

**Evaluación de la nodulación y rendimiento de  
líneas mejoradas de frijol en condiciones de  
bajo contenido de nitrógeno**

**Juan Carlos Nuñez Rivera**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano  
Honduras**

Noviembre, 2015

ZAMORANO  
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

# **Evaluación de la nodulación y rendimiento de líneas mejoradas de frijol en condiciones de bajo contenido de nitrógeno**

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

Presentado por

**Juan Carlos Nuñez Rivera**

**Zamorano, Honduras**

Noviembre, 2015

# **Evaluación de la nodulación y rendimiento de líneas mejoradas de frijol en condiciones de bajo contenido de nitrógeno**

Presentado por:

Juan Carlos Nuñez Rivera

Aprobado:

---

Juan Carlos Rosas, Ph.D.  
Asesor Principal

---

John Jairo Hincapié, Ph.D.  
Director  
Departamento Ciencia y  
Producción Agropecuaria

---

Daniel Josué Valle, Ing. Agr.  
Asesor secundario

---

Raúl H. Zelaya, Ph.D.  
Decano académico

## Evaluación de la nodulación y rendimiento de líneas mejoradas de frijol en condiciones de bajo contenido de nitrógeno

Juan Carlos Nuñez Rivera

**Resumen:** El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las fuentes principales de proteínas en el sector rural. En Centro América, su cultivo es realizado principalmente por pequeños agricultores de recursos limitados. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de nodulación y las diferencias en crecimiento y rendimiento de grano e identificar líneas mejoradas con superior nodulación y rendimiento de grano de líneas de frijol bajo condiciones de bajo contenido de nitrógeno (N) en el suelo. Dos ensayos de campo fueron conducidos en un lote bajo en materia orgánica (2.0%) y N total (0.10%), en unidades experimentales de 1.5 m de ancho y 2.5 m de largo. Se sembraron dos hileras por cama distanciadas a 40 cm y 10 cm entre plantas. Se sembró una parcela sin *Rhizobium* y otra inoculada con *Rhizobium* mezcla de dos cepas (CIAT 632 y 899). También se condujo un ensayo en camas o bancales con un sustrato suelo: arena (1:1) bajo en M.O. (1.2%) y N total (0.06%). La unidad experimental fueron surcos individuales distanciados a 0.5 m entre surcos y 1.5 m de largo conteniendo 15 plantas. En los ensayos se utilizaron 10 tratamientos (ocho líneas avanzadas, un testigo comercial Amadeus 77 y un testigo no-nodulador R99), que fueron distribuidos en un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Se evaluaron la nodulación (escala 1-9), número de raíces basales, peso seco de follaje (PSF) a la floración; el PSF y de vainas (PSV) y el índice de partición de vainas (IPV) al llenado de vainas; y el PSV y de semillas (PSS) y el índice de cosecha, y el rendimiento y peso seco de 100 semillas (PCS) a la madurez de cosecha. Se realizaron los análisis de varianza y separación de medias por DMS (0.05) y correlación lineal con el programa Statistix 8.1®. En los ensayos de campo, las líneas con mayor nodulación fueron FBN 1211-102, FBN 1211-66 y FBN 12-43. No se observaron diferencias significativas en PSF y PSV, pero si en el IPV. Se observaron diferencias significativas para el IC y PCS, pero no en el rendimiento en el ensayo con y sin *Rhizobium*. Las diferencias entre las líneas y el no-nodulador R99 se debieron a efectos de la nodulación en las condiciones de bajo N. En el ensayo en los bancales se observaron diferencias significativas entre las líneas FBN y el testigo R99 no nodulador en el número de raíces basales y la nodulación a la floración, y en el IC y rendimiento a la madurez de cosecha. El comportamiento del testigo comercial Amadeus 77 fue similar a las líneas FBN. En los bancales, la nodulación estuvo correlacionada con el PSF ( $r=0.86^{**}$ ) a la floración, y con el rendimiento a la madurez de cosecha ( $r=0.79^{**}$ ).

