

**Respuesta de 12 genotipos de frijol a la  
inoculación con *Rhizobium* bajo condiciones  
de estrés hídrico y baja fertilidad**

**Ruth María Valladares Reyes**

**Zamorano, Honduras**

Diciembre, 2009

ZAMORANO  
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

**Respuesta de 12 genotipos de frijol a la  
inoculación con *Rhizobium* bajo condiciones  
de estrés hídrico y baja fertilidad**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingeniera Agrónomo en el  
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

**Ruth María Valladares Reyes**

**Zamorano, Honduras**

Diciembre, 2009

# Respuesta de 12 genotipos de frijol a la inoculación con *Rhizobium* bajo condiciones de estrés hídrico y baja fertilidad

Presentado por:

Ruth M. Valladares Reyes

Aprobado:

---

Juan Calos Rosas, Ph.D.  
Asesor principal

---

Miguel Vélez, Ph.D.  
Director  
Carrera de Ciencia y Producción  
Agropecuaria

---

Ana Gabriela Vargas, Ing Agr.  
Asesor

---

Raúl Espinal, Ph.D.  
Decano Académico

---

Marcelino Guachambala, Ing Agr.  
Asesor

---

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.  
Rector

---

Abelino Pitty, Ph.D.  
Coordinador de Fitotecnia

## RESUMEN

Valladares R. 2009. Respuesta de 12 genotipos de frijol a la inoculación con *Rhizobium* bajo condiciones de estrés hídrico y de baja fertilidad. Proyecto especial de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras, 19p.

El frijol es la principal fuente de proteína para la mayoría de los pobladores de Centro América, sin embargo, su producción está limitada por factores abióticos, como deficiencia de nitrógeno (N) y fósforo en el suelo y la sequía. Las bacterias del género *Rhizobium* en su asociación simbiótica con el frijol, pueden aportarle al cultivo hasta el 50% de N requerido. La eficiencia en la nodulación y la fijación de N<sub>2</sub> depende de la interacción cepa -genotipo, y las condiciones de suelo y clima. El objetivo del estudio fue evaluar la respuesta a inoculación con *Rhizobium* de genotipos de frijol bajo condiciones de estrés hídrico y baja fertilidad. Los ensayos se realizaron en invernadero de mayo a agosto de 2009. Se evaluaron 12 genotipos 10, tolerantes a la sequía y la baja fertilidad A774, IBC 301-204, IBC 302-29, IBC 309-23, MDSX 14797-6-1, PR 0340-3-3-1, RAB 651, RBF 19-63, SX 14825-7-1, TLP 19 y los testigos Amadeus 77 (variedad mejorada) y Seda (criolla) los cuales fueron inoculados en dos ensayos con *Rhizobium tropici* (899), *Rhizobium etli* (632) y un ensayo no inoculado. Se usó un arreglo factorial con parcelas divididas de un diseño de bloques completamente al azar; los tratamiento de estrés de sequía se distribuyeron en las parcelas y los genotipos en sub parcelas, la mayoría de las diferencia en nodulación, crecimiento y rendimiento se debieron al estrés hídrico observándose una disminución significativa en relación a las plantas sin estrés. Los genotipos mostraron el mismo patrón de comportamiento con y sin estrés hídrico. Pero hubo efectos en la interacción estrés por genotipo en algunas variables, el estrés hídrico tuvo efecto en la nodulación, crecimiento y rendimiento de grano, en los ensayos con CIAT 899 y sin inóculo.

**Palabras clave:** Fijación biológica de nitrógeno, CIAT 632, CIAT 899.

## ABSTRACT

Valladares Reyes R. 2009. Response of twelve bean genotypes to Rhizobium inoculation under hydric stress and low fertility conditions. Special Agronomic Engineer Project, Zamorano, Honduras, 19p.

Common bean is the main source of protein for most of the Central American population, but its production is limited by abiotic factors as Nitrogen and Phosphorus deficiencies in soil, and drought. Bacterias of Rhizobium genera in their symbiotic association with bean can provide to the crop up to 50% of the N required. Efficiency in nodulation and N<sub>2</sub> fixation depends on the cepa- genotype interaction and the soil and weather conditions. The objective of the study was evaluating the response to inoculation with Rhizobium with bean genotypes under hydric stress conditions and low fertility. The assays were developed in a green house from to August of 2009. Twelve genotypes were evaluated: ten were tolerant to drought and low fertility, A774, IBC 301-204, IBC 302- 29, IBC 309-23, MDSX 14797-6-1, PR 0340-3-3-1, RAB 651, RBF 1963, SX14825-7-1, TPL 19, and witnesses Amadeus 77 and Seda (creoleriety which were inoculated with *Rhizobium tropici* (trials 899), *Rhizobium etlli* (trials 632) and a uninoculated, we used a factorial arrangement in a split plot design the a completely randomized blocks, the water stress treatment was distributed in plots and genotypes in sub-plots, most of the difference in nodulation, growth and yield was for the water stress and significant decrease compared to plants water stress, genotypes showed similar growth pattern whit and without stress water, but there were effects in genotype stress interaction in some variables, water stress effect in nodulation, growth and grain yield in trials with CIAT 899 and without inoculum.

**Keywords:** CIAT 899, CIAT 632, Biological nitrogen fixation,.

## CONTENIDO

Portadilla.....	I
Página de firmas .....	II
Resumen .....	III
Abstract.....	III
Contenido .....	V
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	VI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS .....	5
4. CONCLUSIONES.....	14
5. RECOMENDACIONES .....	15
6. LITERATURA CITADA .....	16
7. ANEXOS.....	18

## ÍNDICE DE CUADROS Y ANEXOS

### Cuadro

1. Valores P de los ANDEVA de la nodulación (escala 1-9) y pesos secos de raíces, parte aérea, nódulos y total de las plantas de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero en tres ensayos con <i>Rhizobium</i> . Zamorano, Honduras. ....	6
2. Valores P de los ANDEVA de las características de raíces de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero, en tres ensayos con <i>Rhizobium</i> . Zamorano, Honduras. ....	6
3. Valores de P de los ANDEVA de número y peso seco de granos de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones en estrés hídrico en invernadero, de tres ensayos con <i>Rhizobium</i> . Zamorano, Honduras. ....	7
4. Valores promedios de pesos secos de nódulos, raíces, aéreo y total de las plantas y valores de probabilidad (P) de los ANDEVA de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero, en tres ensayos con <i>Rhizobium</i> . Zamorano, Honduras. ....	9
5. Valores promedios de características de raíces y valores de probabilidad (P) de los ANDEVA de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero, en tres ensayos con <i>Rhizobium</i> . Zamorano, Honduras. ....	10
6. Valores promedios del número y peso seco de granos y valores de probabilidad (P) de los ANDEVA de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero, en tres ensayos con <i>Rhizobium</i> . Zamorano, Honduras. ....	11
7. Valores promedios de la nodulación (escala 1 a 9) y valores de probabilidad (P) de los ANDEVA de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero, en tres ensayos con <i>Rhizobium</i> . Zamorano, Honduras. ....	12
8. Coeficientes de correlación de Pearson de la nodulación (1-9), peso seco aéreo (follaje) y total, y número y peso seco de granos de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero, en tres ensayos con <i>Rhizobium</i> . Zamorano, Honduras. ....	13

**Anexo**

Análisis de suelo y prueba de gota .....	18
Fotografías .....	19



## 1. INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la principal fuente de proteínas para la mayoría de la población rural y la urbana de menores ingresos en Centroamérica y el Caribe (Rosas 2000). Las proteínas están compuestas de nitrógeno (N) el cual es un elemento estructural de los tejidos. En proporción a los otros macronutrientes, el N se requiere en cantidades mayores, y se considera un elemento limitante para la absorción de los demás (Elkan 1982).

