

**Evaluación de la nodulación y rendimiento
de líneas mejoradas de frijol común en
condiciones de bajo contenido de materia
orgánica y nitrógeno total**

Edhinson Alexander Espinoza Espinoza

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2016

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Evaluación de la nodulación y rendimiento de líneas mejoradas de frijol común en condiciones de bajo contenido de materia orgánica y nitrógeno total

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el grado Académico de Licenciatura

Presentado por:

Edhinson Alexander Espinoza Espinoza

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2016

Evaluación de la nodulación y rendimiento de líneas mejoradas de frijol común en condiciones de bajo contenido de materia orgánica y nitrógeno total

Edhinson Alexander Espinoza Espinoza

Resumen. El grano del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las principales fuentes de proteína en la dieta básica en Centro América. El cultivo es manejado por pequeños agricultores en suelos de baja fertilidad, por lo que sus rendimientos son bajos. El objetivo fue evaluar la capacidad de nodulación y el rendimiento de 10 líneas de frijol, incluyendo los testigos Amadeus 77 y el no nodulador R99, en condiciones de baja fertilidad. Un ensayo se condujo en un suelo de bajo contenido de materia orgánica (0.85%) y N total (0.04%) con dos tratamientos, con y sin fertilización. En campo se evaluaron días a floración (DF), rendimiento y peso seco de cien semillas (PSCS). Un segundo ensayo se condujo en camas con un sustrato suelo: arena (1:1) de baja fertilidad (1.18% MO y 0.04% N total), en un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Las semillas se inocularon con un inoculante mixto de cepas *Rhizobium* (CIAT 632 de *R. etli* y CIAT 899 de *R. tropici*). En el ensayo en bancales se evaluaron DF, nodulación (escala 1-9) y peso seco de follaje (PSF) a la floración. En campo, las líneas que presentaron mayor rendimiento con fertilización fueron FBN 1205-28 (2689 kg/ha) y FBN 1211-66 (2538 kg/ha); y sin fertilización, FBN 1202-75 (886 kg/ha) y FBN 1211-66 (820 kg/ha). Hubo diferencias significativas entre las líneas en DF y PSCS, tanto con y sin fertilización. En el ensayo de bancales, las líneas con mayor nodulación fueron FBN 1205-18 (7.5) y FBN 1202-75 (6.5).

Palabras clave: Fijación biológica de nitrógeno, *Phaseolus vulgaris*, *Rhizobium*.

Abstract. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is one of the main sources of protein in the diet in Central America. The crop is conducted by small farmers in low fertility soils, and their yields are low. The objective of this research is to evaluate the capacity of nodulation and yield of 10 lines of bean, including the checks Amadeus 77 and the non-nodulation R99, under low fertility conditions. A field trial was conducted in a low organic matter (0.85%) and total N (0.04%) soil with two treatments, with and without fertilization. Days to flowering (DF), yield, 100 seeds dry weight (HSD) were determined. A second trial was conducted in raised beds using a soil: sand (1:1) substrate low in OM (1.18%) and total N total (0.04%). A randomized complete block design was used. Seeds were inoculated at planting with a mix of *Rhizobium etli* and *R. tropici*, CIAT 632 and CIAT 899 strains. In the raised beds DF, nodulation (scale 1-9) and plant dry weight (PSF) were evaluated. The lines with the highest yields with fertilization in the field were FBN 1205-28 (2689 kg/ha) y FBN 1211-66 (2538 kg/ha); and without fertilization FBN 1202-75 (886 kg/ha) and FBN 1211-66 (820 kg/ha). Significant differences among lines were observed in DF and HSW with and without fertilization. In the raised beds trial, the lines with greater nodulation were FBN 1205-18 (7.5) and FBN 1202-75 (6.5).