**Palabras claves:** Fijación biológica de nitrógeno, índices de partición de vainas y de cosecha, *Rhizobium*.

**Abstract.** Common beans (*Phaseolus vulgaris L.*) is one of the main sources of protein in the rural sector. In Central America, the crop is mainly conducted by small farmers with limited resources. The objective of this study was to evaluate the capacity of nodulation and the differences on growth and seed yield and to identify improved lines with better nodulation and yield under low nitrogen (N) soil conditions. Two field trials were conducted in a plot low in organic material (2.0%) and N total (0.10%), using 1.5 m wide and 2.5 m long experimental units. Two rows were sown in each bed at a distance of 40 cm and 10 cm between plants. One plot was not inoculated with *Rhizobium* and the other inoculated with a mix of two strains (CIAT 632 y 899). An additional trial was conducted in terraces containing a soil: sand (1:1) substrate low in organic material (1.2%) and N total (0.06%). The experimental unit were individual row-plots of 0.5 m between them and 1.5 m long containing 15 plants. The trials included 10 treatments (8 advanced lines, one commercial check Amadeus 77 and one non-nodulated line R99) distributed in a randomized complete block design with four replications. Trait evaluations included nodulation (1-9 scale), number of basal roots and shoot dry weight (PSF) at flowering stage of development; PSF, pods dry weight (PSV) and pod partition index (IPV) at pod filling stage; and PSV, seed dry weight (PSS), harvest index (IC), 100 seeds dry weight (PCS) and seed yield at harvest maturity. The data was analyzed using analyses of variance, means separation by LSD (0.05) and linear correlation with the program Statistix 8.1®. In the field trials, the lines with mayor nodulation were FBN 1211-102, FBN 1211-66 and FBN 12-43. They were not observed significant differences in PSF and PSV, but it was present in IPV. IC and PCS were significant differences were observed in, but not on seed yield in the trial with *Rhizobium*. The differences between the advanced lines and the no-nodulador R99 line were due to the effects of nodulation under the low N condition of the trial. In terraces trial significant differences were observed between lines and non-nod R99 check in number of basal roots and nodulation at flowering, and in IC and seed yield at harvest maturity. The performance of the commercial check Amadeus 77 was similar to FBN lines. In the terraces, the nodulation was correlated with PSF ( $r=0.86^{**}$ ) at flowering, and seed yield at harvest maturity ( $r= 0.79^{**}$ ).

**Key Words:** Biological nitrogen fixation, harvest index, pod partition index, *Rhizobium*.

## CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	v
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	vi
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>3</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>8</b>
<b>4. CONCLUSIONES.....</b>	<b>13</b>
<b>5. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>14</b>
<b>6. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>15</b>
<b>7. ANEXOS.....</b>	<b>17</b>

## INDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Resultados de los análisis de suelo del lote La Vega Cinco, Monte Redondo. Zamorano, 2015.....	4
2. Resultados de los análisis de suelo de los bancales con sustrato suelo: arena (1:1) del Programa de Investigaciones en Frijol. Zamorano, 2015.....	5
3. Líneas mejoradas de frijol provenientes del segundo ciclo de selección recurrente para el incremento de la nodulación y fijación biológica de nitrógeno a evaluadas en los ensayos de campo y bancales. Zamorano, 2015.....	5
4. Diferencias en promedio de los pesos secos de follaje (PSF) y de vainas (PSV) y del índice de partición de vainas (IPV) en la etapa fisiológica de llenado de vainas (R8) de 10 líneas de frijol crecidas en condiciones de campo de bajo N y sin inoculación con <i>Rhizobium</i> . La Vega Cinco, Zamorano, 2015.....	9
5. Diferencias en promedios de índice de cosecha (IC), peso seco de 100 semillas (PSC) a la madurez de cosecha de 10 líneas de frijol crecidas en condiciones de campo de bajo N y sin inoculación con <i>Rhizobium</i> . La Vega Cinco, Zamorano, 2015.....	9
6. Promedios en nodulación en la etapa de floración (R6), pesos secos de follaje (PSF) y de vainas (PSV) e índice de partición de vainas (IPV) en la etapa de llenado de vainas (R8) de 10 líneas de frijol en condiciones de campo de bajo N y con inoculación con <i>Rhizobium</i> . La Vega Cinco, Zamorano, 2015 .....	10
7. Diferencias en promedios de índice de cosecha (IC), peso seco de 100 semillas (PCS) y rendimiento de semilla en la madurez de cosecha de 10 líneas de frijol en condiciones de campo de bajo N e inoculadas con <i>Rhizobium</i> . La Vega Cinco, Zamorano, 2015.....	11