Generalmente, la producción de frijol en Latinoamérica y África se lleva a cabo en pequeñas fincas ubicadas en su mayoría en terrenos de ladera con suelos marginales, donde las condiciones de sequía y baja fertilidad son factores abióticos que disminuyen el rendimiento de manera significativa. A esto se suma el bajo nivel tecnológico de los pequeños agricultores, debido a la escasa disponibilidad de recursos para la implementación de prácticas de manejo como de fertilización y riego, teniendo como resultado disminuciones en la producción y rentabilidad del cultivo (Rosas *et al.* 2003).

En los terrenos sujetos a la erosión, la disponibilidad de N y fósforo (P) es menor a la requerida por el cultivo, siendo necesaria la fertilización, la cual está fuera del alcance de los productores o no se aplica en forma óptima, ya sea por deficiencias técnicas o económicas. El frijol tiene la capacidad de actuar en procesos simbióticos con las bacterias fijadoras de nitrógeno *Rhizobium*, la cual es una bacteria gram negativa que posee la enzima nitrogenasa que cataliza el proceso donde se reduce y combina el N<sub>2</sub> formando NH<sub>4</sub>. Para este proceso se requiere grandes cantidades de ATP (Ureta y Nordlund 2002), y la bacteria emplea compuestos carbonatados oxidables para su metabolismo, los cuales son proporcionados por la planta. La infección se inicia cuando la raíz segrega flavonoides, isoflavonoides y otros compuestos que estimulan la activación de genes de nodulación a producir nodulinas (proteínas) que inducen el cambio morfológico en la raíz (Utrup *et al.* 1996).

Los exudados orgánicos que liberan las raíces son singulares según la especie y este es el mecanismo de la planta para seleccionar la rizósfera microbiológica; esto sucede en las leguminosas incluyendo el frijol, donde los genotipos por medio de sus exudados muestran selectividad al atraer a ciertas cepas de *Rhizobium* (Goodman *et al.* 1997).

Dadas estas condiciones determinantes, la cepa de *Rhizobium* y su interacción con los genotipos de frijol, que presentan mayor capacidad de nodulación y fijación de N<sub>2</sub> es son alternativa para aumentar la productividad en este cultivo. La planta de frijol puede obtener hasta el 50% de sus necesidades de N para una producción ideal, cuando se establece una simbiosis efectiva con dichas cepas (Rosas y Bliss 1985).

La fijación biológica de nitrógeno en la mayoría de los casos no expresa su máximo potencial debido a que está condicionada por factores abióticos como el suelo, la humedad, temperatura y horas luz; por esto, es necesario determinar las interacciones genotipo-cepa de *Rhizobium* que presente respuestas superiores en determinadas condiciones abióticas (Wynne *et al.* 1987).

La habilidad fijadora de nitrógeno y la eficiencia de ésta puede variar entre cepas de *Rhizobium* y los genotipos de la planta cultivada, a mayor especificidad se maximiza la formación de nódulos y por ende el proceso de fijación (Halliday *et al.* 1982). La identificación de estas interacciones genotipo-cepa bajo condiciones de estrés son fundamentales para optimizar dicho proceso.

Para identificar genotipos de frijol con un potencial superior en programas de mejoramiento se debe estimar la fijación de N<sub>2</sub> directa o indirectamente, midiendo la cantidad total de N<sub>2</sub> fijado por la planta o midiendo caracteres directamente relacionados como pesos secos de los nódulos. Apreciando sus características en el mejoramiento de la fijación biológica se pretende seleccionar genotipos con incremento en el potencial de fijación de N<sub>2</sub> mediante la inoculación con cepas efectivas de *Rhizobium* y combinar esta característica con otras de valor comercial y agronómico (Rosas *et al.* 1985).

El objetivo de este estudio fue identificar genotipos de frijol con alta respuesta a la inoculación con *Rhizobium* bajo condiciones de estrés de sequía y baja fertilidad, para fines de desarrollo de variedades o su utilización como progenitores en programas de mejoramiento.

## 1.1 ANTECEDENTES

En ensayos conducidos en Zamorano durante el período 2007-08, se evaluaron 180 genotipos de frijol procedentes de diferentes reservorios genéticos, lográndose identificar 25 genotipos que mostraron ser superiores en su tolerancia a bajo contenido de nitrógeno en el suelo bajo condiciones de estrés hídrico, incluyendo una mayor eficiencia en la respuesta a la inoculación con las cepas de *Rhizobium* CIAT 899 (*R. tropici*) y CR477 (*R. etli*). Estos genotipos fueron posteriormente evaluados en el campo, bajo condiciones de estrés de sequía y baja fertilidad, durante el periodo seco de 2009, lográndose seleccionar 10 genotipos con alto potencial para ser usados como variedades o como progenitores, dichos genotipos son los evaluados en este estudio.

## **2. MÉTODOS**

### **2.1 UBICACIÓN**

El estudio se realizó en el invernadero # 2 del Programa de Investigaciones en Frijol (PIF) de la Escuela Agrícola Panamericana (EAP), Zamorano, de mayo a agosto de 2009, a una altura de 800 msnm, con temperatura media de 24 °C y precipitación media anual de 1100 mm.

### **2.2 MATERIAL EXPERIMENTAL**

Se evaluaron 12 genotipos de frijol, 10 líneas seleccionadas por su tolerancia a la sequía y dos testigos, Amadeus 77 (variedad mejorada) y Seda (variedad criolla), que se evaluaron en condiciones de estrés hídrico y baja fertilidad en dos ensayos inoculados con cepas de *Rhizobium* CIAT 632 (*R. etli*) y CIAT 899 (*R. tropici*) y uno sin inoculación.

