

**Universidad Zamorano**  
**Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria**  
**Ingeniería Agronómica**



Proyecto Especial de Graduación  
**Comparación del Efecto de Tres Inoculantes Fijadores de Nitrógeno en  
el Cultivo Frijol Común (*Phaseolus vulgaris L.*) Bajo Diferentes Niveles  
de Fertilización Nitrogenada en Zamorano, Honduras**

Estudiante

Ricardo Joziel Alcerro Núñez

Asesores

Renan Pineda Ph.D.

José Vladimir Hernández M.Sc.

Honduras, noviembre 2025

**Autoridades**

**KEITH L. ANDREWS**

Rector a. i.

**ANA M. MAIER ACOSTA**

Vicepresidenta y Decana Académica

**CELIA O. TREJO RAMOS**

Directora Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria

**JULIO NAVARRO**

Secretario General

## Contenido

|  |    |
|--|----|
| Índice de Cuadros.....                                       | 5  |
| Índice de Figuras .....                                      | 6  |
| Resumen .....  | 7  |
| Abstract.....  | 8  |
| Introducción.....  | 9  |
| Materiales y Métodos .....                                   | 12 |
| Localización del Estudio .....                               | 12 |
| Establecimiento del Experimento .....                        | 12 |
| Tratamientos.....  | 13 |
| Factor 1 Inoculante a 5 niveles .....                        | 13 |
| Factor 2 Nivel de Fertilizante Nitrogenado a 3 niveles ..... | 14 |
| Análisis Estadístico .....                                   | 15 |
| Actividades Agronómicas.....                                 | 16 |
| Preparación de Suelo .....                                   | 16 |
| Inoculación de la Semilla.....                               | 16 |
| Establecimiento del Cultivo .....                            | 16 |
| Plan de Fertilización .....                                  | 17 |
| Medición de Variables Fisiológicas .....                     | 17 |
| Altura de la Planta.....                                     | 17 |
| Conteo de Nódulos .....                                      | 18 |
| Volumen de la Raíz.....                                      | 18 |
| Diámetro de Tallo.....                                       | 18 |

|   |    |
|---|----|
| Medición de Variables de Rendimiento..... | 19 |
| Número de Vainas por Planta .....         | 19 |
| Rendimiento.....                          | 19 |
| Resultados y Discusión.....               | 21 |
| Conclusiones .....                        | 31 |
| Recomendaciones.....                      | 32 |
| Referencias.....                          | 33 |

### Índice de Cuadros

|  |    |
|--|----|
| Cuadro 1 Codificación de los tratamientos utilizados en el experimento de inoculantes a distintos niveles de fertilizante nitrogenado en frijol rojo, Zamorano, Honduras. ....   | 14 |
| Cuadro 2 Significancia para las variables fisiológicas y de rendimiento en el cultivo del frijol común (Phaseolus vulgaris L.): Conteo de nódulos 1 y 2, volumen de la raíz, altura de la planta, diámetro de la planta, número de vainas y rendimiento en respuesta a la inoculación con el inoculante de Rhizobium de la Universidad Zamorano y los inoculantes comerciales GRAP NOD AL y GRAP NOD L+ bajo 3 niveles distintos de fertilizante nitrogenado, Zamorano, Honduras. .... | 22 |
| Cuadro 3 Efecto de la interacción de inoculantes y niveles de fertilizante nitrogenado en el número de nódulos con conteos realizado a los 12 y 38 días después de la germinación en el cultivo de frijol común (Phaseolus vulgaris L.), Zamorano, Honduras.....   | 23 |
| Cuadro 4 Efecto de tres niveles de nitrógeno en el diámetro de la planta, volumen de la raíz, número de vainas y rendimiento del cultivo de frijol común (Phaseolus vulgaris L.), Zamorano, Honduras. ...  | 27 |
| Cuadro 5 Efecto de varios productos inoculantes en el volumen de raíz y rendimiento en el cultivo de frijol común (Phaseolus vulgaris L.), Zamorano, Honduras. ....  | 29 |

### Índice de Figuras

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 Diseño y distribución de las unidades experimentales y bloques para el experimento de diferentes géneros de bacterias fijadoras de nitrógeno a diferentes niveles de nitrógeno, Zamorano, Honduras..... | 14 |
|--|----|

## Resumen

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una leguminosa de gran relevancia para la seguridad alimentaria y la sostenibilidad agrícola en América Latina. Su productividad depende en gran medida de la fertilización nitrogenada, aunque el uso excesivo de insumos sintéticos genera costos elevados y efectos ambientales negativos. Como alternativa, se han desarrollado biofertilizantes a base de bacterias diazotróficas capaces de mejorar la nodulación, promover el crecimiento radicular y complementar el suministro de nitrógeno. En este contexto, el presente estudio evaluó el efecto de la inoculación con *Rhizobium etli* + *Rhizobium tropici*, *Azospirillum brasilense*, *Bradyrhizobium japonicum* y la co-inoculación de *A. brasilense* + *B. japonicum*, en interacción con tres niveles de fertilización nitrogenada (0%, 100% y 200%) sobre el cultivo de frijol común, variedad Tolupán Rojo. El experimento se desarrolló en Zamorano, Honduras, bajo un diseño de Bloques Completamente al Azar con tres repeticiones. Se evaluó el número de nódulos, volumen radicular, altura de planta, diámetro de tallo, número de vainas y rendimiento. Los resultados mostraron que la co-inoculación favoreció la formación de nódulos en ausencia de nitrógeno, mientras que *A. brasilense* individualmente incrementó los nódulos efectivos bajo deficiencia de N. Por su parte, la aplicación al 200% de nitrógeno produjo los mayores valores en volumen de raíz, diámetro de tallo, número de vainas y rendimiento, aunque sin diferencias significativas frente al 100% en diámetro de tallo y número de vainas por planta. En conclusión, la integración de inoculantes diazotróficos con un manejo racional de fertilización nitrogenada constituye una alternativa viable y efectiva para mejorar la productividad del frijol y avanzar hacia sistemas agrícolas más sostenibles.

*Palabras clave:* bacterias diazotróficas, inoculación, nitrógeno, *Phaseolus vulgaris*, sostenibilidad

### Abstract

Common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) is a legume of great importance for food security and agricultural sustainability in Latin America. Its productivity largely depends on nitrogen fertilization, though excessive use of synthetic inputs results in high costs and negative environmental effects. As an alternative, biofertilizers based on diazotrophic bacteria have been developed, capable of enhancing nodulation, promoting root growth, and complementing nitrogen supply. In this context, the present study evaluated the effect of inoculation with *Rhizobium etli* and *Rhizobium tropici*, *Azospirillum brasilense*, *Bradyrhizobium japonicum*, and the co-inoculation of *A. brasilense* + *B. japonicum*, in interaction with three levels of nitrogen fertilization (0%, 100%, and 200%), on the common bean crop, variety Tolupán. The experiment was conducted in Zamorano, Honduras, using a Completely Randomized Block Design with three replications and fifteen treatments. The evaluated parameters included the number of nodules, root volume, plant height, stem diameter, number of pods, and yield. Results showed that co-inoculation favored nodule formation in the absence of nitrogen, while *A. brasilense* individually increased effective nodules under nitrogen deficiency. On the other hand, the application of 200% nitrogen produced the highest values in root volume, stem diameter, number of pods, and yield, although without significant differences compared to 100% in stem diameter and number of pods, suggesting a response threshold. In conclusion, the integration of diazotrophic inoculants with rational nitrogen fertilization management constitutes a viable strategy to improve bean productivity and advance toward more sustainable agricultural systems.

*Keywords:* diazotrophic bacteria, inoculation, nitrogen, *Phaseolus vulgaris*, sustainability

## Introducción

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es un cultivo de alto valor en la región, siendo un alimento estratégico por su aporte de proteína vegetal, minerales y fibra. La región Latinoamericana aporta con alrededor del 50% de la producción mundial, destacando Brasil como el productor principal de la región, aportando la mitad de la producción total de la región. Sin embargo, hay un factor limitante al tratar de alcanzar altos rendimientos, este factor limitante es la disponibilidad de nitrógeno, por lo que se utilizan fertilizantes químicos para suplir sus necesidades (Reinprecht et al., 2020).