8. Promedios del número de raíces basales y nodulación en la etapa de floración (R6), e índice de cosecha (IC) y rendimiento de semilla a la madurez de cosecha, de 10 líneas de frijol crecidas en un sustrato suelo: arena (1:1) bajo en nitrógeno y con inoculación con <i>Rhizobium</i> . Zamorano, Honduras, 2015.....	12
9. Coeficientes de correlación lineal (r) entre la nodulación y número de raíces basales con el peso seco de follaje (PSF) y el rendimiento en el ensayo de bancales y con el PSF y rendimiento en el campo. Zamorano, 2015.....	12
Figuras	Página
1. Representación gráfica de la parcela experimental y los muestreos lote La Vega Cinco, Monte Redondo. Zamorano, Honduras 2015.....	6
Anexos	Página
1. Escala de nodulación (1-9) usada en el Programa de investigaciones en Frijol.....	17

## 1. INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es uno de los cultivos alimenticios más importantes en Latino América y África. El grano es consumido por la mayoría de las poblaciones rurales y urbanas de bajos recursos, y es una de las fuentes principales de proteínas en el sector rural. En Centro América, el cultivo del frijol es una actividad principalmente de pequeños agricultores de recursos limitados, por lo que la producción de este cultivo es influenciada por limitantes bióticos, incluyendo varias enfermedades, plagas y malezas; y limitantes abióticos, incluyendo suelos marginales de baja fertilidad, mayormente ubicados en laderas, y efectos de sequía y altas temperaturas causados por el cambio climático (Rosas 2011; Graham *et al.* 2003).

La mayoría de los suelos dedicados a la producción de frijol se caracterizan por condiciones de baja fertilidad, principalmente debido a bajo contenido de nitrógeno y fósforo (Graham *et al.* 2003). Una de las estrategias para contrarrestar los efectos del bajo contenido de nitrógeno en los suelos, es aprovechar la fijación simbiótica de nitrógeno (FBN) que se expresa en plantas leguminosas como resultado de su interacción con bacterias del suelo del género *Rhizobium*. En el cultivo de frijol, una interacción efectiva cepa *Rhizobium*-planta hospedera resulta de la infección de genotipos de frijol por cepas de *R. phaseoli*, *R. tropici*, *R. etli* y *R. leguminosarum*, la cual se expresa en la formación de nódulos de buen tamaño y de color rojizo en su interior, que indica una fijación de nitrógeno efectiva, la cual en condiciones de suelos de bajo contenido de nitrógeno resulta en incremento en el rendimiento de grano.

Una mayor nodulación y FBN se logra con una respuesta efectiva debido a la presencia de *Rhizobium* residente en algunos suelos. Sin embargo, muy pocos suelos agrícolas presentan poblaciones efectivas de *Rhizobium* residente. Debido a esto, se recomienda utilizar inoculantes preparados con cepas efectivas previamente seleccionadas, con el fin de garantizar una buena nodulación y los beneficios de la FBN en el crecimiento y productividad del cultivo.