### **2.3 TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL**

Cada ensayo se condujo utilizando un arreglo factorial en parcelas divididas de un diseño BCA. Los tratamientos de estrés hídrico se distribuyeron en las parcelas y los genotipos en las sub-parcelas. Se sembraron dos unidades experimentales por genotipo, las que se muestrearon a floración y a la madurez fisiológica. Se emplearon cuatro repeticiones en cada ensayo. Todas las unidades experimentales de los tres ensayos tuvieron condiciones de baja fertilidad al usarse un sustrato suelo: arena (1:2) bajo en N y P y otros nutrimentos (Anexo 2).

### **2.4 SIEMBRA**

Se pre-germinaron 30 semillas de cada genotipo en papel para germinación para obtener plantas con tamaño de radícula similar. A los 3 días se sembraron dos semillas por cilindro de suelo conteniendo el sustrato suelo: arena (1:2) mencionado anteriormente, utilizando bolsas de polietileno transparentes colocadas en el interior de tubos de PVC de 73 cm largo × 7.5 cm diámetro, usado como soporte y para evitar la exposición de las bolsas a la luz directa. A los 3 días después de la siembra (DDS) se procedió a ralea dejando una planta en cada tubo. El sustrato no fue esterilizado a fin de mantener condiciones lo más similares posibles al suelo en el campo, en cuanto a la presencia de microorganismos incluyendo al *Rhizobium* residente.

## 2.5 INOCULACIÓN

La dosis aplicada fue 1 ml de inóculo líquido/planta, contenido en un caldo levadura manitol a una concentración de  $1 \times 10^{12}$  rizobios, determinada mediante la Prueba de Gota (Anexo 2). A los 8 DDS se repitió la dosis de inóculo para asegurar el proceso de infección. El ensayo 1 se inoculó con *Rhizobium* cepa 632 (*R. etli*), el ensayo 2 con CIAT 899 (*R. tropici*) y el ensayo 3 no fue inoculado.

## 2.6 MANEJO DE LOS ENSAYOS

Las parcelas con estrés (CE) hídrico se regaron normalmente hasta los 10 DDS (dos riegos diarios, 9:00 am y 2:00 pm); de los 11 a 20 DDS se redujo al 50% (un solo riego diario); y a los 20 DDS, el riego se suspendió por completo. Las parcelas sin estrés (SE) se regaron diariamente hasta un día antes de los muestreos respectivos, a la floración y a la madurez. El manejo de plagas y enfermedades fue óptimo durante la conducción de los ensayos.

## 2.7 VARIABLES MEDIDAS

Al momento de floración (42 DDS) se tomaron muestras de los ensayos y se evaluó la nodulación con una escala de medición visual de 1 a 9 (1= pobre, 9= excelente), ajustada al estudio. Para ello, se separaron los nódulos de las raíces, éstas se almacenaron en una solución con etanol al 25% para posteriormente ser escaneadas con el programa WinRhizo<sup>®</sup> y medir la longitud, área superficial, diámetro promedio y volumen de las raíces.

El peso seco de la parte aérea (follaje), raíces y nódulos se determinó colocando las muestras en un horno a  $70\text{ }^{\circ}\text{C} \times 48\text{ h}$ . Luego, de la suma de estos valores se determinó el peso seco total de la planta. A la madurez fisiológica (65-70 DDS) se determinó el peso seco de los granos y el número de granos por planta. En todos los procesos de pesado se utilizó una balanza analítica.

### 3. RESULTADOS

El estrés hídrico causó diferencias significativas en la nodulación de los genotipos en los tres ensayos con inoculación con *Rhizobium* (CIAT 632, CIAT 899 y sin inóculo), pero sólo en el peso seco de nódulos y total de las plantas con CIAT 632 y sin inoculación (Cuadro 1). Los efectos de genotipo se observaron solamente en la nodulación y peso seco de raíces con la cepa CIAT 632, y en el peso seco de raíces con la cepa CIAT 899. En cuanto a la interacción estrés  $\times$  genotipo (E  $\times$  G), se tuvieron efectos en la nodulación con la cepa CIAT 899 y en el peso seco aéreo en el ensayo sin inoculación.

En general, en las características de raíces se observaron muy pocas diferencias significativas (Cuadro 2); siendo significativas sólo las diferencias debidas al estrés hídrico en la longitud y área superficial de las raíces en los ensayos con CIAT 899 y sin inoculación. Los efectos de genotipo se observaron en la longitud y área superficial de raíces solamente en el ensayo sin inoculación. La interacción E  $\times$  G no presentó efectos significativos en ninguna variable de raíces en los tres ensayos con *Rhizobium*.

En cuanto a los efectos en la producción de granos a la madurez, se observaron diferencias debidas al estrés hídrico en el número y peso de los granos en los tres ensayos con inoculación con *Rhizobium* (Cuadro 3). Por otro lado, se registraron efectos de genotipo en el número de granos con la cepa CIAT 899 y sin inoculación. La interacción E  $\times$  G tuvo efectos en el número de granos en los ensayos con la cepa CIAT 632 y sin inoculación.

Cuadro 1. Valores P de los ANDEVA de la nodulación (escala 1-9) y pesos secos de raíces, parte aérea, nódulos y total de las plantas de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero en tres ensayos con *Rhizobium*. Zamorano, Honduras.

Factores	Nodulación	PSR	PSA	PSN	PST
Cepa 632					
Estrés hídrico (E)	0.00**	0.19 <sup>NS</sup>	0.36 <sup>NS</sup>	0.08 <sup>NS</sup>	0.40 <sup>NS</sup>
Genotipo (G)	0.00**	0.01**	0.48 <sup>NS</sup>	0.60 <sup>NS</sup>	0.42 <sup>NS</sup>
Interacción (E×G)	0.07 <sup>NS</sup>	0.17 <sup>NS</sup>	0.39 <sup>NS</sup>	0.62 <sup>NS</sup>	0.30 <sup>NS</sup>
Cepa 899					
Estrés hídrico (E)	0.00**	0.72 <sup>NS</sup>	0.38 <sup>NS</sup>	0.00**	0.01**
Genotipo (G)	0.18 <sup>NS</sup>	0.05*	0.46 <sup>NS</sup>	0.92 <sup>NS</sup>	0.56 <sup>NS</sup>
Interacción (E×G)	0.00**	0.27 <sup>NS</sup>	0.46 <sup>NS</sup>	0.82 <sup>NS</sup>	0.40 <sup>NS</sup>
Sin Inoculación					
Estrés hídrico (E)	0.00**	0.21 <sup>NS</sup>	0.01 <sup>NS</sup>	0.05*	0.01*
Genotipo (G)	0.51 <sup>NS</sup>	0.29 <sup>NS</sup>	0.01 <sup>NS</sup>	0.12 <sup>NS</sup>	0.09 <sup>NS</sup>
Interacción (E×G)	0.79 <sup>NS</sup>	0.20 <sup>NS</sup>	0.00**	0.28 <sup>NS</sup>	0.02*

<sup>NS</sup>, \*, \*\*: no significativo, significativo (P<0.05) y altamente significativo (P<0.01), respectivamente PSR= peso seco de raíz, PSA= peso seco aéreo, PSN= peso seco de nódulos, PST= peso seco total de la planta.