Al pertenecer a la familia de las leguminosas, el cultivo del frijol tiene la capacidad de asociarse con microorganismos capaces de fijar nitrógeno, siendo ocasionalmente utilizado como cultivo de cobertura, para la fijación de nitrógeno e incorporación de biomasa al suelo. Sin embargo, se ha demostrado que el frijol tiene una Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN) natural muy pobre. Nleya et al., (2009) determinaron que el frijol común solamente tiene una fijación de nitrógeno entre 16 kg por ha a 27 kg por ha, implicando que el proceso de FBN por sí solo no puede proveer las cantidades necesarias para una producción óptima de granos.

La capacidad que tienen las leguminosas para fijar nitrógeno atmosférico se debe a una simbiosis junto a bacterias diazotróficas. Estos microorganismos tienen la capacidad de capturar el nitrógeno atmosférico ( $N^2$ ) y fijarlo en el suelo, convirtiéndolo en amoníaco ( $NH^3$ ), y éste, a formas asimilables para las plantas (Adams et al., 2016). Esta interacción simbiótica entre bacterias diazotróficas y leguminosas ocurre ya que la rizosfera de la planta produce exudaciones (flavonoides, aminoácidos) que son esenciales para iniciar comunicación con estos microorganismos (Lindström y Mousavi, 2020). Estas interacciones desencadenan los procesos de infección y establecimiento de la bacteria, iniciando formación nodular donde ocurrirá la FNB (Quilbé et al., 2022). Es así como este tipo de inoculantes han tenido un crecimiento en el mercado agrícola, gracias a sus características de

incrementar la eficiencia en el uso de nutrientes y productividad, reduciendo costos, proteger la salud del suelo y mejorar la resiliencia de los cultivos (Nosheen et al., 2021).

Según su función existen varios tipos de bacterias diazotróficas, de los cuales dos son funcionales: simbióticas, que establecen una asociación con la planta, formando nódulos en las raíces, donde la bacteria obtiene carbohidratos de la planta y la planta obtiene nitrógeno disponible y las asociativas, que de igual forma establece una asociación con la planta, sin embargo, este tipo no produce nódulos en las raíces y puede producir fitohormonas que estimulan el crecimiento (Pankievicz et al., 2019).

Dentro de estos microorganismos, existen géneros que son dominantes con cultivos específicos al momento de realizar la simbiosis, esto se debe a que han ido coevolucionando con el cultivo. En frijol, la simbiosis más eficiente y reportada es con el género *Rhizobium*, perteneciente al tipo simbiote, por lo que es capaz de nodular las raíces y fijar nitrógeno. Incluso se ha demostrado una asociación íntima entre el cultivo de frijol y *Rhizobium etli* teniendo una presencia natural en la testa de la semilla (Perez-Ramrez et al., 1998). Sin embargo, existen estudios que indican que los nódulos leguminosos pueden albergar diversidad de bacterias, no solo exclusivas de un solo género.

Es así como surgió la importancia de investigar el efecto que múltiples géneros de estas bacterias tienen, como alternativa o complemento. Otro género que se ha consolidado como uno de los inoculantes de mayor impacto por su combinación de mecanismos múltiples, es *Azospirillum*. Sin embargo, este género pertenece al tipo de bacterias asociativas, por lo que posee otro número de propiedades que implican promoción de crecimiento y rendimiento (Fukami et al., 2018). Estas propiedades benéficas del *Azospirillum* indujeron su uso en otros tipos de cultivos, como en frijol común, donde se ha demostrado que puede aumentar nodulación, rendimiento y eficiencia en el uso de nutrientes (Fukami et al., 2018). Además, produce fitohormonas y enzimas antioxidantes que estimulan el desarrollo vegetal y pueden aportar tolerancia a sequía y salinidad.

Otro género de importancia es el *Bradyrhizobium*, que, gracias a su modo de acción, simbiótico alternativo, si puede formar nódulos, aunque con eficacia variable. Este género ha demostrado su mayor eficiencia en el cultivo de soya (*Glycine max*), sin embargo, hay estudios que han demostrado que puede aportar beneficios fisiológicos (Da Jesus et al., 2018).

Las bacterias de los géneros *Bradyrhizobium* y *Azospirillum*, particularmente *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense*, han adquirido relevancia sobre inoculantes alternativos debido a sus múltiples beneficios encontrados en sus usos. Las bacterias del género *Bradyrhizobium* tienen la capacidad para acumular polihidroxibutirato (PHB), que tiene como función tener carbono y energía disponible en situaciones de la planta bajo estrés (Quelas et al., 2016).

En cuanto al género *Azospirillum* actúa como bioestimulante del microbioma rizosférico, creando un efecto conocido como "bio-primer" aumentando la eficiencia e interacción con otras bacterias diazotróficas (Yasuda et al., 2022). El uso de fertilizante nitrogenado junto a las bacterias diazotróficas puede influenciar significativamente en su efectividad, suprimiendo la nodulación y fijación biológica de nitrógeno (FBN). Altas dosis de fertilizante nitrogenado tienden a suprimir la nodulación efectiva en un 20-40%, ya que la planta prioriza la absorción de nitrógeno mineral sobre la simbiosis (A. et al., 2012). Particularmente, el género *Bradyrhizobium* es el más afectado por el fertilizante nitrogenado, atribuyéndose a que *Bradyrhizobium* es un género que tiene una nodulación determinada, significando que los nódulos tienen un ciclo de vida fijo, siendo más sensibles a la regulación por nitrógeno mineral.

El objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos de los inoculantes de la compañía brasileña AGROCETE compuestos por un cultivo puro de las bacterias diazotróficas GRAP NOD AL de la bacteria *Azospirillum brasilense* y GRAP NOD L+ de la bacteria *Bradyrhizobium japonicum* y el inoculante de la Universidad Zamorano compuesto con una co-inoculación de *Rhizobium etli* + *Rhizobium tropici*. Adicionalmente se evaluó una co-inoculación de las bacterias *A. brasilense* y *B. japonicum*, cada tratamiento a diferentes niveles de fertilizante nitrogenado.

## **Materiales y Métodos**

### **Localización del Estudio**

El estudio se llevó a cabo durante los meses de marzo a junio del 2025, en el Lote 5 de Zona 2, área productiva de la Universidad Zamorano, ubicada en el municipio de San Antonio de Oriente. Coordenadas geográficas de San Antonio de Oriente, departamento de Francisco Morazán con Latitud de 14°00'36" Norte y longitud 87°00'04" Oeste. Altura de 775 msnm, con una precipitación promedio anual de 1,000 mm y una temperatura promedio de 27-30° C.

### **Establecimiento del Experimento**

Para el establecimiento de este estudio se utilizó un área aproximada de 1,241m<sup>2</sup>. Se usó un diseño de Bloques Completamente al Aleatorizado (BCA), donde cada parcela experimental corresponde a una combinación de tratamientos; un inoculante y un nivel de fertilizante nitrogenado (UREA). Antes de la aleatorización, el lote se dividió en 3 bloques o repeticiones, cada bloque separado por calles de 2 metros. Cada bloque estaba distribuido en 15 parcelas, separadas por calles de 1 metro.

En este experimento se utilizó la variedad de frijol, Tolupán desarrollada por el Programa de Investigaciones en Frijol (PIF) de la Universidad Zamorano. Esta variedad tiene una emergencia a los 6 y 8 días después de la siembra (DDS), florece entre los 38 y 40 DDS, con un número entre 28 y 32 vainas por planta, donde cada vaina tiene entre 6 y 7 semillas por planta y se cosecha entre los 76 y 80 DDS. El diseño de siembra se hizo en base a una densidad de 200,000 plantas por hectárea, utilizando hilera simple. Por lo que cada parcela consistió en 4 hileras separadas a 0.5 metros y un distanciamiento entre planta de 0.1 metros.