Una gran variabilidad genética en la nodulación y FBN ha sido descrita anteriormente en el frijol común (Graham y Rosas 1977, 1978). Por otro lado, el mejoramiento del frijol común para lograr una mejor adaptación a suelos pobres en nitrógeno a través de mejoramiento y selección ha sido sugerido en otros estudios (McFerson *et al.* 1982; Rosas 1986; Rosas y Bliss 1986; Graham *et al.* 2003). Consecuentemente, una de las alternativas más viables para aumentar la productividad del frijol en suelos bajos en nitrógeno, es a través del mejoramiento genético de la capacidad de FBN.

En Zamorano, Honduras, se lleva a cabo un programa de mejoramiento genético para incrementar la nodulación del frijol común, utilizando el método de selección recurrente que permite recombinar esta característica asociada a una mayor FBN con otros caracteres deseables, como la resistencia a enfermedades, tolerancia a sequía y buen valor comercial del grano (Rosas 2011). En el presente estudio se evaluaron la nodulación, crecimiento y productividad de grano de líneas mejoradas provenientes del segundo ciclo de selección recurrente, bajo condiciones de suelo con bajo contenido de nitrógeno e inoculación con *Rhizobium*, con el objetivo de seleccionar líneas con mayor potencial de nodulación y FBN, para su posterior validación como variedades mejoradas en zonas productoras de frijol donde predominan las condiciones de baja fertilidad.

Desde el año 2010, el Programa de Investigaciones en Frijol (PIF) de Zamorano ha estado conduciendo un programa de selección recurrente para el incremento de la nodulación y FBN en frijol común. Al final del ciclo dos se han identificado ocho líneas promisorias superiores en nodulación con características deseables de resistencia a enfermedades, adaptación a estreses abióticos y de buenas características comerciales del grano, por lo que estas líneas avanzadas se están validando bajo el sistema regional de ensayos a través de la Red de Frijol de Centro América y El Caribe. Estas líneas son las que se incluyeron en este estudio para ser evaluadas en condiciones de campo y en camas de crecimiento acondicionadas para una evaluación efectiva de la nodulación y FBN, y su contribución al crecimiento y rendimiento de grano de estas líneas mejoradas.

El desarrollo de variedades de frijol con mejor adaptación a condiciones de suelos con bajo contenido de nitrógeno que predominan en sistemas de producción de pequeños agricultores de bajos recursos, resulta ser una alternativa que permite explotar la FBN derivada de la interacción de plantas hospederas y cepas de *Rhizobium* más eficientes. Variedades con mayor potencial de nodulación y FBN pueden ser desarrolladas a través de mejoramiento genético, lo que contribuiría a mejorar la adaptación y productividad del frijol bajo las condiciones limitantes de producción mencionadas (Rosas 1986; y Rosas y Bliss 1986).

Las dificultades que se presentan normalmente en el muestreo de raíces bajo condiciones de campo limita la medición precisa de la nodulación en plantas de frijol. Por ello, en Zamorano se ha acondicionado un sistema de camas (“bancales”) conteniendo un sustrato suelo: arena (relación 1:1) donde se pueden extraer las raíces de manera más eficiente, lo cual permite evaluar la nodulación de manera más efectiva y con menos errores, y respaldar los resultados que se obtengan en el campo.

El objetivo de este proyecto especial fue evaluar la capacidad de nodulación y las diferencias en crecimiento y rendimiento de grano de líneas mejoradas de frijol común, e identificar líneas mejoradas con superior nodulación y rendimiento de grano, y otras características agronómicas y comerciales deseables, para su utilización como variedades comerciales o progenitores para el mejoramiento genético.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, ubicada a 30 km de Tegucigalpa, Honduras, en los lotes y las facilidades del PIF en Zamorano, entre los meses de mayo a agosto de 2015. La precipitación y la temperatura promedio anual de Zamorano es de 1200 mm y 24.5°C respectivamente, ubicado a 800 msnm. Se condujeron dos ensayos, un ensayo de campo fue conducido en La Vega cinco de Monte Redondo; y el siguiente ensayo en las camas o bancales ubicados en las facilidades del PIF.