Keywords: Biological nitrogen fixation, *Phaseolus vulgaris*, *Rhizobium*.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de Cuadros y Anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	2
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	5
4. CONCLUSIONES	7
5. RECOMENDACIONES	8
6. LITERATURA CITADA.....	9
7. ANEXOS	11

ÍNDICE DE CUADROS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Análisis de suelo manejado con y sin fertilización del lote la Vega 4, Monte Redondo, Zamorano, Honduras, 2016.....	2
2. Líneas mejoradas de frijol y su pedigrí, evaluadas en los ensayos de campo y bancales del Programa de Investigaciones en Frijol. Zamorano, Honduras, 2016.	3
3. Análisis del sustrato suelo:arena (1:1) de las camas (bancales) de evaluación de la nodulación. Programa de Investigaciones en Frijol (PIF), Zamorano, Honduras, 2016	4
4. Rendimiento, peso seco de cien semillas (PSCS) y días a floración de líneas de frijol común, con y sin fertilización en suelos de bajo contenido de materia orgánica y nitrógeno total, La Vega 4, Zamorano, Honduras, 2016	5
5. Rendimiento en (kg/ha), peso seco de 100 semillas (PSCS) y días a floración (DF) en líneas de frijol común, con y sin fertilización. La Vega 4, Monte Redondo, Zamorano, Honduras, 2016.....	6
6. Nodulación (escala 1-9) y peso seco de follaje de 10 líneas de frijol inoculadas con <i>Rhizobium</i> , crecidas en un sustrato suelo: arena (1:1) con bajo contenido de materia orgánica y nitrógeno total. Bancales del Programa de Investigaciones en Frijol (PIF), Zamorano, Honduras, 2016.....	7
Anexos	Página
1. Escala de nodulación (1-9) usada en el Programa de Investigaciones en Frijol.....	11

1. INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es considerado uno de los alimentos esenciales en la dieta básica por su importante aporte de proteínas (Ulloa *et al.* 2011). En América Central y El Caribe es cultivado principalmente por pequeños agricultores quienes lo siembran en asocio con maíz por lo que sus rendimientos son bajos (Lardizabal *et al.* 2013). Los problemas del cultivo que afrontan los agricultores están influenciados por factores como plagas, malezas, efectos de sequía debido al cambio climático y suelos con baja fertilidad (Rosas 2013).

El incremento del consumo de frijol requiere de una mayor producción por lo tanto un aumento en la cantidad de nutrientes disponibles para la planta. La mayoría de los suelos dedicados a la producción de frijol poseen un bajo contenido de materia orgánica y nitrógeno (Rosas *et al.* 1987). Una de las alternativas y ventajas que tiene el frijol, es que es capaz de fijar nitrógeno atmosférico al suelo en simbiosis con bacterias del género *Rhizobium*. Sin embargo, el frijol es considerado un cultivo con capacidad limitada de fijar nitrógeno, por lo que es necesario desarrollar una relación simbiótica entre cepas efectivas de *Rhizobium* que nodulan y fijan nitrógeno y líneas de frijol que respondan a la simbiosis generando una mayor productividad (Rosas 2003).

La relación de acuerdo mutuo entre dos organismos para un beneficio en común es llamada simbiosis por la relación que tiene un microorganismo simbiote de vida libre en el suelo y una planta (Paredes 2013). El nitrógeno es un elemento que en su estado natural se encuentra libre en la atmosfera en forma de gas. En forma pura, este elemento no puede ser aprovechado por la mayoría de seres vivos por lo que necesita de ser transformado a compuestos nitrogenados.

La fijación biológica de nitrógeno (FBN) está influenciada por la cantidad de cepas nativas en el suelo, que puede inhibir la inoculación de la bacteria en la rizosfera, acidez y humedad del suelo, material vegetal que afecte al rizobio, concentraciones de calcio, y una sobre fertilización con abonos sintéticos nitrogenados que disminuye la efectividad de la bacteria (Rosas y Bliss 1986).

El objetivo de este proyecto fue evaluar la capacidad de nodulación y el rendimiento de líneas mejoradas de frijol común inoculadas con *Rhizobium* y seleccionadas para su uso como variedades comerciales o progenitores en programas de mejoramiento, bajo condiciones de suelos de bajo contenido de materia orgánica y nitrógeno total.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en las facilidades del Programa de Investigaciones en Frijol (PIF) de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras entre los meses de junio a septiembre del 2016. La temperatura y precipitación anual promedio en la localidad de Zamorano es de 24°C y 1200 mm respectivamente, y está ubicada a 800 msnm. Se condujeron dos ensayos, uno en campo y otro en los bancales del PIF.