Cuadro 2. Valores P de los ANDEVA de las características de raíces de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero, en tres ensayos con *Rhizobium*. Zamorano, Honduras.

Factores	Longitud	Área	Diámetro	Volumen
Cepa 632				
Estrés Hídrico (E)	0.30 <sup>NS</sup>	0.32 <sup>NS</sup>	0.26 <sup>NS</sup>	0.35 <sup>NS</sup>
Genotipo (G)	0.49 <sup>NS</sup>	0.48 <sup>NS</sup>	0.35 <sup>NS</sup>	0.49 <sup>NS</sup>
Interacción (E×G)	0.48 <sup>NS</sup>	0.53 <sup>NS</sup>	0.14 <sup>NS</sup>	0.59 <sup>NS</sup>
Cepa 899				
Estrés Hídrico (E)	0.04*	0.04*	0.12 <sup>NS</sup>	0.09 <sup>NS</sup>
Genotipo (G)	0.31 <sup>NS</sup>	0.33 <sup>NS</sup>	0.35 <sup>NS</sup>	0.21 <sup>NS</sup>
Interacción (E×G)	0.71 <sup>NS</sup>	0.66 <sup>NS</sup>	0.86 <sup>NS</sup>	0.51 <sup>NS</sup>
Sin Inoculación				
Estrés Hídrico (E)	0.02*	0.04*	0.26 <sup>NS</sup>	0.32 <sup>NS</sup>
Genotipo (G)	0.00**	0.04**	0.35 <sup>NS</sup>	0.44 <sup>NS</sup>
Interacción (E×G)	0.19 <sup>NS</sup>	0.26 <sup>NS</sup>	0.14 <sup>NS</sup>	0.48 <sup>NS</sup>

<sup>NS</sup>, \*, \*\*: No significativo, significativo (P<0.05) y altamente significativo (P<0.01), respectivamente.

Cuadro 3. Valores de P de los ANDEVA de número y peso seco de granos de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones en estrés hídrico en invernadero, de tres ensayos con *Rhizobium*. Zamorano, Honduras.

Factores	No. granos/planta	Peso seco (g/planta)
		Cepa 632
Estrés Hídrico (E)	0.01*	0.00**
Genotipo (G)	0.25 <sup>NS</sup>	0.30 <sup>NS</sup>
Interacción (E×G)	0.01*	0.03*
		Cepa 899
Estrés Hídrico (E)	0.00*	0.00*
Genotipo (G)	0.02*	0.06 <sup>NS</sup>
Interacción (E×G)	0.15 <sup>NS</sup>	0.09 <sup>NS</sup>
		Sin Inoculación
Estrés Hídrico (E)	0.01*	0.00**
Genotipo (G)	0.01*	0.85 <sup>NS</sup>
Interacción (E×G)	0.02**	0.94 <sup>NS</sup>

<sup>NS</sup>, \*, \*\*: No significativo, significativo (P<0.05) y altamente significativo (P<0.01), respectivamente.

Para discutir con mayores detalles los resultados obtenidos, en los cuadros del cuatro a siete se presentan los promedios de las variables medidas en los 12 genotipos de frijol en las dos condiciones de estrés hídrico.

No se observaron diferencias significativas en la mayoría de los pesos secos de las diferentes partes de las plantas aunque los valores variaron dentro de cada tratamiento de estrés hídrico (Cuadro 4). Se observaron diferencias en el peso seco de raíces en la condición SE, siendo los genotipos A774 y RAB 651 los de mayor peso de raíces y Amadeus 77 el más bajo, en el ensayo con la cepa CIAT 632. En el ensayo sin inoculación se observaron diferencias significativas para el peso seco aéreo de los genotipos en la condición SE, siendo los de mayor peso IBC 302-29 y SX14825-7-1, y los más bajos en los genotipos MDSX14797-6-1 y PR0340-3-3-1. Se presentaron interacciones E × G significativas en el ensayo sin inoculación para el peso seco aéreo y peso seco total de las plantas, indicando diferencias en el orden de los genotipos en los ambientes de estrés hídrico, SE y CE. Con respecto a esto último, lo deseable es identificar genotipos que se ubiquen en el grupo superior en ambos ambientes. Los altos coeficientes de variabilidad encontrados en los ensayos sugieren que a pesar de observarse valores muy diferentes para estas variables, no se pudo encontrar diferencias significativas debido a las variaciones presentes durante el manejo experimental de los ensayos o los efectos variables del ambiente en las características cuantitativas de las plantas evaluadas en el estudio.

Los efectos debidos a los genotipos en las características de las raíces fueron relativamente escasos en los tres ensayos (Cuadro 6). Solamente se registraron diferencias en la longitud y área superficial de raíces en la condición SE en el ensayo sin inoculación; observándose los mayores valores de longitud en la Variedad Seda e IBC

302-29, y en área superficial en estas mismos genotipos y además en A 774, TLP 19 y algunos otros. La interacción  $E \times G$  fue significativa en la longitud de raíces indicando diferencias en el orden de algunos genotipos en los dos ambientes, SE y CE, en los cuales crecieron. Por ejemplo, la línea RAB 651 fue intermedia en la condición SE, pero una de las de mayor longitud de raíces en la condición CE. Sin embargo, Seda fue la mejor en ambos ambientes, lo cual la hace muy interesante con respecto a esta característica la cual ha sido sugerida como importante para la tolerancia a sequía.

El estrés hídrico afectó significativamente la nodulación de los genotipos de frijol en los tres ensayos (Cuadro 7) con *Rhizobium*. Se presentaron diferencias significativas en la nodulación (escala 1-9) en las condiciones SE con la inoculación con las cepas CIAT 632 y 899, y en la condición CE sólo con la cepa CIAT 899. En ambos ensayos se presentaron efectos significativos de las interacciones  $E \times G$ , sugiriendo un comportamiento diferente en las condiciones de SE y CE en las que se manejaron los genotipos; por ejemplo, el genotipo Seda fue superior en nodulación que MDSX 14797-6-1 en la condición SE y CE con la cepa 632; pero fue inferior a esta línea en la condición CE con la cepa CIAT 899. Por otro lado, en la condición CE, RAB 651 fue mejor en nodulación con la cepa CIAT 632 que con CIAT 899. Estas interacciones sugieren la importancia de identificar interacciones  $E \times G$  superiores para cada condición de estrés hídrico.



Cuadro 4. Valores promedios de pesos secos de nódulos, raíces, aéreo y total de las plantas y valores de probabilidad (P) de los ANDEVA de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero, en tres ensayos con *Rhizobium*. Zamorano, Honduras.