**Ensayos de campo.** Los ensayos de campo fueron conducido en el lote La Vega cinco de Monte Redondo, el cual presenta un bajo contenido de materia orgánica (2.0%) y N total (0.10%) (Cuadro 1). Las unidades o parcelas experimentales estuvieron conformadas por camas anchas distanciadas a 1.5 m y de 2.5 m de largo. Se sembraron dos hileras por cama distanciadas a 40 cm una de otra, colocándose una semilla cada 10 cm para un total de 50 semillas por parcela. Se sembró una parcela sin *Rhizobium* y otra inoculada con *Rhizobium*.

En los ensayos se utilizaron 10 tratamientos (genotipos de frijol), incluyendo ocho líneas mejoradas seleccionadas del segundo ciclo de selección recurrente, un testigo comercial, Amadeus 77, y un testigo no nodulador, la línea experimental R99 (Cuadro 3). Estos tratamientos fueron distribuidos en un diseño de bloques completos al azar utilizando cuatro repeticiones. Un ensayo se condujo sin inoculación con *Rhizobium* y el otro con inoculación como se describe a continuación, manejados como ensayos separados.

Para la inoculación con *Rhizobium* se usó un inoculante mezcla de dos cepas (CIAT 899 de *R. tropici* y CIAT 632 de *R. etli*) a base de turba aplicada a la semilla previa a la siembra en todos los tratamientos (genotipos de frijol). No se aplicaron fertilizantes. El manejo de las parcelas en cuanto al control de malezas, insectos y enfermedades fue el recomendado en la zona (Rosas 2003). Se usó riego por aspersion para mantener una humedad adecuada en el ensayo de campo.

**Cuadro 1.** Resultados de los análisis de suelo del lote La Vega cinco, Monte Redondo. Zamorano, 2015.

pH <sup>a</sup>	M.O. <sup>b</sup>	N total <sup>c</sup>	P <sup>d</sup>	K <sup>e</sup>	Ca <sup>e</sup>	Mg <sup>e</sup>	Na <sup>e</sup>
	%		mg/kg (Extractable)				
5.86	2.0	0.10	19	320	1565	175	56
	Bajo	Bajo	Medio	Alto	Medio	Bajo	Medio

<sup>a</sup> Relación suelo, agua 1:1

<sup>b</sup> Método de Walkley & Black.

<sup>c</sup> Estimado como 5% de la M.O.

<sup>d</sup> Solución extractora Mehlich tres, determinado por colorimetría.

<sup>e</sup> Solución extractora Mehlich tres, determinado por espectrofotometría de absorción atómica.

**Ensayo en bancales o camas.** El segundo ensayo se condujo en las camas o bancales del PIF que contienen un sustrato mezcla de suelo y arena (1:1), cuyos análisis indicaron una baja concentración de materia orgánica y N total, y bajo contenido de magnesio (Cuadro 2). Se sembraron 48 surcos distanciados a 0.7 m entre surcos. La unidad experimental fue un surco conteniendo 15 plantas distanciadas a 10 cm.

El ensayo incluyó los mismos 10 tratamientos (genotipos de frijol) usados en el campo, incluyendo ocho líneas mejoradas seleccionadas del segundo ciclo de selección recurrente, un testigo comercial, Amadeus 77, y un testigo no nodulador, la línea experimental R99 (Cuadro 3). Los tratamientos fueron distribuidos en un diseño de bloques completos al azar utilizando cuatro repeticiones.

Previo a la siembra la semilla fue inoculada con una mezcla de dos cepas de *Rhizobium* (CIAT 899 de *R. tropici* y CIAT 632 de *R. etli*). En el sistema de bancales se evaluó de manera más efectiva la nodulación a la floración (etapa de desarrollo R6), ya que en el campo la extracción de raíces con nódulos es más difícil y frecuentemente se presenta un mayor error experimental por las dificultades en el muestreo. En este ensayo tampoco se aplicaron fertilizantes. El manejo de las parcelas en cuanto al control de malezas, insectos y enfermedades fue el recomendado en la zona (Rosas 2003). Se usó riego por aspersión para mantener una humedad adecuada en los bancales.