Para el desarrollo del proyecto, se utilizó un área aproximada de 1,241 m<sup>2</sup>. El experimento comenzó con la preparación del lote, realizada con equipo agrícola. Posteriormente se procedió a la delimitación de los bloques, cada bloque correspondió a un área de 365 m<sup>2</sup>. Cada bloque estuvo dividido en 15 unidades experimentales de 15 m<sup>2</sup>. Para la distribución de los tratamientos, se aleatorizó tomando en cuenta el inoculante y el nivel de nitrógeno.

## Tratamientos

Los tratamientos del estudio se distribuyeron en una combinación de los dos factores: inoculante por nivel de fertilizante nitrogenado que son explicados a continuación.

### **Factor 1 Inoculante a 5 niveles**

Se formularon 5 tratamientos en base a los productos inoculantes:

**Sin Inoculante:** Se aplicó agua sin producto al momento de la siembra para simular una inoculación al estilo drench.

**Rhizobium:** Se utilizó el producto formulado por la Unidad de Investigación de Frijol y Soya (UIDC) de la Universidad Zamorano. Este inoculante está compuesto por dos cepas de *Rhizobium*: *Rhizobium etli* y *Rhizobium tropici*, formulado en presentación de turba. Se calculó el estimado de semillas a utilizar en este tratamiento en una bolsa plástica, para luego humedecerla con una solución azucarada (1 L de solución azucarada al 5% / 40 kg de semilla) y añadir el inoculante (450 g de inoculante para 40-50 kg de semilla) para luego mezclarlo.

**GRAP NOD AL:** Producto de un cultivo puro de la bacteria *Azospirillum brasilense* en presentación líquida de la empresa AGROCETE. Al estar en presentación líquida, solamente se tuvo que pesar el estimado de semillas a utilizar en una bolsa plástica para el tratamiento y añadir la dosis recomendada por el distribuidor (200 mL de producto / 50 kg de semilla).

**GRAP NOD L+:** Producto de un cultivo puro de la bacteria *Bradyrhizobium japonicum* en presentación líquida de la empresa AGROCETE. Al estar en presentación líquida, solamente se tuvo que pesar el estimado de semillas a utilizar en una bolsa plástica para el tratamiento y añadir la dosis recomendada por el distribuidor (140 mL de producto / 50 kg de semilla).

**GRAP NOD AL + GRAP NOD L+:** Se realizó una co-inoculación con estos 2 productos para evaluar la interacción entre *A. brasilense* y *B. japonicum*. La semilla se inoculó igualmente, solo añadiendo la dosis respectiva de cada tratamiento recomendada por el distribuidor (200 mL/50 kg de semilla para GRAP NOD AL y 140 mL/50 kg de semilla para GAP NOD L+) para luego mezclarla.

### Factor 2 Nivel de Fertilizante Nitrogenado a 3 niveles

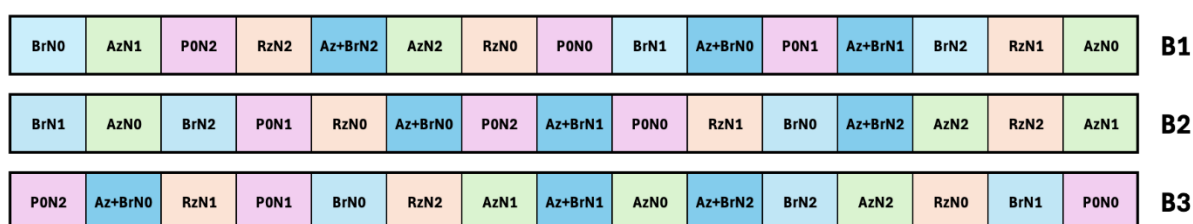
Nivel 0: No se utilizó fertilizante nitrogenado (0%).

Nivel 1: Se utilizó la dosis recomendada para producir 3 toneladas por hectárea (100%).

Nivel 2: Se utilizó el doble de la recomendada para producir 3 toneladas por hectárea (200%).

#### Figura 1

*Diseño y distribución de las unidades experimentales y bloques para el experimento de diferentes géneros de bacterias fijadoras de nitrógeno a diferentes niveles de nitrógeno, Zamorano, Honduras.*



*Nota.* Imagen diseñada por el autor para mostrar la distribución espacial de los tratamientos. (P0N0, P0N1 y P0N2): tratamiento sin inoculante a 0%, 100% y 200% de fertilizante nitrogenado respectivamente. (RzN0, RzN1 y RzN2): tratamiento con *Rhizobium* a 0%, 100% y 200% de fertilizante nitrogenado respectivamente. (AzN0, AzN1 y AzN2): tratamiento con *Azospirillum brasilense* a 0%, 100% y 200% de fertilizante nitrogenado respectivamente. (BrN0, BrN1 y BrN2): tratamientos con *Bradyrhizobium japonicum* a 0%, 100% y 200% de fertilizante nitrogenado respectivamente. (Az+BrN0, Az+BrN1 y Az+BrN2): tratamientos con la co-inoculación de *Azospirillum brasilense* y *Bradyrhizobium japonicum* a 0%, 100% y 200% de fertilizante nitrogenado respectivamente.

El Cuadro 1 presenta la codificación utilizada para identificar los tratamientos aplicados. En este se detallan el tratamiento específico, la bacteria fijadora de nitrógeno utilizada, el nivel de fertilizante nitrogenado y la codificación asignada a cada tratamiento. Esta codificación asignada permite una identificación clara y rápida de las combinaciones de los niveles de cada factor a evaluar.

#### Cuadro 1

*Codificación de los tratamientos utilizados en el experimento de inoculantes a distintos niveles de fertilizante nitrogenado en frijol rojo, Zamorano, Honduras.*

| Tratamiento | Inoculante     | Nivel de Nitrógeno | Código |
|-------------|----------------|--------------------|--------|
| 1           | Sin Inoculante | 0%                 | P0N0   |
| 2           | Sin Inoculante | 100%               | P0N1   |
| 3           | Sin Inoculante | 200%               | P0N2   |

| Tratamiento | Inoculante                    | Nivel de Nitrógeno | Código  |
|-------------|-------------------------------|--------------------|---------|
| 4           | Rhizobium                     | 0%                 | RzN0    |
| 5           | Rhizobium                     | 100%               | RzN1    |
| 6           | Rhizobium                     | 200%               | RzN2    |
| 7           | Azospirillum                  | 0%                 | AzN0    |
| 8           | Azospirillum                  | 100%               | AzN1    |
| 9           | Azospirillum                  | 200%               | AzN2    |
| 10          | Bradyrhizobium                | 0%                 | BrN0    |
| 11          | Bradyrhizobium                | 100%               | BrN1    |
| 12          | Bradyrhizobium                | 200%               | BrN2    |
| 13          | Azospirillum + Bradyrhizobium | 0%                 | Az+BrN0 |
| 14          | Azospirillum + Bradyrhizobium | 100%               | Az+BrN1 |
| 15          | Azospirillum + Bradyrhizobium | 200%               | Az+BrN2 |

Cada tratamiento fue asignado aleatoriamente en cada uno de tres bloques o repeticiones, resultando en un total de 45 parcelas experimentales. Cada tratamiento fue establecido con las mismas dimensiones para minimizar el efecto de factores externos, utilizando un arreglo de siembra con 50 cm entre hilera y 10 cm entre planta, asegurando una densidad de siembra de 200,000 plantas por hectárea. Cada tratamiento fue inoculado previamente a la siembra, utilizando la dosis recomendada en la ficha técnica de cada producto. Así mismo, al momento de la siembra se fertilizó cada tratamiento, tomando en cuenta el nivel de fertilizante nitrogenado que debe llevar.