Ensayo de campo. Se condujo en la Vega 4 de Monte Redondo, en un suelo con bajo contenido de materia orgánica y nitrógeno total (Cuadro 1). Las parcelas experimentales estuvieron conformadas por surcos de 5 m de largo con 0.7 m entre surcos y 0.1 m entre plantas para un total de 50 plantas por surco. En el ensayo se usaron 10 genotipos de frijol, ocho líneas mejoradas y dos testigos (la línea comercial Amadeus 77 y la línea no-noduladora R99), (Cuadro 2). Las líneas mejoradas provienen del segundo ciclo de selección recurrente para mejorar la nodulación y fijación biológica de nitrógeno en el frijol común.

Se establecieron dos tratamientos: con fertilización (130 kg/ha de 18-46-0 a la siembra y 65 kg/ha de urea a los 25 días después de siembra) y sin fertilización. Se utilizó un arreglo factorial de parcelas divididas, fertilización en parcelas y genotipos en sub-parcelas, distribuidos en bloques completos al azar (BCA) con cuatro repeticiones.

Cuadro 1. Análisis de suelos manejado con y sin fertilización en el lote La Vega 4, Monte Redondo, Zamorano, Honduras, 2016.

Muestra	pH	M.O.	N total	P	K	Ca	Mg	Na
		%		mg/kg				
Con fert.	5.8	0.84	0.04	25	333	1452	169	ND
Sin fert.	6.0	0.90	0.04	13	315	1502	164	ND
Rango		bajo	bajo	medio	alto	alto	bajo	medio

pH (relación suelo: agua 1:1); M.O. (Walkey y Black); P (solución extractora Mehlich 3); K, Ca, Mg, Na (solución extractora Mehlich 3 determinados por espectrofotometría de absorción atómica). Laboratorio de suelos, Zamorano, Honduras.

Cuadro 2. Líneas mejoradas de frijol y su pedigrí evaluadas en los ensayos de campo y bancales del programa PIF, Zamorano, Honduras, 2016.

Línea	Pedigrí
FBN 1205-28	IBC 306-34/BRT 944-39
FBN 1211-102	RS 951-84/IBC 306-62
FBN 1211-66	RS 951-84/IBC 306-62
FBN 1202-75	SRS 2-34-90/BRT 944-13
FBN 1202-72	SRS 2-34-90/BRT 944-13
FBN 1205-18	IBC 306-34/BRT 944-39
FBN 1203-43	IBC 301-91/BRT 941-22
FBN 1206-54	RS 813-28/SRS 2-34-89
R99	(Testigo no-nodulador)
Amadeus 77	(Testigo mejorado)

Las variables que se determinaron fueron en la etapa fisiológica (R6) y en la etapa fisiológica (R9).

Muestreo a floración (R6): Se registró los días a floración (50% del total de plantas presentan por lo menos una flor abierta) de las líneas evaluadas.

Muestreo a la madurez de cosecha (R9): Se cosecharon todas las plantas de cada parcela, dejando los extremos (efecto de borde) para estimar el rendimiento expresado en kg/ha, ajustado al 14% de humedad utilizando una densidad de 142,857 plantas/ha. Así mismo, se determinó el peso seco de 100 semillas.

Ensayo en camas de evaluación o bancales. Las camas o bancales del PIF contienen un sustrato suelo: arena (1:1) con bajo contenido de materia orgánica y nitrógeno total (Cuadro 3). Este medio permite un manejo más adecuado para la evaluación de la nodulación, ya que es posible extraer completamente las raíces y nódulos comparado con las condiciones de campo. Las unidades experimentales fueron surcos de 1.5 m de largo separados a 0.5 m entre surcos y 0.1 m entre plantas, para un total de 15 plantas por surco.

En el ensayo se incluyeron las mismas ocho líneas mejoradas de frijol y los dos testigos usados en el ensayo de campo (Cuadro 2). Previo a la siembra, la semilla fue inoculada con una mezcla de las cepas CIAT 632 *Rhizobium etli* y CIAT 899 *Rhizobium tropici* preparado en el laboratorio del PIF. Los tratamientos fueron distribuidos en un diseño BCA con cuatro repeticiones.