Genotipo	Nodulación (mg/planta)		Raíz (mg/planta)		Aéreo (g/planta)		Total (g/planta)	
	SE <sup>ψ</sup>	CE <sup>φ</sup>	SE	CE	SE	CE	SE	CE
Cepa 632								
A774	535	21	576 <sup>a</sup>	316	3.1	1.3	4.2	1.6
IBC 301-204	148	26	439 <sup>abc</sup>	350	2.8	1.7	3.4	1.5
IBC 302-29	171	30	519 <sup>ab</sup>	383	3.0	1.2	3.7	1.6
IBC 309-23	181	25	481 <sup>ab</sup>	405	3.3	1.4	3.9	1.8
MDSX 14797-6-1	140	45	381 <sup>bc</sup>	373	2.7	1.5	3.3	1.9
PR 0340-3-3-1	115	32	385 <sup>bc</sup>	397	2.4	1.6	2.9	2.0
RAB 651	119	28	580 <sup>a</sup>	437	3.4	1.4	4.1	1.8
RBF 19-63	145	112	434 <sup>abc</sup>	379	2.8	1.2	3.4	1.7
SX 14825-7-1	90	33	480 <sup>ab</sup>	432	3.4	1.5	3.9	1.9
TLP 19	358	90	492 <sup>ab</sup>	446	3.0	1.2	3.8	1.7
AMADEUS 77	123	32	321 <sup>c</sup>	319	2.3	1.7	2.8	1.7
SEDA	227	34	455 <sup>abc</sup>	453	2.7	1.3	3.4	1.7
Valor P (G)	0.61 <sup>NS</sup>	0.57 <sup>NS</sup>	0.04*	0.19 <sup>NS</sup>	0.48 <sup>NS</sup>	0.13 <sup>NS</sup>	0.39 <sup>NS</sup>	0.28 <sup>NS</sup>
Valor P (G × E)	0.69 <sup>NS</sup>		0.17 <sup>NS</sup>		0.39 <sup>NS</sup>		0.30 <sup>NS</sup>	
Cepa 899								
A774	265	34	437	444	3.4	1.2	4.1	1.7
IBC 301-204	132	42	405	408	2.7	1.2	3.2	1.7
IBC 302-29	250	29	566	423	3.6	1.0	4.4	1.4
IBC 309-23	151	30	367	375	3.1	1.4	3.6	1.8
MDSX 14797-6-1	229	29	463	401	3.1	1.4	3.9	1.9
PR 0340-3-3-1	138	29	426	373	2.9	1.2	3.4	1.6
RAB 651	286	43	583	460	3.6	1.2	4.5	1.7
RBF 19-63	197	109	574	366	2.9	1.4	3.7	1.9
SX 14825-7-1	181	46	467	406	3.6	1.5	4.0	1.9
TLP 19	196	146	497	388	2.9	1.1	3.6	1.6
AMADEUS 77	227	29	459	336	3.0	1.2	3.7	1.6
SEDA	175	74	650	409	2.9	1.0	3.7	1.5
Prob. (G)	0.93 <sup>NS</sup>	0.71 <sup>NS</sup>	0.07 <sup>NS</sup>	0.70 <sup>NS</sup>	0.47 <sup>NS</sup>	0.35 <sup>NS</sup>	0.48 <sup>NS</sup>	0.55 <sup>NS</sup>
Prob. (G × E)	0.82 <sup>NS</sup>		0.27 <sup>NS</sup>		0.46 <sup>NS</sup>		0.40 <sup>NS</sup>	
Sin Inoculación								
A774	145	96	538	593	2.8 <sup>bc</sup>	1.4	3.5	2.1
IBC 301-204	131	25	442	324	3.2 <sup>abc</sup>	0.9	3.7	1.2
IBC 302-29	206	33	571	350	3.6 <sup>a</sup>	1.3	4.4	1.7
IBC 309-23	141	28	405	453	3.1 <sup>abc</sup>	1.4	3.6	1.8
MDSX 14797-6-1	632	90	345	460	2.5 <sup>c</sup>	1.3	3.5	1.9
PR 0340-3-3-1	81	24	509	406	2.5 <sup>c</sup>	1.5	3.1	1.9
RAB 651	149	47	543	559	3.7 <sup>a</sup>	1.3	4.4	1.9
RBF 19-63	187	42	454	361	3.1 <sup>abc</sup>	1.4	3.7	1.8
SX 14825-7-1	135	41	456	473	3.9 <sup>a</sup>	1.6	4.4	2.1
TLP 19	244	159	574	289	3.5 <sup>ab</sup>	1.1	4.4	1.6
AMADEUS 77	142	37	455	344	3.3 <sup>abc</sup>	1.4	3.9	1.8
SEDA	547	39	574	395	3.7 <sup>ab</sup>	1.2	4.8	1.6
Prob. (G)	0.19 <sup>NS</sup>	0.66 <sup>NS</sup>	0.30 <sup>NS</sup>	0.25 <sup>NS</sup>	0.01**	0.16 <sup>NS</sup>	0.06 <sup>NS</sup>	0.82 <sup>NS</sup>
Prob. G × E	0.28 <sup>NS</sup>		0.20 <sup>NS</sup>		0.00*		0.02*	

<sup>NS</sup>, \*, \*\* no significativo, significativo (P≤0.05) y altamente significativo (P<0.01),

respectivamente; SE<sup>ψ</sup> = sin estrés CE<sup>φ</sup> = con estrés, PSN= peso seco de nódulos, PSR= peso seco de raíces, PST= peso seco total.

Cuadro 5. Valores promedios de características de raíces y valores de probabilidad (P) de los ANDEVA de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero, en tres ensayos con *Rhizobium*. Zamorano, Honduras.