### **Análisis Estadístico**

Para llevar a cabo el análisis estadístico, se utilizó el software SAS® Studio. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) multivariable mediante el procedimiento PROC GLM, evaluando los efectos principales e interacciones de los factores Inoculante y Nivel de Fertilizante Nitrogenado. La separación de medias se llevó a cabo utilizando la prueba de Duncan para los efectos principales y LSMEANS con PDIFF para las interacciones, considerando la normalidad de los datos con una probabilidad para todos los análisis de  $< 0.05$ .

## **Actividades Agronómicas**

### ***Preparación de Suelo***

El experimento se llevó a cabo en el lote 5 de Zona 2 de la Universidad Zamorano, un terreno previamente utilizado por la Unidad de Granos y Semillas como lote de producción. El área total destinada para el proyecto fue de 1,241 m<sup>2</sup>, subdividida en 45 parcelas experimentales de 15 m<sup>2</sup> cada una. El lote fue previamente mecanizado utilizando un implemento pesado, para luego realizar el delineamiento de cada parcela para garantizar una mayor uniformidad.

### ***Inoculación de la Semilla***

Previo al establecimiento del cultivo, se realizó la inoculación de las semillas 1 hora antes de la siembra, con cada inoculante, utilizando la dosis recomendada por el distribuidor. En el caso del producto *Rhizobium*, al estar en presentación de turba, se tuvo que pesar el estimado de semillas a utilizar en este tratamiento en una bolsa plástica, para luego humedecerla (1 L de solución azucarada al 5% / 40 kg de semilla) y añadir el inoculante (450 g de inoculante para 40-50 kg de semilla) para luego mezclarlo. Para los productos de las bacterias *Azospirillum brasilense* (GRAP NOD AL) y *Bradyrhizobium japonicum* (GRAP NOD L+), al estar en presentación líquida, solamente se tuvo que pesar el estimado de semillas a utilizar en una bolsa plástica para cada tratamiento y añadir la dosis recomendada por el distribuidor (200 mL/50 kg de semilla para GRAP NOD AL y 140 mL/50 kg de semilla para GAP NOD L+) para luego mezclarla.

### ***Establecimiento del Cultivo***

Se realizaron los surcos de cada parcela manualmente a una separación de 50 cm cada uno. El propósito de estos surcos fue para respetar la densidad de siembra previamente establecida de 200,000 plantas por ha. La siembra se realizó de forma manual utilizando reglas con medidas establecidas para tener una distancia de 10 cm entre planta.

### ***Plan de Fertilización***

El plan de fertilización se basó en los requerimientos nutricionales del frijol para obtener una producción de granos de 3 t/ha, según (Floria Bertsch, 2009). Debido a la investigación sobre el efecto que tiene el fertilizante nitrogenado sobre los inoculante, se modificó únicamente la dosis total de nitrógeno (N) utilizada por tratamiento, 0 kg/ha de (N) con UREA para el nivel 0% de N en los tratamientos, 204 kg/ha de N con UREA para el nivel 100% de N en los tratamientos y 408 kg/ha de N con UREA para el nivel 200% de N en los tratamientos.

En cuanto al resto de los fertilizantes, se utilizó la dosis establecida para producir 3 T/ha de frijol para todo el experimento, aplicándose 176 kg/ha de potasio (K<sub>2</sub>O) con KCL y 48 kg /ha de fósforo (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) con MAP. La fertilización se realizó en 3 etapas, al momento de la siembra, donde se suministró el 20% del total del plan de fertilización, la segunda fertilización se llevó a cabo a los 25 días después de siembra (DDS), aportando el 50% del total de N requerido, mientras que con fósforo y potasio se realizó el 60% de su total de requerido, la última fertilización se realizó a los 45 DDS, aportando el 20% restante para nitrógeno y fósforo y el 30% para potasio. El MAP contiene nitrógeno en su composición (12%), no obstante, la cantidad que fue aportada por este fertilizante no fue considerada significativa, por lo que no se le atribuye ningún efecto.

### **Medición de Variables Fisiológicas**

#### ***Altura de la Planta***

La altura de planta es una variable fisiológica fundamental, especialmente cuando se evalúan efectos de inoculantes bacterianos. Esta variable refleja el crecimiento vegetativo y la salud general de la planta. Para medir la altura de las plantas (centímetros) se utilizó una regla, tomando como referencia la base del tallo. La medición se realizó desde la base del tallo hasta la primera bifurcación de las ramas. Esta medición se realizó cuando el cultivo llegó a madurez fisiológica, a los 68 días. Se extrajeron 5 plantas por unidad experimental, midiendo cada una individualmente para luego promediar.

### ***Conteo de Nódulos***

El conteo de nódulos es una variable crítica para evaluar la eficacia de los inoculantes en la FBN y refleja la capacidad de la bacteria para establecer una simbiosis con el cultivo. Esta variable mide el número de nódulos radiculares formados, que son estructuras especializadas donde las bacterias convierten el nitrógeno atmosférico ( $N^2$ ) en formas asimilables como el amonio ( $NH^3/NH^{4+}$ ). Se realizaron 2 conteos de nódulos, el primero a los 12 días después de germinar (DDG), donde se contaron los nódulos totales y a los 32 DDG se realizó el segundo conteo, esta vez solamente se contaron los nódulos efectivos. El número total de nódulos abarca toda estructura rizobial, ya sean nódulos en proceso de formación, nódulos efectivos y nódulos atrofiados y para el conteo de nódulos efectivos solamente se toman en cuenta los nódulos activos funcionales. Fue importante medir esta variable de esta forma para evaluar el progreso de la simbiosis. Se extrajeron 10 plantas por unidad experimental en cada conteo y se promedió por cada tratamiento.

### ***Volumen de la Raíz***

El volumen de la raíz está directamente relacionado con el nitrógeno, ya que al haber una deficiencia de este la planta no desarrolla un sistema radicular abundante. De igual forma, fue esencial medir esta variable ya que los géneros de estas bacterias diazotróficas producen fitohormonas promotoras de crecimiento. La medición de esta variable se realizó a los 35 días después de germinar DDG, se tomaron 2 plantas por tratamiento, el volumen de la raíz se midió por medio de una probeta de 100mL a un volumen fijo, se introducía el sistema radicular completo y se medía la diferencia en volumen para obtener el resultado.

### ***Diámetro de Tallo***

La medición del diámetro del tallo fue una variable clave en este estudio, ya que refleja directamente la vigorosidad estructural y el estado fisiológico de la planta. Un mayor diámetro indica una mejor capacidad de transporte de agua y nutrientes, mayor acumulación de biomasa y, por ende, un crecimiento vegetativo más robusto. La medición se realizó cuando el cultivo llegó a madurez

fisiológica a los 68 días. Para medir esta variable se tomaron 5 plantas por tratamiento, el diámetro del tallo se midió utilizando un calibrador o pie de rey, tomándose la medición en la base del tallo.

### **Medición de Variables de Rendimiento**

#### ***Número de Vainas por Planta***

El número de vainas por planta es una variable crítica para el rendimiento, ya que representa un indicador directo de la capacidad productiva de la planta. Se extrajeron 5 plantas en un metro lineal por unidad experimental, donde se contó el número total de vainas de cada planta y se promedió por cada unidad experimental.

#### ***Rendimiento***

Para determinar el rendimiento del cultivo se tomó el peso total (g) de los granos cosechados de las 5 plantas utilizadas en la medición de la variable números de vaina por planta. Para obtener el resultado de rendimiento se tuvo que realizar un proceso para ajustar la humedad. Este proceso constó de medir el peso inicial de cada unidad experimental (UE), luego se colocó el total de granos por UE en bolsas de cartón para luego ser sometidas a un proceso de secado utilizando un horno donde los granos estuvieron por 72 horas. Al finalizar las 72 horas se pesaron los granos de cada UE cada 3 horas hasta que los pesos no siguieran cambiando, obteniendo nuestro peso final. Una vez obteniendo el peso final se utilizó la ecuación 1 para obtener la humedad de cada UE.

$$H = \frac{P_i - P_f}{P_i} \quad [1]$$

En donde:

H= Humedad porcentual de los granos.