Cuadro 3. Análisis del sustrato suelo: arena (1:1) de las camas (bancales) de evaluación de la nodulación. Zamorano, Honduras, 2016.

Muestra	pH	M.O.	N total	P	K	Ca	Mg	Na
		%		mg/kg				
Bancales	6.52	1.18	0.04	52	180	1283	135	19
Rango		bajo	bajo	alto	alto	alto	bajo	normal

pH (relación suelo: agua 1:1); M.O. (Walkley y Black); P (solución extractora Mehlich 3); K, Ca, Mg, Na (solución extractora Mehlich 3 determinados por espectrofotometría de absorción atómica). Laboratorio de suelos, Zamorano, Honduras.

Se evaluó la variable floración en la etapa fisiológica (R6).

Muestreo a floración (R6).

Se cosecharon cinco plantas por surco haciendo un corte al ras del suelo usando una tijera de poda. Se separó la parte aérea (biomasa) de las raíces de la planta. La biomasa se colocó en bolsas de papel etiquetadas con el número de su respectivo tratamiento y se dejaron en un invernadero para su posterior secado en horno a 70°C durante 48 horas. Luego se determinó el peso seco del follaje. Las raíces se lavaron con agua y detergente, se colocaron en bolsas plásticas etiquetadas con su respectivo tratamiento y fueron almacenadas a 4°C. Se evaluó la nodulación de las raíces en forma visual usando una escala 1-9 (1= 0-10 nódulos pequeños, 9 = >40 nódulos grandes) (Rosas 2015).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo de campo. Se presentaron diferencias significativas en los tratamientos de fertilización (F) para el rendimiento y el peso seco de 100 semillas (PSCS); entre las líneas (L) para el rendimiento, PSCS y días a floración (DF); y en la interacción F x L solamente para DF (Cuadro 4). El rendimiento promedio bajo el tratamiento con fertilización fue de 2265 kg/ha y sin fertilización fue de 681 kg/ha, debido a la adición de fertilizante conteniendo N y P.

Cuadro 4. Rendimiento, peso seco de cien semillas (PSCS) y días a floración de líneas de frijol común, con y sin fertilización en suelos de bajo contenido de materia orgánica y nitrógeno total, La Vega 4, Zamorano, Honduras, 2016.

Factor	Rendimiento (kg/ha)	PSCS (g)	Floración (días)
Fertilización			
Con fertilización	2265	24.7	37.6
Sin fertilización	681	22.0	37.8
Valor P	0.00**	0.04**	0.10ns
Líneas	1473	23.4	37.7
Valor P	0.00**	0.00**	0.00*
Interacción F x L	1473	23.4**	37.7
Valor P	0.21ns	0.67ns	0.00**

* Diferencias significativas ($P \leq 0.05$); ** Altamente significativo ($P \leq 0.01$)

En el ensayo de campo la línea que presentó el mayor rendimiento con fertilización fue FBN 1205-28 (2689 kg/ha); y sin fertilización, la línea FBN 1202-75 (886 kg/ha) (Cuadro 5). Hubo diferencia significativa entre genotipos con fertilización y diferencia altamente significativa para genotipos sin fertilización. Las diferencias en rendimiento de las líneas FBN y el testigo Amadeus 77 sin fertilización fueron significativas con respecto a la línea no-noduladora, debido a que las mencionadas líneas poseen buena capacidad para nodular en el campo y tuvieron la ventaja de utilizar nitrógeno proveniente de la fijación.

Aunque se presentaron diferencias en el PSCS y en DF en ambas condiciones de fertilización, estas mayormente se debieron a las diferencias genéticas entre las líneas para estos caracteres.

Cuadro 5. Rendimiento (kg/ha), peso seco de cien semillas (PSCS) y días a floración (DF) de líneas de frijol común en suelos de bajo contenido de materia orgánica y nitrógeno total con y sin fertilización. La Vega 4, Zamorano, Honduras, 2016.

