico.

Longitud, peso y volumen de raíz. No se pudo demostrar estadísticamente que los aislamientos tengan un efecto en la longi-

tud, peso y volumen de raíz. La falta de influencia de los aislamientos en el desarrollo de la raíz, sugiere que son selectivos como promotores de crecimiento, para la parte aérea de la planta, por lo que estos parámetros de evaluación no son determinantes para evaluar el efecto de los aislamientos.

Número de vainas por planta. Existen diferencias estadísticas significativa (P: 0,001) por efecto de los aislamientos. Las cepas que promovieron un mayor número de vainas fueron T1, T4 y T9 con un promedio de 12 vainas por planta. Los dos primeros provienen de tarwi cultivado, a diferencia del último, que proviene de tarwi silvestre (Cuadro 2). Estos resultados muestran que estos aislamientos son altamente promisorios para el incremento del número de vainas, en comparación a T3, T5, T6, T8, T10 y el testigo, con un promedio de 6 vainas por planta, seguido de T2 y T7, con un promedio de cuatro vainas por planta.

El número de vainas esta positivamente relacionado con el rendimiento debido a que es un componente muy importante del mismo. Deaker *et al.* (2004) al inocular con rizobias, además de incrementar la nodulación, lograron incrementar también el rendimiento hasta en más del 25%.

Rendimiento en vaina verde. Esta variable se expresó en kg/ha, proyectando el dato de las 4 plantas al número de plantas por metro cuadrado de acuerdo a la densidad de siembra acostumbrada en campo. Para esta variable existen diferencias significativas por efecto de los aislamientos. Así T1, T3, T6 y T9 promovieron los mayores rendimientos en vaina verde que oscilaron entre 801.73 kg/ha a 298.08 kg/ha. Los tres primeros corresponden a aislamientos de tarwi cultivado y silves-

tre, respectivamente. El efecto de los demás aislamientos y el testigo oscilaron entre 246 a 170.14 kg/ha (Cuadro 2).

Chincheros (1996), encontró un aislamiento promisorio (LC-TIQ 293) de *Bradyrhizobium*, inoculado en el cultivo de tarwi en condiciones de campo, que permitió incrementar el rendimiento en grano.

El número de vainas y el rendimiento están altamente relacionados, los aislamientos T1 y T9, fueron los que se expresaron en ambos casos, una alta relación simbiótica reflejada en el desarrollo de las vainas, debido a los buenos niveles de nitrógeno almacenado por la planta, a través de los nódulos efectivos de las raíces, los mismos podrían ser tomados en cuenta como altamente promisorios para futuros ensayos en condiciones de campo.

VARIABLES LIGADAS A NODULACIÓN EN RAÍCES

Número de nódulos. Existen diferencias significativas en el número de nódulos por efecto de los aislamientos (P: 0,001).

El mayor número de nódulos (Cuadro 3), se obtuvo en la etapa de floración, debido a que la actividad simbiótica entre las plantas y bacterias es muy elevada, en comparación a la etapa de cosecha, donde el desarrollo culmina y la actividad simbiótica disminuye rápidamente.

Según León *et al.* (2001), entre las principales variaciones “suelo, inoculante y especie”, el que produjo mayor variación sobre el número de nódulos es el suelo y el inoculante. A la floración, los aislamientos que lograron un mayor número

de nódulos a nivel general, fueron el T3, T6 y T10 con un valor promedio de 9 nódulos/planta, los dos primeros provenientes de tarwi cultivado y los otros de tarwi silvestre.

Los demás aislamientos se comportaron igual al testigo sin inocular, con un valor promedio medio de 5 nódulos/planta. A la cosecha, los aislamientos T1, T10, T3, T4, T6, T7, T9, incluyendo el testigo, tuvieron un efecto similar debido posiblemente a la disminución natural del número de nódulos en esta etapa.