P<sub>i</sub>= Peso inicial de los granos.

P<sub>f</sub>: Peso final de los granos.

Una vez obteniendo la humedad de cada UE, se realizó el ajuste de humedad a 12% para luego obtener el peso (g) por planta de cada UE utilizando la *ecuación 2*:

$$\frac{\text{Gramos}}{\text{Planta}} = \frac{\left(\frac{100-H}{100-12}\right)*Pf}{\#Pl}$$

[2]

En donde:

H= Humedad de los granos.

Pf= Peso final de los granos.

#Pl= Número de plantas cosechadas.

Finalmente se extrapó los datos para estimar el rendimiento por hectárea.

## Resultados y Discusión

En el cuadro 2 se muestran los valores de significancia para las variables discutidas en este estudio. Se observa que las variables conteo de nódulos 1 y 2 presentan altos valores de significancia ( $P < 0.05$ ) para la interacción entre inoculante y nivel de nitrógeno. Asimismo, el factor nivel de nitrógeno tuvo un efecto simple altamente significativo ( $P < 0.01$ ) para ambos conteos de nódulos, mientras que el factor inoculante, solamente presentó significancia en el segundo conteo (Cuadro 2). Dado que la interacción fue significativa, el análisis y discusión para esta variable se centró únicamente en el efecto interactivo y no en los efectos simples, ya que esto nos permite evaluar como el nivel de nitrógeno modula el efecto de los inoculantes en la formación de nódulos en el cultivo del frijol. Por otro lado, este efecto interactivo no se observó en las variables: volumen de raíz, altura de planta, diámetro del tallo, número de vainas o rendimiento.

Los productos inoculantes mostraron efectos independientes y significativos para las variables, volumen de raíz, y rendimiento mientras que la aplicación de diferentes niveles de fertilizante nitrogenado influyó en todas las variables, con excepción de la altura de planta, en la cual no se observó ningún efecto por cualquiera de los factores estudiados (Cuadro 2).

**Cuadro 2**

*Significancia para las variables fisiológicas y de rendimiento en el cultivo del frijol común (Phaseolus vulgaris L.): Conteo de nódulos 1 y 2, volumen de la raíz, altura de la planta, diámetro de la planta, número de vainas y rendimiento en respuesta a la inoculación con el inoculante de Rhizobium de la Universidad Zamorano y los inoculantes comerciales GRAP NOD AL y GRAP NOD L+ bajo 3 niveles distintos de fertilizante nitrogenado, Zamorano, Honduras.*

| Fuente         | Nódulo 1 | Nódulo 2 | Volumen | Altura de la planta | Diámetro | Vainas | Rendimiento |
|----------------|----------|----------|---------|---------------------|----------|--------|-------------|
|                | No       | No       | mL      | cm                  | mm       | No     | kg/ha       |
|                | Pr > F   | Pr > F   | Pr > F  | Pr > F              | Pr > F   | Pr > F | Pr > F      |
| Inoculante (I) | 0.0951   | 0.0003   | 0.0160  | 0.4828              | 0.3608   | 0.543  | 0.0114      |
| Nitrogeno (N)  | 0.0002   | 0.0024   | 0.0176  | 0.5674              | 0.0217   | 0.0007 | 0.0007      |
| I*N            | 0.0402   | 0.0378   | 0.0800  | 0.7512              | 0.2871   | 0.6693 | 0.2897      |
| R <sup>2</sup> | 82%      | 88%      | 81%     | 64%                 | 71%      | 87%    | 85%         |
| CV             | 25%      | 28%      | 41%     | 13%                 | 9%       | 20%    | 30%         |

El Cuadro 3 presenta los resultados de la interacción entre los productos inoculados (Sin inoculante, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Bradyrhizobium* y la co-inoculación de *Azospirillum*+*Bradyrhizobium* con los tres niveles de fertilizante nitrogenado (0%, 100% y 200%) de la dosis recomendada para una producción de 3 T/ha de grano de frijol, en las variables fisiológicas: nódulo 1 y nódulo 2.

### Cuadro 3

*Efecto de la interacción de inoculantes y niveles de fertilizante nitrogenado en el número de nódulos con conteos realizado a los 12 y 38 días después de la germinación en el cultivo de frijol común (Phaseolus vulgaris L.), Zamorano, Honduras.*

| Nivel de Nitrógeno         | Inoculante                 | Nódulos 12 días | Nódulos 38 días |
|----------------------------|----------------------------|-----------------|-----------------|
| 0%                         | Sin inoculante             | 17 bcde         | 14 defg         |
|                            | <i>Rhizobium</i>           | 19 abc          | 20 bcde         |
|                            | <i>Azospirillum</i> (Az)   | 18 bcd          | 22 bc           |
|                            | <i>Bradyrhizobium</i> (Br) | 21 ab           | 15 cdefg        |
|                            | Az+Br                      | 26 a            | 17 bcdefg       |
|                            | 100%                       | Sin inoculante  | 14 cdefg        |
| <i>Rhizobium</i>           |                            | 14 cdefg        | 19 bcdef        |
| <i>Azospirillum</i> (Az)   |                            | 17 bcdefg       | 14 defg         |
| <i>Bradyrhizobium</i> (Br) |                            | 8 g             | 9 g             |
| Az+Br                      |                            | 14 cdefg        | 17 bcdefg       |
| 200%                       |                            | Sin inoculante  | 20 abc          |
|                            | <i>Rhizobium</i>           | 12 defg         | 38 a            |
|                            | <i>Azospirillum</i> (Az)   | 11 efg          | 20 bcde         |
|                            | <i>Bradyrhizobium</i> (Br) | 10 fg           | 17 bcdefg       |
|                            | Az+Br                      | 15 bcdefg       | 23 b            |
|                            | Pr > F                     |                 | 0.04            |
| CV                         |                            | 25%             | 28%             |

Nota. CV: Coeficiente de Variación, Pr > F: Valor F

El primer conteo de nódulos se caracterizó por incluir todos los nódulos formados, estuvieran estos activos o no en las raíces del cultivo. El número total de nódulos encontrados en el cultivo bajo cero fertilizaciones nitrogenadas fue significativamente mayor cuando se hizo la co-inoculación con *Azospirillum* más *Bradyrhizobium* (Az+Br), 26 nódulos, comparado con las inoculaciones de

*Azospirillum* o sin inoculante, 18 y 17 nódulos, respectivamente (Cuadro 3). No obstante, aplicaciones de *Bradyrhizobium* (21 nódulos) o *Rhizobium* (19 nódulos) resultaron ser estadísticamente iguales a la co-inoculación.

El alto valor del tratamiento de co-inoculación a 0% de nivel de fertilizante sugiere que hubo una sinergia entre las bacterias *Azospirillum* (asociativas) y *Bradyrhizobium* (simbiótica alternativa) potenciando la formación de nódulos totales prontamente después de la germinación. (Leite et al., 2022) indica que esto se lleva a cabo mediante mecanismos que promueven la producción de fitohormonas como auxinas y citoquininas. La nodulación observada en el tratamiento con agua o sin inoculante, en ausencia del fertilizante nitrogenado se atribuye a la presencia de bacterias diazotróficas nativas en el suelo, como poblaciones indígenas de rhizobios, que pueden inducir nodulación, especialmente en suelos con deficiencia de nitrógeno (Horácio et al., 2024), sin embargo, estos nódulos podrían ser inactivos al momento de su desarrollo.

El resultado del tratamiento con *Azospirillum*, siendo significativamente inferior a la co-inoculación, se atribuye a que este género de bacterias diazotróficas no forman nódulos ya que carecen de los genes nod necesarios, por lo que este género se utiliza principalmente por sus beneficios indirectos en asocio con géneros simbióticos, como *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* (Fukami et al., 2018). La aplicación de un 100% del requerimiento de nitrógeno para lograr 3 toneladas/ha resultó en una disminución generalizada en el número de nódulos entre los tratamientos, causando que estos, no fueran estadísticamente diferentes al control. sin embargo, se puede observar que en este grupo *Bradyrhizobium* (8 nódulos) presenta el valor absoluto más bajo del primer conteo de nódulos lo que podría deberse a una mayor sensibilidad al efecto del fertilizante en la eficiencia de la bacteria (Cuadro 3).