Línea	Rendimiento (kg/ha)		PSCS (g)		DF (días)	
	con	sin	con	sin	con	sin
FBN 1205-28	2689	675	26.3	21.2	35.8	37.8
Amadeus 77	2618	711	25.6	23.6	37.0	38.0
FBN 1211-66	2538	820	22.8	21.0	36.5	36.3
FBN 1205-18	2385	687	28.1	25.9	38.3	37.0
FBN 1211-102	2311	642	23.0	21.4	38.0	38.0
FBN 1203-43	2292	658	25.1	21.9	38.3	38.0
FBN 1202-75	2272	886	27.9	24.1	37.0	37.0
FBN 1202-72	2172	714	26.3	23.6	38.0	39.0
FBN 1206-54	1883	704	27.5	23.1	38.8	38.0
R99	1491	309	15.1	14.1	39.0	39.0
Promedio	2265	680	24.7	22.0	37.7	37.8
Coefficiente variación	19.6	24.8	8.9	9.7	2.0	2.0
DMS (0.05)	313*	119**	1.6**	1.5**	0.5**	0.5**

*Diferencias significativas ($P \leq 0.05$); ** Altamente significativo ($P \leq 0.01$)

Como era de esperarse, el rendimiento de grano estuvo directamente correlacionado con la fertilización ($r=0.64^{**}$). en kg/ha estuvo correlacionado para cada uno de los tratamientos con y sin fertilización ($r=0.06$), lo cual indica que las líneas FBN 1202-75, FBN 1206-64, FBN 1211-66 presentaron un comportamiento similar bajo los dos tratamientos.

Ensayo en bancales. En el ensayo en bancales o camas con sustrato suelo: arena de bajo contenido de materia orgánica y N y con inoculación de *Rhizobium*, las líneas que presentaron la mayor nodulación fueron FBN 1205-18, FBN 1202-75 y FBN1203-43, con respecto a las otras línea FBN y los testigos Amadeus 77 y R99 no-nod (Cuadro 7). Se puede observar que las líneas con mayor nodulación son las que presentaron el mayor peso seco de follaje, sobre todo con relación a los testigos; lo que sugieren que crecieron mejor, en el sustrato bajo en materia orgánica y nitrógeno total, al proveerse de nitrógeno proveniente de la FBN.

Los resultados en el crecimiento son inferiores a los reportados por Nuñez (2015). Las plantas del presente ensayo estuvieron sujetas a lluvias intensas y continuas que prevalecieron durante el período del estudio. El exceso de humedad redujo el crecimiento y los beneficios de la nodulación y la FBN en las plantas.

Cuadro 6. Nodulación (escala 1-9) y peso seco de follaje de 10 líneas de frijol inoculadas con *Rhizobium*, crecidas en un sustrato suelo: arena (1:1) con bajo contenido de materia orgánica y nitrógeno total. Bancales del programa PIF, Zamorano, Honduras, 2016.

Línea	Nodulación (1-9)	Peso seco follaje (g/pl)
FBN 1205-18	7.5	16.1
FBN 1202-75	6.5	16.2
FBN 1203-43	6.5	14.2
FBN 1206-54	5.5	14.4
FBN 1205-28	5.0	14.9
FBN 1202-72	5.0	15.1
FBN 1211-102	4.5	12.9
FBN 1211-66	4.3	11.1
Amadeus 77	2.0	11.8
R99	1.0	10.9
Promedio	4.8	13.7
Coeficiente de variación (%)	39.3	36.0
DMS (0.05)	1.3**	3.5*

* Diferencias significativas ($P \leq 0.05$); ** Altamente significativo ($P \leq 0.01$)

4. CONCLUSIONES

- Las líneas que presentaron mayor nodulación fueron FBN 1205-18, FBN 1202-75 y FBN 1203-43, que representan un grupo de líneas promisorias con características agronómicas y comerciales que las hacen aptas para su validación y uso como progenitores en programas de mejoramiento genético.
- Las líneas con mejor nodulación presentaron mayor crecimiento (peso de follaje) en los bancales y mayor rendimiento en el campo.
- En el campo no se apreció nodulación que indicara la presencia de una población residente de *Rhizobium*, por lo que las diferencias en rendimiento se atribuye a la fertilización.