Genotipo	Longitud (m)		Área (m <sup>2</sup> )		Diámetro (mm)		Volumen (cm <sup>3</sup> )	
	SE <sup>ψ</sup>	CE <sup>φ</sup>	SE	CE	SE	CE	SE	CE
Cepa 632								
A774	57	58	23	22	6.9	6.7	68.0	68.0
IBC 301-204	83	38	30	15	5.5	4.8	90.0	49.0
IBC 302-29	166	47	59	19	4.3	5.6	172.0	58.0
IBC 309-23	43	40	18	16	4.2	4.7	51.0	50.0
MDSX 14797-6-1	169	39	60	15	3.1	5.1	171.0	49.0
PR 0340-3-3-1	51	42	18	17	3.6	5.1	52.0	56.0
RAB 651	64	46	23	19	4.4	5.4	72.0	64.0
RBF 19-63	57	39	20	14	4.9	4.0	58.0	43.9
SX 14825-7-1	50	47	20	17	4.9	4.5	64.0	50.0
TLP 19	58	42	21	17	5.0	5.3	60.0	54.0
AMADEUS 77	41	42	16	13	3.9	4.7	40.0	43.0
SEDA	68	45	26	17	4.9	4.6	57.0	47.0
Valor P ( G)	0.51 <sup>NS</sup>	0.33 <sup>NS</sup>	0.52 <sup>NS</sup>	0.29 <sup>NS</sup>	0.51 <sup>NS</sup>	0.40 <sup>NS</sup>	0.54 <sup>NS</sup>	0.34 <sup>NS</sup>
Valor P (G×E)	0.48 <sup>NS</sup>		0.53 <sup>NS</sup>		0.14 <sup>NS</sup>		0.35 <sup>NS</sup>	
Cepa 899								
A774	48	35	18	15	5.0	4.3	54.0	51.6
IBC 301-204	43	40	16	15	6.2	4.6	40.9	47.3
IBC 302-29	62	39	24	16	6.2	5.2	69.9	52.6
IBC 309-23	78	37	28	14	7.4	4.2	81.6	44.2
MDSX 14797-6-1	52	36	19	15	4.9	4.8	55.6	48.9
PR 0340-3-3-1	47	35	18	14	4.5	4.3	54.5	47.9
RAB 651	60	35	24	14	6.3	4.2	75.2	46.5
RBF 19-63	62	41	22	15	6.4	4.5	61.8	42.4
SX 14825-7-1	53	39	20	15	5.4	4.2	61.7	44.8
TLP 19	55	39	21	16	9.9	5.1	67.8	51.8
AMADEUS 77	40	36	16	13	4.8	3.8	50.0	42.0
SEDA	68	39	26	16	7.0	5.6	81.3	56.0
Valor P ( G)	0.48 <sup>NS</sup>	0.73 <sup>NS</sup>	0.46 <sup>NS</sup>	0.86 <sup>NS</sup>	0.65 <sup>NS</sup>	0.33 <sup>NS</sup>	0.29 <sup>NS</sup>	0.76 <sup>NS</sup>
Valor P ( G×E)	0.71 <sup>NS</sup>		0.26 <sup>NS</sup>		0.86 <sup>NS</sup>		0.51 <sup>NS</sup>	
Sin Inoculación								
A774	59 <sup>b</sup>	40	22 <sup>ab</sup>	15	6.2	4.5	68.0	47.0
IBC 301-204	55 <sup>bc</sup>	44	21 <sup>ab</sup>	17	5.3	4.8	69.0	51.0
IBC 302-29	60 <sup>ab</sup>	41	22 <sup>ab</sup>	16	5.6	4.9	68.0	49.0
IBC 309-23	41 <sup>cd</sup>	44	15 <sup>bc</sup>	16	4.3	4.5	48.0	52.0
MDSX 14797-6-1	36 <sup>d</sup>	44	12 <sup>c</sup>	16	3.6	5.0	34.0	50.0
PR 0340-3-3-1	48 <sup>bcd</sup>	41	17 <sup>bc</sup>	16	4.6	5.1	45.0	47.0
RAB 651	56 <sup>bc</sup>	46	21 <sup>ab</sup>	16	5.9	4.9	62.0	47.0
RBF 19-63	48 <sup>bcd</sup>	42	18 <sup>bc</sup>	16	4.9	4.9	54.0	51.0
SX 14825-7-1	53 <sup>bcd</sup>	42	19 <sup>bc</sup>	16	4.8	4.2	54.0	47.0
TLP 19	54 <sup>bc</sup>	36	23 <sup>ab</sup>	14	7.0	3.9	92.0	45.0
AMADEUS 77	48 <sup>bcd</sup>	33	17 <sup>bc</sup>	14	4.9	3.9	51.0	41.0
SEDA	77 <sup>a</sup>	52	26 <sup>a</sup>	20	6.3	5.5	73.0	62.0
Valor P ( G)	0.01*	0.55 <sup>NS</sup>	0.03*	0.83 <sup>NS</sup>	0.09 <sup>NS</sup>	0.78 <sup>NS</sup>	0.08 <sup>NS</sup>	0.92 <sup>NS</sup>
Valor P ( G×E)	0.19 *		0.26*		0.14 <sup>NS</sup>		0.48 <sup>NS</sup>	

NS, \*, \*\* no significativo, significativo ( P≤0.05) y altamente significativo (P<0.01), respectivamente; SE<sup>ψ</sup> = sin estrés y CE<sup>φ</sup>= con estrés.

Cuadro 6. Valores promedios del número y peso seco de granos y valores de probabilidad (P) de los ANDEVA de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero, en tres ensayos con *Rhizobium*. Zamorano, Honduras.

Genotipo	Cepa 632				Cepa 899				Sin Inoculación			
	Número (granos/planta)		Peso de grano (g/planta)		Número (granos/planta)		Peso de grano (g/planta)		Número (granos/planta)		Peso de grano (g/planta)	
	SE <sup>ψ</sup>	CE <sup>φ</sup>	CE	SE	SE	CE	SE	CE	SE	CE	SE	CE
A774	17	1	3.9	0.1	11	2	4.1	0.3	14	2	3.8	0.4
IBC 301-204	18	3	3.7	0.6	13	2	2.6	0.3	13	3	3.3	0.3
IBC 302-29	18	2	3.9	0.3	15	2	3.8	0.4	16	3	3.7	0.4
IBC 309-23	15	3	3.5	0.7	18	3	3.9	0.4	18	3	3.9	0.5
MDSX 14797-6-1	15	2	3.6	0.4	15	1	3.8	0.3	16	2	3.8	0.3
PR 0340-3-3-1	13	4	2.7	0.6	15	3	3.2	0.4	18	3	3.5	0.5
RAB 651	14	2	3.7	0.3	12	2	3.0	0.4	14	3	3.8	0.5
RBF 19-63	13	3	2.9	0.5	15	2	3.0	0.2	15	2	3.2	0.3
SX 14825-7-1	12	3	3.2	0.6	14	3	3.6	0.4	11	3	3.5	0.6
TLP 19	19	1	3.4	0.1	16	2	3.1	0.2	18	2	3.8	0.2
AMADEUS 77	16	2	3.6	0.7	18	3	4.1	0.3	18	3	4.0	0.4
SEDA	13	2	2.5	0.2	14	2	3.4	0.2	11	2	2.9	0.3
Valor P ( G )	0.08 <sup>NS</sup>	0.10 <sup>NS</sup>	0.15 <sup>NS</sup>	0.09 <sup>NS</sup>	0.70 <sup>NS</sup>	0.37 <sup>NS</sup>	0.09 <sup>NS</sup>	0.48 <sup>NS</sup>	0.02*	0.27 <sup>NS</sup>	0.91 <sup>NS</sup>	0.11 <sup>NS</sup>
Valor P ( G × E )	0.01**		0.03*		0.15 <sup>NS</sup>		0.09 <sup>NS</sup>		0.02*		0.94 <sup>NS</sup>	

<sup>NS</sup>, \*, \*\* no significativo, significativo ( P≤0.05), y altamente significativo (P<0.01), respectivamente; SE<sup>ψ</sup> = sin estrés y CE<sup>φ</sup>= con estrés.