Chincheros (1996), en condiciones de campo, también encontró diferencias en el número de nódulos evaluados en dos fechas (antes y después de la floración). Por otro parte el mismo autor indica que la presencia de nódulos en las raíces del testigo, se debe a la población nativa existente en el suelo, que puede ser altamente competitiva en la formación de nódulos, pero poseen baja eficiencia fijadora de nitrógeno.

El número de nódulos es un indicador de infectividad de las bacterias en las raíces del cultivo, donde los aislamientos T3, T6 y T10, respondieron con una alta formación y número de nódulos, atraídos por los exudados de las plantas. Sin embargo, esto no fue reflejado en el desarrollo de la planta, mostrando así una baja eficiencia en la fijación del nitrógeno.

Materia seca de nódulos. El porcentaje de materia seca de nódulos, a nivel general, no fue diferente entre los aislamientos, pero sí hubo variación en las dos etapas fenológicas del cultivo (Cuadro 3), obteniéndose mayor peso de nódulos en la etapa de floración.

Cuadro 3. Valores promedio para dos variables a nivel de nodulación en raíces, en dos momentos fisiológicos de desarrollo de tarwi en invernadero

Código de tratamiento	Número de nódulos		Materia seca de nódulos (%)	
	A floración	A cosecha	A floración	A cosecha
T1	5 b	5 a	24.5 a	17.5 a
T2	5 b	1 b	17.1 c	17.5 a
T3	8 a	5 a	27.2 a	16.7 a
T4	4 b	4 a	20 b	17.2 a
T5	6 b	2 b	24.5 a	18.2 a
T6	10 a	5 a	20.3 b	17.4 a
T7	3 c	4 a	24.7 a	17.8 a
T8	4 b	2 b	19.8 b	19.7 a
T9	3c	4 a	24.5 a	19.5 a
T10	8 a	4 a	23.8 b	15.0 b
T11	6 b	4 a	22.8 b	16.5 a

Valores medios con diferente letra, por columna, son estadísticamente diferentes (P: 0,05).



Nódulo en raíces de tarwi (izquierda) y corte transversal de un nódulo (derecha)

Los tratamientos con mayor materia seca de nódulos en la etapa de floración, fueron T1, T3, T5, T7 y T9, que presentaron un rango de 23,44% a 27,71%, donde el tratamiento T3, fue el que coincide con número de nódulos para la etapa de floración, esto indica que este aislamiento T3, además de formar mayor número de nódulos, puede producir mayor materia seca, demostrando una alta capacidad de simbiosis entre bacteria y planta.

Para la etapa de cosecha, en todos los tratamientos -incluyendo el testigo-, se obtuvo rangos menores a la floración, los mismos fueron de 16,2% a 19,4% de materia seca, excepto el tratamiento T10 que se encontró por debajo del testigo con 14,89%.

Según León *et al.* (2001), la interacción planta e inoculante (aislamiento), tuvo efectos significativos sobre la nodula-

ción, encontrándose diferencias en el peso seco de nódulos por planta, siendo el factor inoculante la principal fuente de variación, para el peso seco de nódulos por planta. Chincheros (1996), obtuvo diferencias en peso seco de nódulos/planta, en dos etapas de evaluación.

AGRUPAMIENTO DE CLÚSTER

En base a todas las variables de respuesta, bajo un análisis de agrupamiento, se logró formar tres grupos, tal como se muestra en la Figura 1 y el Cuadro 4. De acuerdo a las medias grupales (Cuadro

4), se puede plantear las siguientes diferenciaciones:

⇒ El grupo 1 presenta las mejores características en cuanto a altura de planta, diámetro de hoja, volumen de raíz, número de nódulos, número de vainas, UFC (Unidades Formadoras de Colonias) y rendimiento.

⇒ El grupo 2 muestra dos características en materia seca vegetal (%) y longitud de raíz.

⇒ El grupo 3 se caracteriza por la materia seca de nódulos (%).