Los tratamientos con 200% del nivel de fertilizante nitrogenado también causaron una reducción en el número de nódulos del frijol de manera similar a lo ocurrido en aplicaciones del 100% en las parcelas, siguiendo la expectativa general que mayores niveles de nitrógeno suprimen la

nodulación (Cuadro 3). La alta fertilización nitrogenada causó que el número de nódulos en los tratamientos sin inoculación (20 nódulos), fuera significativamente superior a las parcelas inoculadas donde no hubo diferencia significativa (Cuadro 3). Esta respuesta se atribuye a que las bacterias diazotróficas encontradas nativamente en el suelo, podrían tener mayor tolerancia a dosis más altas de fertilizante nitrogenado que cepas como *R. etli*, *R. tropici*, *A. brasilense* y *B. japonicum* debido a su adaptación local a las condiciones edáficas y su coevolución con el microbioma regional. Esto fue observado por (Athul et al., 2022), quienes evidenciaron que las cepas nativas superan a las cepas no nativas (inoculadas), especialmente en suelos con altos niveles de fertilizante nitrogenado.

En el segundo conteo realizado a los 32 DDG se enfocó en el conteo de nódulos efectivos. Bajo cero fertilizaciones, *Azospirillum* presentó un mayor número de nódulos efectivos (22 nódulos), que el tratamiento sin inoculante (14 nódulos), aunque Az, no mostró diferencias estadísticas con R, Br o la co-inoculación, Az+Br (Cuadro 3). Este desempeño destacado de *Azospirillum* en condiciones de deficiencia de nitrógeno se atribuye a su rol como bacteria asociativa que estimula la maduración de nódulos efectivos mediante la producción de fitohormonas como auxinas y citoquininas, las cuales facilitan una mejor colonización por rhizobios nativos y potencian la fijación biológica de nitrógeno (FBN) en etapas posteriores del ciclo vegetal, como se ha observado en estudios con frijol común (Dardanelli et al., 2008).

El resto de las parcelas inoculadas con los otros tratamientos no mostraron diferencias significativas o no superaron al control, reflejando su limitada eficiencia en la formación de nódulos activos en condiciones de cero fertilizaciones nitrogenadas. La diferenciación floral y la floración plena son etapas que demandan de un mayor nivel de nitrógeno para la formación de brotes florales, las parcelas no fertilizadas podrían limitar la formación de nódulos en las raíces para permitir un proceso normal de floración y posterior número de vainas. Bajo estas etapas, la capacidad simbiótica para formar nódulos funcionales en ausencia de N, donde la planta depende más de la simbiosis para suplir este nutriente limitante (Lindström y Mousavi, 2020).

La fertilización promedio de nitrógeno causó una tendencia a reducir en el número de nódulos efectivos, proceso que también fue observado en etapas tempranas del cultivo con respecto a la formación de nódulos totales. Sin embargo, durante la floración, el número de nódulos encontrados en las parcelas tratadas con *Rhizobium* (19 nódulos) fue estadísticamente superior a *Bradyrhizobium* (9 nódulos). Este resultado resalta la baja eficiencia de *Bradyrhizobium* por sí solo, lo cual se atribuye a su menor afinidad y baja especificidad de este género con el frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*) en comparación con soya (*Glycine max*), donde su simbiosis es más eficiente y su mayor especificidad causa una mayor fijación biológica que en el frijol (Bender et al., 2022).

Aunque existió diferencia entre algunos de los inoculantes, ninguno de ellos fue superior al control, esto se debe a que el uso de fertilizante nitrogenado suprime la nodulación al haber suficiente nitrógeno disponible para la planta, inhibiendo la formación de nódulos y la fijación biológica de nitrógeno (Reinprecht et al., 2020). Interesantemente, la aplicación de niveles superiores de nitrógeno al promedio recomendado causó un incremento en el número de nódulos efectivos en todos los tratamientos, los cuales fueron estadísticamente superiores al tratamiento sin inoculante, con excepción a *Bradyrhizobium* (Cuadro 3).

*Rhizobium* alcanzó el valor más alto entre todos los tratamientos (38 nódulos), seguido por la co-inoculación Az+Br (23 nódulos), aunque este último no fue superior a Az o Br (Cuadro 3). Este incremento pronunciado en *Rhizobium* bajo altos niveles de N se explica por su coevolución íntima con el frijol común, permitiendo una resiliencia mayor a la inhibición por nitrato, donde el N alto podría servir como catalizador inicial para un desarrollo radicular robusto, facilitando la maduración de nódulos efectivos sin completa supresión de la nitrogenasa, como se ha reportado en genotipos de frijol con alta capacidad de FBN (Reinprecht et al., 2020).

La co-inoculación Az+Br también se benefició de esta sinergia, potenciando nódulos funcionales mediante mecanismos combinados de promoción de crecimiento y simbiosis alternativa, aunque en menor medida que *Rhizobium* (Chibeba et al., 2020). El bajo desempeño del control

refuerza que, sin inoculantes, las nativas no logran madurar nódulos efectivos bajo alto N, priorizando absorción mineral sobre FBN (García-Soto et al., 2024).

El Cuadro 4 evidencia un efecto simple de la fertilización nitrogenada sobre las variables: diámetro de tallo, número de vainas, volumen de raíz, y rendimiento del cultivo del frijol. Cabe mencionar que este factor no tuvo ningún efecto significativo sobre la variable, altura de planta en el cultivo de frijol común y que la interacción no fue significativa.

#### **Cuadro 4**

*Efecto de tres niveles de nitrógeno en el diámetro de la planta, volumen de la raíz, número de vainas y rendimiento del cultivo de frijol común (Phaseolus vulgaris L.), Zamorano, Honduras.*

| Nivel de Nitrógeno | Diámetro (mm) | Vainas (Número) | Volumen (mL) | Rendimiento (kg/ha) |
|--------------------|---------------|-----------------|--------------|---------------------|
| 0%                 | 7.2 b         | 16 b            | 9.2 b        | 1752 b              |
| 100%               | 7.8 a         | 22 a            | 9.3 b        | 2022 b              |
| 200%               | 7.9 a         | 23 a            | 13.8 a       | 2878 a              |
| Pr > F             | 0.0217        | 0.0007          | 0.0176       | 0.0007              |
| CV                 | 9%            | 20%             | 41%          | 30%                 |

En la variable diámetro del tallo observamos que las parcelas no tuvieron un diámetro menor (7.2 mm) que las parcelas con fertilización del 100% y 200% (7,8 y 7.9 mm, respectivamente). Sin embargo, no se demuestra diferencia significativa en el diámetro de las plantas de frijol dentro de las parcelas fertilizadas (Cuadro 4). Este aumento en el diámetro del tallo con aplicaciones de nitrógeno se atribuye a su rol en la promoción del crecimiento vegetativo, siendo fundamental para estimular la expansión celular y a la lignificación de las paredes celulares en el tallo. Debido a que la aplicación elevada de nitrógeno (200%) no resultó en un mayor diámetro de la planta de frijol comparado con parcelas fertilizadas con niveles promedio de N sugiere un punto de saturación en la respuesta al nitrógeno por parte de la planta, por lo que podemos inferir que la variable de diámetro del tallo requiere del uso de una dosis moderada de nitrógeno como mejor opción, ya que ofrece resultados comparables con menor uso de insumos (Reinprecht et al., 2020).