**Cuadro 2.** Resultados de los análisis de suelo de los bancales con sustrato suelo: arena (1:1) del Programa de Investigaciones en Frijol. Zamorano, 2015.

pH <sup>a</sup>	M.O. <sup>b</sup>	N total <sup>c</sup>	P <sup>d</sup>	K <sup>e</sup>	Ca <sup>e</sup>	Mg <sup>e</sup>	Na <sup>e</sup>
	%		mg/kg (Extractable)				
6.52	1.18	0.06	52	180	1283	135	19
	Bajo	Bajo	Alto	Alto	Alto	Bajo	Normal

<sup>a</sup> Relación suelo, agua 1:1

<sup>b</sup> Método de Walkley & Black.

<sup>c</sup> Estimado como 5% de la M.O.

<sup>d</sup> Solución extractora Mehlich tres, determinado por colorimetría.

<sup>e</sup> Solución extractora Mehlich tres, determinado por espectrofotometría de absorción atómica.

**Cuadro 3.** Líneas mejoradas de frijol provenientes del segundo ciclo de selección recurrente para el incremento de la nodulación y fijación biológica de nitrógeno evaluadas en los ensayos de campo y bancales. Zamorano, 2015.

Tratamiento	Línea	Pedigrí
1	FBN 1205-28	IBC 306-34/BRT 944-39
2	FBN 1211-102	RS 951-84/IBC 306-62
3	FBN 1211-66	RS 951-84/IBC 306-62
4	FBN 1206-75	RS 813-28/SRS 2-34-89
5	FBN 1202-72	SRS 2-34-90/BRT 944-13
6	FBN 1205-18	IBC 306-34/BRT 944-39
7	FBN 1203-43	IBC 301-91/BRT 941-22
8	FBN 1206-54	RS 813-28/SRS 2-34-89
9	R 99	Testigo no-nodulador
10	Amadeus 77	Testigo variedad comercial