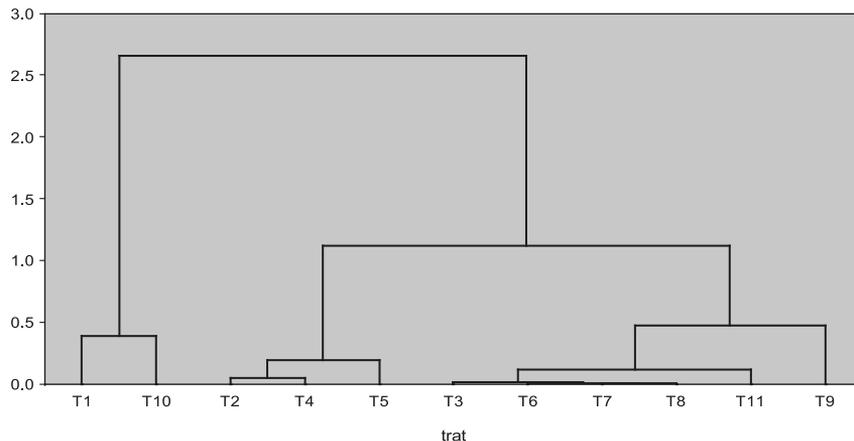


Figura 1. Agrupamiento de “CLUSTER”

Cuadro 4. Cuadro de medias de los grupos

Variables	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
Altura de planta	90,47	87,09	89,19
Diámetro de cuello	4,66	4,66	4,67
Materia seca vegetal (%)	13,51	14,66	13,68
Longitud de raíz	8,20	10,47	8,98
Peso de raíz	5,40	5,63	5,68
Volumen de raíz	44,00	41,10	43,97
Número de nódulos	5,50	3,67	4,67
Materia seca de nódulos (%)	19,58	19,18	20,22
Número de vainas	7,50	6,67	6,83
Rendimiento	402,79	354,98	367,43

El grupo 1 está constituido por los tratamientos T1 y T10; el grupo 2 por los tratamientos T2, T4 y T5, finalmente el grupo 3 está conformado por el resto de los tratamientos, incluyendo al testigo.

Conforme a estos resultados, se seleccionó al grupo 1 como aislamientos promisorios para el desarrollo del cultivo de tarwi.

De acuerdo a los resultados de análisis de correlación, entre todas las variables, para el aislamiento 1 muestra resultados interesantes en el que destaca una correlación positiva y significativa ($P: 0,0057$), entre materia seca de nódulos y número de vainas, lo que significa que cuando incrementa la materia seca de nódulos, incrementa también el número de vainas, aspecto altamente relacionado con el rendimiento.

Asimismo, en cuanto a la proporción del color de nódulos rosados, al incrementarse la misma, también se incrementa el número de vainas ($P: 0,0458$).

El rendimiento y número de vainas (como era de esperarse) están altamente relacionados ($P: 0,0001$).

Conclusiones

- Los aislamientos seleccionados de *Lupinus mutabilis* Sweet y *Lupinus* spp., provenientes de zonas productoras de tarwi de La Paz y Oruro, presentaron características típicas del género *Rhizobium*, de acuerdo a su morfología macroscópica y pruebas bioquímicas.
- La mayoría de los aislamientos, provenientes tanto de tarwi cultivado como de tarwi silvestre, tuvieron efec-

to positivo sobre alguna variable agronómica, respecto al testigo sin inoculación.

- El aislamiento de tarwi cultivado T1, es el que más destaca en las principales variables agronómicas, tales como altura de planta, diámetro del cuello del tallo, materia seca de la planta, materia seca de nódulos y número de vainas. Otros aislamientos de tarwi cultivado, que también destacaron, fueron T3 y T6, especialmente en el incremento de la materia seca de planta y el número de nódulos. El aislamiento de tarwi silvestre que más destaca, fue T9, especialmente en el incremento de la materia seca de planta, número de nódulos, materia seca de nódulos y número de vainas.
- Los aislamientos que favorecieron en la principal variable agronómica como es el rendimiento de vaina, fueron aquellos provenientes de tarwi cultivado, es el caso de T1, T3, T6 y el aislamiento proveniente de tarwi silvestre T9.
- El análisis clúster, destaca a los aislamientos T1 y T10 porque agrupan las mejores características, como son altura de planta, diámetro de hoja, volumen de raíz, número de nódulos, número de vainas, número de UFC y rendimiento.