Similarmente, la respuesta del cultivo del frijol relacionada con el número de vainas por planta fue significativamente menor en parcelas no fertilizadas; 16 vainas/planta (Cuadro 4), la aplicación de fertilizante causó que el número de vainas por planta fuera significativamente superior al control, sin embargo, no se observaron diferencias estadísticas dentro de las parcelas fertilizadas con un 100% de N (22 vainas/planta) y las parcelas con un 200% de N (23 vainas/planta). Esta mejora en el componente reproductivo con aplicaciones de nitrógeno se debe a su rol esencial en la fase de floración y cuajado de vainas, donde el nitrógeno optimiza la eficiencia fotosintética al incrementar la producción de clorofila y enzimas asociadas, facilitando una mayor acumulación y partición de asimilados carbonados hacia los órganos reproductivos, lo que reduce la abscisión floral y promueve un mayor número de vainas (Mansouri et al., 2020).

El volumen de la raíz (Cuadro 4), no fue estadísticamente significativo en parcelas no fertilizadas versus parcelas fertilizadas con un 100% de N. Pero, si se observó que a la aplicación del 200% de N causó un incremento en el volumen de la raíz, 13.8 mL siendo estadísticamente significativo y superior a los niveles de 0% (9.2 mL) y 100% (9.3 mL) (Cuadro 4). Estos resultados se atribuyen a que el nitrógeno actúa como catalizador para la biosíntesis de auxinas endógenas y proteínas estructurales, estimulando la elongación celular y la ramificación lateral en las raíces adventicias, lo que incrementa la biomasa radicular (Marschner, 2012). Sin embargo, la ausencia de diferencias significativas en entre los niveles de 0% y 100% sugieren que a dosis moderadas no superan la contribución basal de la fijación biológica de nitrógeno simbiótica o nativa, cuestionando la eficiencia económica y ambiental de fertilizaciones moderadas.

Finalmente, el cuadro 4 presenta valores de rendimiento con la misma tendencia observada en la respuesta de la planta con respecto al número de vainas por planta. Siendo el nivel con 200% de fertilizante nitrogenado significativamente superior (2878 kg/ha) a los niveles 0% y 100%, con 1752 y 2022 kg/ha, respectivamente, siendo estos dos últimos estadísticamente iguales (Cuadro 4).

Esta variable va estrechamente relacionada con la variable de número de vainas, por lo que se esperaba un resultado similar entre ellas, sin embargo, se observa que a una dosis de 100% de fertilizante nitrogenado la variable número de vainas es significativamente superior a el nivel de 0% de fertilizante nitrogenado. No obstante, esto no se cumple dentro de la variable de rendimiento, ya que al 100% del fertilizante nitrogenado no se observó diferencia significativa contra el nivel con 0% de fertilizante nitrogenado.

Esta discrepancia puede explicarse por la influencia multifactorial del nitrógeno en el rendimiento final, donde el aumento en el número de vainas no necesariamente se traduce en mayor producción de grano si otros factores limitantes, como el estrés hídrico tardío (Kyei-Boahen et al., 2017). Sin embargo, en este estudio se demuestra que el volumen de raíz correlacionó mejor que la variable número de vainas por planta con rendimiento ya que en ambas variables se observó que niveles elevados de nitrógeno causaron un incremento significativo en el volumen de raíz, como también en el rendimiento. Por consiguiente, en estudios de fijación biológica de nitrógeno a diferentes niveles de fertilización nitrogenada es oportuno incluir la variable de volumen de raíz.

#### **Cuadro 5**

*Efecto de varios productos inoculantes en el volumen de raíz y rendimiento en el cultivo de frijol común (Phaseolus vulgaris L.), Zamorano, Honduras.*

| Inoculante                 | Volumen<br>(mL) | Rendimiento<br>(kg/ha) |
|----------------------------|-----------------|------------------------|
| Sin inoculante             | 6.3 b           | 1879 b                 |
| <i>Rhizobium</i>           | 9.2 ab          | 1706 b                 |
| <i>Azospirillum</i> (Az)   | 12.9 a          | 2691 a                 |
| <i>Bradyrhizobium</i> (Br) | 13.7 a          | 2736 a                 |
| Az+Br                      | 11.7 a          | 2075 ab                |
| Pr > F                     | 0.016           | 0.0114                 |
| CV                         | 41%             | 30%                    |

Los tratamientos con *Azospirillum* (12.9 mL), *Bradyrhizobium* (13.7 mL) y la co-inoculación Az+Br (11.7 mL) exhibieron volúmenes de raíz significativamente superiores al tratamiento sin Inoculante, 6.3 mL, (Cuadro 5). La superioridad de los géneros *Azospirillum*, *Bradyrhizobium* y su co-inoculación Az+Br se atribuye a las capacidades de estas bacterias para potenciar el crecimiento mediante la producción de fitohormonas como auxinas y giberelinas, que estimulan la elongación y ramificación de raíces (Puente et al., 2018).

Plantas inoculadas con *Rhizobium* no registraron volúmenes de raíz superiores al control y a su vez, no fueron menores que los demás inoculantes. La falta de diferencia significativa entre *Rhizobium* y el control (sin Inoculante) puede atribuirse a que esta bacteria simbiótica se enfoca primordialmente en la formación de nódulos para la fijación biológica de nitrógeno, con un impacto secundario sobre el desarrollo radicular (Horácio et al., 2024).

El rendimiento del cultivo también fue afectado por *Azospirillum* y *Bradyrhizobium* ya que registraron valores significativamente superiores (2691 kg/ha y 2736 kg/ha respectivamente) al tratamiento sin inoculante, 1879 kg/ha y *Rhizobium*, 1706 kg/ha, aunque no fueron diferentes a la co-inoculación, 2075 kg/ha. Esta respuesta es similar a los resultados encontrados en la variable de volumen de raíz, destacando su rol integral en mejorar tanto el desarrollo como el rendimiento del cultivo. Estos resultados son respaldados por (Hungria et al., 2015), donde demuestra que tanto *Bradyrhizobium* como *Azospirillum* y su co-inoculación mejoran la fijación biológica de nitrógeno, resultando en un mayor desarrollo radicular y rendimiento.

Por otro lado, el menor rendimiento observado con *Rhizobium* se atribuye a su menor competitividad frente a poblaciones de bacterias diazotróficas nativas y también a la ausencia de bacterias rizosféricas promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) como lo es *Azospirillum* (Bernal y Graham, 2001), resaltando la necesidad de evaluar compatibilidades entre el cultivo de frijol y otros géneros de bacterias diazotróficas.

### Conclusiones

La nodulación respondió de manera dependiente del nivel de nitrógeno, obteniendo que a 0% la co-inoculación maximizó los nódulos totales tempranos, mientras que *Azospirillum* solo favoreció la formación de nódulos efectivos; con 200% N, *Rhizobium* alcanzó el mayor número de nódulos efectivos. Esto confirma que el desempeño relativo de cada inoculante varía con la disponibilidad de N y que los mecanismos asociativos y simbióticos se expresan en distintos escenarios de fertilización.

El uso de inoculantes incrementa el volumen radicular y la nodulación, compensando los diferentes niveles de fertilizante nitrogenado, lo que posiblemente tenga impactos positivos en el medio ambiente y en la salud del suelo.

### **Recomendaciones**

Realizar un análisis del porcentaje de clorofila en las hojas y del nitrógeno derivado de la atmósfera (Ndfa) en los granos, con el propósito de relacionar la eficiencia de fijación biológica de nitrógeno, permitiendo así una evaluación más precisa del aporte real de los inoculantes al contenido total de nitrógeno en la planta.

Realizar un análisis microbiológico de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) en el suelo antes de iniciar el experimento, con el objetivo de determinar la cantidad de bacterias diazotróficas presentes de forma natural, lo que permitiría ajustar la aplicación de los inoculantes.

Realizar una evaluación costo-beneficio del experimento considerando los costos asociados a los diferentes niveles de fertilizante nitrogenado y los inoculantes, para identificar la estrategia más rentable y sostenible en el contexto agrícola de la región.