Cuadro 7. Valores promedios de la nodulación (escala 1 a 9) y valores de probabilidad (P) de los ANDEVA de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero, en tres ensayos con *Rhizobium*. Zamorano, Honduras.

Genotipos	Cepa 632		Cepa 899		Sin Inoculación	
	SE <sup>ψ</sup>	CE <sup>φ</sup>	SE	CE	SE	CE
A774	8.0 ab	2.5	7.8 ab	1.5 c	6.2	2.3
IBC 301-204	6.7 abc	2.8	6.3 c	2.0 bc	7.0	2.0
IBC 302-29	7.8 abc	3.3	7.5 ab	1.8 bc	7.5	2.8
IBC 309-23	7.5 abc	2.3	6.5 c	1.8 bc	7.0	2.3
MDSX 14797-6-1	7.3 abcd	1.8	6.3 c	3.8 a	6.0	2.8
PR 0340-3-3-1	6.3 ad	2.3	7.3 abc	1.8 bc	6.5	2.3
RAB 651	8.0 ab	4.0	7.0 abc	2.8 ab	7.3	2.3
RBF 19-63	5.7 d	2.3	7.2 abc	2.5 ab	7.8	3.3
SX 14825-7-1	5.8 d	3.0	6.8 bc	1.8 bc	6.8	2.0
TLP 19	8.8 a	2.8	7.8 ab	1.8 bc	8.3	2.3
AMADEUS 77	7.0 bcd	2.3	7.5 ab	1.8 bc	7.5	2.5
SEDA	7.8 abc	2.8	8.0 a	2.3 bc	7.0	2.0
Valor P ( G)	0.01*	0.09 <sup>NS</sup>	0.04*	0.01*	0.68 <sup>NS</sup>	0.58 <sup>NS</sup>
Valor ( G × E)	0.07**		0.00**		0.79**	

<sup>NS</sup>, \*, \*\*, no significativo, significativo (  $P \leq 0.05$ ) y altamente significativo ( $P < 0.01$ ), respectivamente; SE<sup>ψ</sup> = sin estrés y CE<sup>φ</sup> = con estrés.

Según Rosas *et al.* (1985), las condiciones óptimas para evaluar cepas de *Rhizobium* se dan en suelos con bajo nitrógeno y baja población de cepas nativas. El suelo utilizado en los ensayos no se esterilizó a fin de obtener las condiciones típicas en el campo, y por ello se presentó nodulación con cepas nativas de *Rhizobium* en el ensayo sin inoculación, con valores promedios en peso de nódulos similares a los de CIAT 632 y CIAT 899. Sin embargo, estos nódulos presentaron características inferiores en tamaño (muy pequeños y numerosos), coloración (blanquizca o verdosa) ubicados mayormente en raíces laterales profundas, que caracteriza a las infecciones causadas por cepas inefectivas comúnmente relacionadas a cepas nativas, lo cual sugiere que las interacciones más efectivas de los genotipos fueron con las cepas CIAT 632 y 899 usadas como inóculo en el estudio (Anexo 3). Sin embargo, la variedad criolla Seda tuvo los mejores resultados en el ensayo sin inóculo, probablemente debido a una interacción más efectiva con el *Rhizobium* de los suelos comunes en Honduras.

Franco *et al.* (2002) probó las mismas cepas con diferentes genotipos de origen andino y mesoamericano; los genotipos mostraron diferencias entre ellos en la cantidad de nódulos producidos. Raposeiras *et al.* (2006) encontraron que la cepa CIAT 899 es más competitiva y eficiente que CIAT 632; esto podría ser la razón por la que se encontró diferencia entre los genotipos inoculados con esta cepa. Por otro lado, se presentaron algunas interacciones genotipo × cepa indicando mayor especificidad en estos casos (Cuadro 7).

Los coeficientes de correlación indicaron relaciones significativas entre la nodulación, el crecimiento (peso seco), y el rendimiento (peso y número de grano) de las plantas; asimismo coeficientes significativos entre peso de las plantas y el rendimiento de grano (Cuadro 8). Estos resultados sugieren que bajo las condiciones de baja fertilidad (contenido de N y P) del experimento, la nodulación y el mayor crecimiento de las plantas pueden contribuir a mejorar los rendimientos mediante la selección y mejoramiento de estas características. Por otro lado, los efectos del estrés hídrico son bastantes severos en la nodulación y su disminución reducirá la contribución de la fijación de nitrógeno a la adaptación a suelos de baja fertilidad. La identificación de características que contribuyen a la tolerancia de los genotipos de frijol a estos estreses; y la recombinación de estas características para desarrollar variedades más tolerantes a múltiples estreses mediante mejoramiento y selección es una alternativa deseable pero difícil que requiere un gran esfuerzo y los recursos necesarios.

Cuadro 8. Coeficientes de correlación de Pearson de la nodulación (1-9), peso seco aéreo (follaje) y total, y número y peso seco de granos de 12 genotipos de frijol crecidos bajo condiciones de estrés hídrico en invernadero, en tres ensayos con *Rhizobium*. Zamorano, Honduras.

Variables	Nodulación (1-9)	N°G	PSA	PSG
CEPA 632				
N°G	0.87**			
PSA	0.77**	0.84**		
PSG	0.86**	0.96**	0.83**	
PST	0.77**	0.81**	0.98**	0.80**
CEPA 899				
N°G	0.85**			
PSA	0.84**	0.82**		
PSG	0.86**	0.94**	0.84**	
PST	0.84**	0.82**	0.99**	0.83**
Sin Inoculación				
N°G	0.83**			
PSA	0.80**	0.77**		
PSG	0.83**	0.95**	0.79**	
PST	0.78**	0.74**	0.98**	0.78**

NG= número de granos, PSA= peso seco aéreo (follaje), PST= peso seco total de la planta, PSG= Peso seco de grano.

## 4. CONCLUSIONES

- Bajo condiciones adecuadas de humedad se presentó una respuesta favorable de los genotipos a la inoculación con *Rhizobium*; sin embargo, la nodulación fue afectada por el estrés hídrico, pero algunos genotipos se comportaron mejor que otros en estas condiciones de estrés.
- La nodulación influyó en el crecimiento y rendimiento de grano, siendo su efecto significativo cuando no hubo estrés hídrico.
- Algunas interacciones cepa de *Rhizobium*- genotipo de frijol presentaron valores más altos de nodulación, pesos secos y rendimiento de granos.
- La escala de evaluación visual de la nodulación (1 a 9) fue más efectiva en determinar diferencias que la determinación del peso seco de los nódulos.