Referencias citadas

- Alsina I., Steinberga V., Ansevia A., Dubova L., Liepina L. 2008. The evaluation of effectiveness of *Rhizobium lupini* strains. Latvia University of Agriculture Institution of Soil and Plant Sciences. Nitrogen use efficient and nitrogen budget for conservation tilled wheat J. Soil

- Science of America. Sep/Oct V. 52 (5): 1394-1398.
- Campero A. 2000. Selección en condiciones de invernadero de aislamientos de *Bradyrhizobium* para garbanzo. UMRPSFXCh. Facultad de Ciencias Agrícolas Pecuarias y Forestales. Sucre, Bolivia. pp. 1-2.
- Coyne M. 2000. Microbiología del suelo: Un enfoque exploratorio. Editorial Paraninfo. Impreso en España. Capítulos 19, 20, 21, 27, 28, 22. pp. 217-340.
- Chincheros J. 1996. Selección de aislamientos de *Bradyrhizobium lupini* a partir de plantas cultivadas de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet). Tesis de grado. Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Agronomía. La Paz, Bolivia. pp. 6-7.
- Deaker R., Roughley J., Kennedy R. 2004. Legume seed inoculation technology -a review-. Nitrogen Fixation in Australian Agricultural Systems: 13th. Australian Nitrogen Fixation Conference. Volume 36, Issue 8. pp. 1275-1288.
- León O., Silva Y., Acevedo E. 2001. Respuesta a la inoculación en dos especies de lupino (*Lupinus albus* L. y *Lupinus angustifolius* L.). Laboratorio de relación Suelo Agua Planta. Facultad de Ciencias. Agronómicas. Universidad de Chile. *En línea*. Disponible en: www.sap.uchile.cl/descargas/publicacion/Respuesta_a_la_Inoculacion_en_Dos_Especies_de_Lupinus.pdf 22/10/2013 Consultado en septiembre de 2017.
- Mamani P., Calisaya J. 2018. El tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) y otras leguminosas como alternativas para recuperar los suelos y mejorar el sistema de rotación de cultivos de regiones andinas semiáridas de Cochabamba. 2018. Revista de Agricultura Nro. 57. FCAyP-CIF-PROINPA. Cochabamba, Bolivia. *En prensa*.
- Pérez G., Gomez G., Napoles M., Morales B. 2008. Isolation and characterization of rhizobia strains isolated from different legumes in the Cascajal región, Villa Clara. Red de revistas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". *En línea*. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=269119699005> 22/12/2013 Consultado en noviembre de 2017.
- Rodríguez B., Lopez M. 2009. Evaluation of the biological fertilization on cowpea with native *Rhizobium* strains isolated from an ultisol in land plane Guarico state. INIA-CENIAP. Maracay, Estado Aragua. Venezuela. pp. 382, 383.
- Sadowsky M., Harold H., Ben Bohlool B. 1983. Biochemical characterization of fast and slow growing Rhizobia that nodulate soy beans. International Journal of Systematic Bacteriology. Vol. 33, Nro. 4: 716-722.
- Sucojayo L., Espinoza G., Chincheros J. 1998. Determinación de la capacidad infectiva de aislamientos de *Bradyrhizobium lupini* resistentes a estreptomomicina cultivadas en plantas de tarwi (*Lupinus mutabilis* y *Lupinus albus*). Instituto SELADIS, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia. pp. 49-50.

Trabajo recibido el 14 de mayo de 2018 - Trabajo aprobado el 18 de julio de 2018