5. RECOMENDACIONES

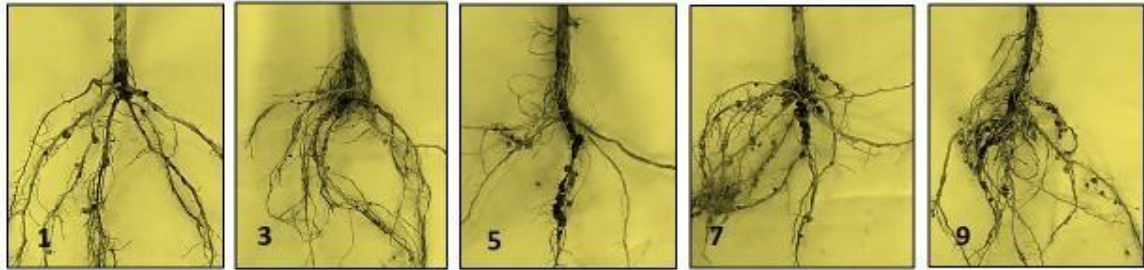
- Conducir un ensayo de campo similar al de la Vega 4 de Zamorano usando inoculación con *Rhizobium* para facilitar la formación de nódulos y los efectos en el rendimiento de las líneas y testigos.
- Evaluar las mejores líneas en ensayos en fincas de agricultores para evaluar su comportamiento y los beneficios de la inoculación con *Rhizobium*.
- Evaluar líneas promisorias mejoradas de frijol en proceso de validación con agricultores para determinar su capacidad de nodulación y adaptación a suelos bajos en materia orgánica y nitrógeno total.
- Evaluar las mejores líneas del estudio con otras cepas de *Rhizobium* disponibles.
- Conducir ensayos en suelos con bajo contenido de materia orgánica nitrógeno total para tener una mayor eficiencia de *Rhizobium*

6. LITERATURA CITADA

- Lardizabal R, Arias S, Segura R. 2013. Manual de producción de frijol. Honduras: FINTRAC.
- Núñez JC. 2015. Evaluación de la nodulación y rendimiento de líneas mejoradas de frijol en condiciones de bajo contenido de nitrógeno [Tesis. Ing. Agr.]. Zamorano, Honduras. 25 p.
- Paredes MC. 2013. Fijación biológica de nitrógeno en leguminosas y gramíneas [Tesis. Ing. Agr.]. Pontificia Universidad Católica Argentina, Argentina. 115 p.
- Rosas JC. 2003. El cultivo del frijol común en América Tropical. Segunda edición. Zamorano, Honduras. 62 p.
- Rosas JC. 2013. Contribuciones del Programa de Investigaciones en Frijol en Centro América y El Caribe. CEIBA 52(1):65-73. doi:10.5377/ceiba.v52i1.967.
- Rosas JC. 2015. Escala de nodulación (1-9) usada en el Programa de Investigaciones en Frijol [Ficha técnica]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.
- Rosas JC, Kipe-Nolt J, Henson RA y Bliss F. 1987. Estrategias de mejoramiento para incrementar la capacidad de fijación biológica de nitrógeno del frijol común en América Latina. CEIBA 28(1):39-57. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/3899/1/03.pdf>.
- Rosas, J. C. y Bliss, F.A. 1986. Principios y prácticas para la conducción de ensayos sobre Fijación de Nitrógeno en Condiciones de Campo. CEIBA 27(1):23-39. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/3887/1/03.pdf>.
- Ulloa JA, Rosas P, Ramírez JC, Ulloa BE. 2011. El frijol (*Phaseolus vulgaris*) su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. México: Universidad Autónoma de Nayarit. 5 p. <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-08/1.pdf>.

7. ANEXOS

Anexo 1. Escala de nodulación (1-9) usada en el Programa de Investigaciones en Frijol



Escala de nodulación (1-9): **1**= <10 nódulos, pequeños; **3**= 10-20 nódulos, pequeños-medianos; **5**= 10-20 nódulos medianos grandes; **7**= 20-40 nódulos grandes; **9**= >40 nódulos grandes (Rosas 2015).