## 5. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios complementarios que permitan seleccionar los genotipos más eficientes en su respuesta a la inoculación con *Rhizobium* y la contribución de la fijación de nitrógeno en el crecimiento y rendimiento del cultivo bajo condiciones óptimas y de estrés de sequía.
- Conducir ensayos de campo con los genotipos superiores bajo estrés de sequía y baja fertilidad (N y P) e inoculación con *Rhizobium*, para confirmar el valor de los genotipos como cultivares o progenitores.
- Implementar el uso de la escala visual en ensayos con numerosas evaluaciones, como las evaluaciones de líneas de mejoramiento o en ensayos en finca dónde el procesamiento de las muestras puede resultar ser tedioso, ineficiente y poco práctico.

## 6. LITERATURA CITADA

Elkan, G.1982. Taxonomy and metabolism of *Rhizobium*. Biological Nitrogen Fixation Ecology, Technology, and Physiology. Cornell University, New York. Plenum press 12-15.

Franco, M.C; Alves, S.T; Rodriguez, V; Vieira, C; Tsai S. 2002. Nodulation in Andean and Mesoamerican cultivars of dry bean. Brasília. Embrapa Informação Tecnológica.Pesquisa Agropecuária Brasileira. (37)1146-1150.

Goodman, R; Brintrim, SB; Handelsman, J; Quirino, BF; Rosas, JC; Simon, HM; Smith, KP.1997. Soil Microflora and Rhizosphere Microbiology. Madison, Wisconsin USA. Department of Plant Pathology, University of Wisconsin. 219-231.

Halliday, J; Somasegaran P. 1982. Nodulation, fixation, and Rhizobium Strain affinities in the genus *Leucaena*, Asian-pacific. Internationale Development Research Center. 27-32.

Miklas, NP; Kelly, JD; Beebe, SE; Matthew WB. 2006. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical to MAS breeding. Michigan U.S.A. Crop and Soil Sciences, Michigan State University. Elsevier Science BV. 25 p.

Raposeiras, R; Evódio, Ivanilo; Scotti Muzzi, Paiva, E; Pereira, I; Costa, L; Vinícius, R. 2006. Rhizobium strains competitiveness on vean nodulation in Cerrado Soil. Brasília. Embrapa Informação Tecnológica.Pesquisa Agropecuária Brasileira. 41(3) 439-447

Rosas, JC; Bliss, F. 1985. Mejoramiento de la capacidad de fijación de nitrógeno en frijol común. 14(1) 95-104.

Rosas, JC; Bliss, F. 1985. Principios y Prácticas Para la conducción de ensayos sobre fijación biológica de nitrógeno en condiciones de campo. 14(1) 23-58.

Rosas, JC; Bliss, FA. 1986. Host plant traits associated with estimates of nodulation and nitrógeno fixation in common bean. Hort Science 21, 287-289.

Rosas, JC; Castro, JA; Robleto, EA; Handelsman, J. 1998. A method for screening *Phaseolus vulgaris* L. germplasm for preferential nodulation with a selected *Rhizobium etli* strain. Plant and Soil 203: 1-7.



Rosas, JC; Castro, JA; Flores, E. 2000. Mejoramiento Genético del Frijol Rojo y Negro Mesoamericano para Centroamérica y El Caribe. *Agronomía Mesoamericana* 11(2): 37-46.

Rosas, JC; Gallardo, O; Jiménez, J. 2003. Mejoramiento del Frijol Común Mediante Enfoques Participativos en Honduras. *Agronomía Mesoamericana* 14(1): 1-9.

Utrup, L. y Hanks, J. 1996. Nodulin gene expression in effective root nodules of white sweet clover (*Melilotus alba* Desr.) and in ineffective nodules elicited by mutant strains of *Rhizobium meliloti*. Botany Department, Rhode Island, Kingston, US . *Journal of Experimental Botany*. Oxford University. 8 p.

Ureta, A y Nordlund S. 2002. Evidence for Conformational Protection of Nitrogenase against Oxygen in *Gluconacetobacter diazotrophicus* by a Putative FeSII Protein. Department of biochemistry and biophysics, University, Stockholm, Sweden. *American Society for Microbiology*. Vol.184, No. 20.

Vargas Palacios A. 2008. Selección de genotipos de frijol común tolerantes a bajo contenido de nitrógeno en el suelo. Tesis Ing Agr. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 17 p.

Wynne, JC; Bliss, FA; Rosas, JC. 1987. Principal and Practice of Field Designs to Evaluate Symbiotic Nitrogen Fixation. In: G. Elkan (ed.), *Symbiotic Nitrogen Fixation Technology*. Marcel Dekker Inc., New York. 371-388.

## 7. ANEXOS

### Anexo 1. Análisis del sustrato suelo: arena (1:2) utilizado en los cilindros de suelo

pH (H <sub>2</sub> O)	%					Mg/kg					
	MO	N total	P	K	Ca	Mg	Na	Cu	Fe	Mn	Zn
<b>6.11</b>	0.75	0.4	10	266	1040	140	180	2.2	119	80	1.1
		bajo	Bajo	Alto	medio	medio	Normal	medio	alto	bajo	bajo

### Anexo 2. Prueba de gota

Prueba de gota para estimar la concentración de rizobios en el inóculo.

Para la prueba de gota, se usan platos Petri con medio ALM (agar-levadura-manitol) + Rojo Congo refrigerado por tres días y secados dos horas antes. Se divide cada plato en ocho secciones iguales en el fondo externo rotulado con la dilución a usarse (dos repeticiones por dilución) para un total de cuatro diluciones por plato. Se procede de la siguiente manera:

Se diluye 1.0 g de inoculante en 9 ml de agua destilada estéril para obtener la dilución de 1/10; y continuar las diluciones hasta lograr la dilución 1/10<sup>8</sup>.

Se siembra cada dilución en los platos Petri con pipetas Pasteur cortas y estériles.

Se deja reposar el plato hasta que el medio absorba el líquido y se procede a sellarlos, invertirlos e incubarlos a 30 °C × 24 horas.

Se cuentan las colonias de bacterias cuando se observa su crecimiento.

Considerando que una pipeta Pasteur tiene capacidad para 1.0 ml de agua y que su punta más fina permite la salida de 0.03 ml de agua por gota, se determina la cantidad de *Rhizobium* en el inoculante empleado utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Cantidad de células / ml} = \frac{\text{Tamaño de pipeta (ml)} \times \text{No. colonias} \times \text{Factor dilución}}{\text{Tamaño de gota (ml)}}$$

Anexo 3. Fotografías



**Fotografía 1. Ubicación de los nódulos en las raíces de frijol inoculado con CIAT 632.**



**Fotografía 2. Ubicación de los nódulos en las raíces de frijol inoculado con CIAT 899.**



**Fotografía 3. Ubicación de los nódulos en las raíces de frijol sin inóculo.**