### Referencias

- A., M., Braa, V. y Castro-Sowinski, S. (2012). Legume Crops, Importance and Use of Bacterial Inoculation to Increase Production. En A. Goyal (Ed.), *Crop Plant*. InTech. <https://doi.org/10.5772/37413>
- Adams, M. A., Turnbull, T. L., Sprent, J. I. y Buchmann, N. (2016). Legumes are different: Leaf nitrogen, photosynthesis, and water use efficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(15), 4098–4103. <https://doi.org/10.1073/pnas.1523936113>
- Athul, P. P., Patra, R. K., Sethi, D., Panda, N., Mukhi, S. K., Padhan, K., Sahoo, S. K., Sahoo, T. R., Mangaraj, S., Pradhan, S. R. y Pattanayak, S. K. (2022). Efficient native strains of rhizobia improved nodulation and productivity of French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under rainfed condition. *Frontiers in Plant Science*, 13, Artículo 1048696. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1048696>
- Bender, F. R., Alves, L. C., Da Silva, J. F. M., Ribeiro, R. A., Pauli, G., Nogueira, M. A. y Hungria, M. (2022). Microbiome of Nodules and Roots of Soybean and Common Bean: Searching for Differences Associated with Contrasting Performances in Symbiotic Nitrogen Fixation. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 12035. <https://doi.org/10.3390/ijms231912035>
- Bernal, G. y Graham, P. H. (2001). Diversity in the rhizobia associated with *Phaseolus vulgaris* L. in Ecuador, and comparisons with Mexican bean rhizobia. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(6), 526–534. <https://doi.org/10.1139/w01-037>
- Chibeba, A. M., Kyei-Boahen, S., Fátima Guimarães, M. de, Nogueira, M. A. y Hungria, M. (2020). Towards sustainable yield improvement: field inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and co-inoculation with *Azospirillum* in Mozambique. *Archives of Microbiology*, 202(9), 2579–2590. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01976-y>
- Da Jesus, E. C., Leite, R. d. A., Bastos, R. d. A., Da Aragão, O. O. S. y Araújo, A. P. (2018). Co-inoculation of *Bradyrhizobium* stimulates the symbiosis efficiency of *Rhizobium* with common bean. *Plant and Soil*, 425(1-2), 201–215. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3541-1>
- Dardanelli, M. S., Fernández de Córdoba, F. J., Espuny, M. R., Rodríguez Carvajal, M. A., Soria Díaz, M. E., Gil Serrano, A. M., Okon, Y. y Megías, M. (2008). Effect of *Azospirillum brasilense* coinoculated with *Rhizobium* on *Phaseolus vulgaris* flavonoids and Nod factor production under salt stress. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(11), 2713–2721. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.06.016>
- Floria Bertsch. (2009). *Absorción de nutrientes por los cultivos*.
- Fukami, J., Cerezini, P. y Hungria, M. (2018). *Azospirillum*: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *AMB Express*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0608-1>
- García-Soto, I., Andersen, S. U., Monroy-Morales, E., Robledo-Gamboa, M., Guadarrama, J., Aviles-Baltazar, N. Y., Serrano, M., Stougaard, J. y Montiel, J. (2024). A collection of novel *Lotus japonicus* LORE1 mutants perturbed in the nodulation program induced by the *Agrobacterium pusense* strain IRBG74. *Frontiers in Plant Science*, 14, Artículo 1326766. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1326766>

- Horácio, E. H., Zambrano Gavilanes, F. E., Feliciano, M. V., Moraes, J. G. de, Zucareli, C., Andrade, D. S., Maddela, N. R. y Prasad, R. (2024). Exploring the interaction effects between common bean cultivars and rhizobia inoculation on plant growth and yield. *Journal of Agriculture and Food Research*, 15, 100926. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100926>
- Hungria, M., Nogueira, M. A. y Araujo, R. S. (2015). Soybean Seed Co-Inoculation with Bradyrhizobium spp. and Azospirillum brasilense: A New Biotechnological Tool to Improve Yield and Sustainability. *American Journal of Plant Sciences*, 06(06), 811–817. <https://doi.org/10.4236/ajps.2015.66087>
- Kyei-Boahen, S., Savala, C. E. N., Chikoye, D. y Abaidoo, R. (2017). Growth and Yield Responses of Cowpea to Inoculation and Phosphorus Fertilization in Different Environments. *Frontiers in Plant Science*, 8, Artículo 646. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00646>
- Leite, R. d. A., Martins, L. C., Ferreira, L. V. d. S. F., Barbosa, E. S., Alves, B. J. R., Zilli, J. E., Araújo, A. P. y Da Jesus, E. C. (2022). Co-inoculation of Rhizobium and Bradyrhizobium promotes growth and yield of common beans. *Applied Soil Ecology*, 172, 104356. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104356>
- Lindström, K. y Mousavi, S. A. (2020). Effectiveness of nitrogen fixation in rhizobia. *Microbial Biotechnology*, 13(5), 1314–1335. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13517>
- Mansouri, L. M., Kheloufi, A., Belatreche, R., Heleili, N. y Boukhatem, Z. F. (2020). Effect of Nitrogen Fertilizer on Growth, Flowering, Fruiting and Nodulation of Three Varieties of Common Bean in the Arid Region of Aïn Naga (Biskra, Algeria). *Cercetari Agronomice in Moldova*, 53(1), 19–35. <https://doi.org/10.46909/cerce-2020-002>
- Marschner. (2012). *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-63043-9>
- Nleya, T., Walley, F. L. y Vandenberg, A. (2009). Response of Determinate and Indeterminate Common Bean Genotypes to Rhizobium Inoculant in a Short Season Rainfed Production System in the Canadian Prairie. *Journal of Plant Nutrition*, 32(1), 44–57. <https://doi.org/10.1080/01904160802531001>
- Nosheen, S., Ajmal, I. y Song, Y. (2021). Microbes as Biofertilizers, a Potential Approach for Sustainable Crop Production. *Sustainability*, 13(4), 1868. <https://doi.org/10.3390/su13041868>
- Pankievicz, V. C. S., Irving, T. B., Maia, L. G. S. y Ané, J.-M. (2019). Are we there yet? The long walk towards the development of efficient symbiotic associations between nitrogen-fixing bacteria and non-leguminous crops. *BMC Biology*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12915-019-0710-0>
- Perez-Ramrez, N. O., Rogel, M. A., Wang, E., Castellanos, J. Z. y Martinez-Romero, E. (1998). Seeds of Phaseolus vulgaris bean carry Rhizobium etli. *FEMS Microbiology Ecology*, 26(4), 289–296. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1998.tb00513.x>
- Puente, M. L., Gualpa, J. L., Lopez, G. A., Molina, R. M., Carletti, S. M. y Cassán, F. D. (2018). The benefits of foliar inoculation with Azospirillum brasilense in soybean are explained by an auxin signaling model. *Symbiosis*, 76(1), 41–49. <https://doi.org/10.1007/s13199-017-0536-x>
- Quelas, J. I., Mesa, S., Mongiardini, E. J., Jendrossek, D. y Lodeiro, A. R. (2016). Regulation of Polyhydroxybutyrate Synthesis in the Soil Bacterium Bradyrhizobium diazoefficiens. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(14), 4299–4308. <https://doi.org/10.1128/aem.00757-16>

- Quilbé, J., Montiel, J., Arrighi, J.-F. y Stougaard, J. (2022). Molecular Mechanisms of Intercellular Rhizobial Infection: Novel Findings of an Ancient Process. *Frontiers in Plant Science*, *13*, Artículo 922982. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.922982>
- Reinprecht, Y., Schram, L., Marsolais, F., Smith, T. H., Hill, B. y Pauls, K. P. (2020). Effects of Nitrogen Application on Nitrogen Fixation in Common Bean Production. *Frontiers in Plant Science*, *11*, Artículo 1172. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01172>
- Yasuda, M., Dastogeer, K. M. G., Sarkodee-Addo, E., Tokiwa, C., Isawa, T., Shinozaki, S. y Okazaki, S. (2022). Impact of *Azospirillum* sp. B510 on the Rhizosphere Microbiome of Rice under Field Conditions. *Agronomy*, *12*(6), 1367. <https://doi.org/10.3390/agronomy12061367>