## Variables a medir

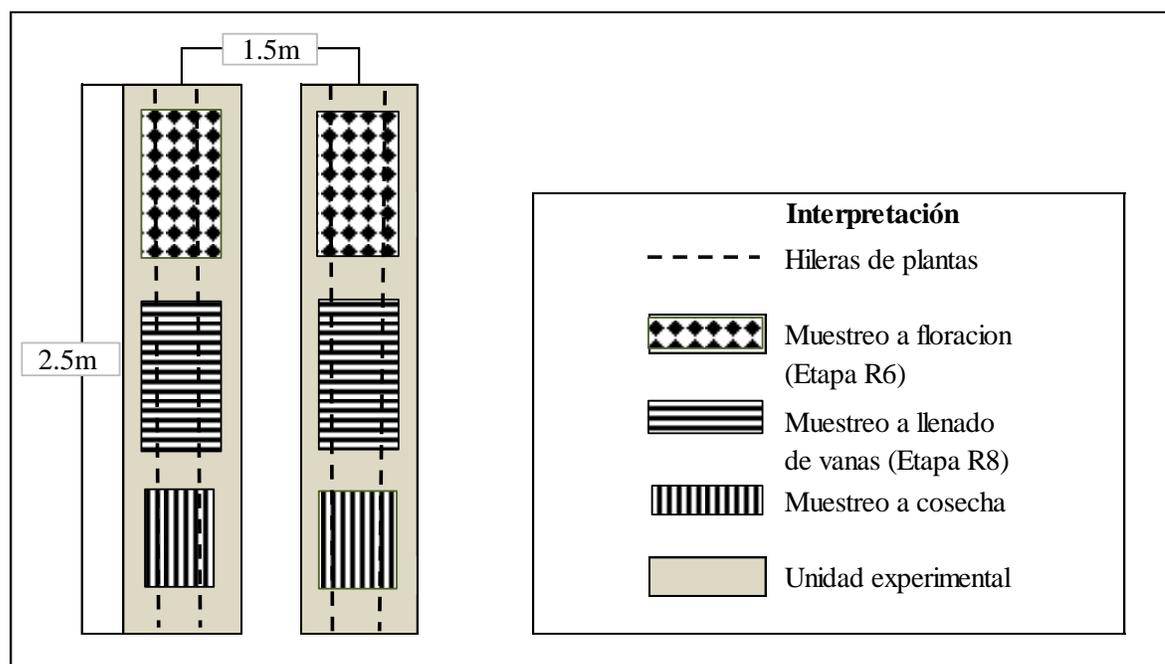
## Ensayos de campo

**Muestreo a floración (etapa fisiológica R6).** En cada ensayo de campo (con y sin inoculación con *Rhizobium*), se cosecharon 5 plantas de cada unidad experimental en el campo (figura. 1), y de las camas o bancales siguiendo el procedimiento siguiente. Se separó las raíces de la parte aérea o follaje en el campo cortando en la base del tallo con una tijera de poda. Enjuague de las raíces en un recipiente con agua y colocación en envases con etanol al 30%, y el follaje en bolsas de papel, para su traslado. En el laboratorio se realizó la evaluación de la nodulación usando una escala 1-9 (1= 0-10 nódulos pequeños; 9= >40 nódulos grandes) utilizada para este fin en el PIF de Zamorano (Rosas, 2015) (Anexo 1). El

follaje fue picado con tijera de poda y dejado por dos días en una casa de malla para facilitar el secado previo antes de colocar las muestras a 70 °C por 72 h, para luego determinar el peso seco de follaje (PSF).

**Muestreo al llenado de vainas (etapa fisiológica R8).** Se cosecharon 5 plantas de la parcela de campo cortando los tallos con una tijera de poda a una pulgada de altura aproximadamente, separando las vainas del follaje y colocando ambas después de ser picadas en bolsas de papel por 1-2 días en un invernadero o área cubierta para facilitar la deshidratación, previo a ser colocadas en una estufa a 70 °C por 72 h para determinar pesos secos de follaje (PSF), vainas (PSV) e índice de partición de vainas ( $IPV = PSV / (PSF + PSV)$ ) (Beebe *et al.* 2013).

**Muestreo a la madurez de cosecha (plantas secas).** En el campo, se cosecharon 10 plantas/parcela (figura 1), para determinar los pesos secos de semillas (PSS), vainas (PSV) y el índice de cosecha ( $IC = PSS / (PSV + PSS)$ ) (Beebe *et al.* 2013). Se determinó además el peso seco de 100 semillas (PCS). El rendimiento de grano se expresó en kg/ha al 14% de humedad utilizando una densidad de 133,333 plantas /ha. En el ensayo de bancales se cosecharon 10 plantas /parcela.



**Figura 1.** Representación gráfica de la parcela experimental y las áreas de muestreo del ensayo de campo conducido en La Vega cinco, Monte Redondo, Zamorano, Honduras, 2015.

## **Ensayo en bancales**

**Muestreo a floración (etapa fisiológica R6).** Se cosecharon 5 plantas de cada unidad experimental en los bancales o camas siguiendo el procedimiento siguiente. Se separó las raíces de la parte aérea o follaje cortando en la base del tallo con una tijera de poda. Se enjuagaron las raíces en un recipiente con agua y colocaron en envases con etanol al 30%, y el follaje en bolsas de papel, para su traslado. En el laboratorio se efectuó la evaluación de la nodulación usando una escala 1-9 (1= 0-10 nódulos pequeños; 9= >40 nódulos grandes) (Rosas 2015) (Anexo 1). Luego se picó el follaje con tijera de poda y se dejó por dos días en un invernadero o área cubierta para facilitar el secado previo antes de colocar las muestras a 70 °C por 72 h, para luego determinar el peso seco de follaje (PSF). En este ensayo también se determinó el número de raíces basales por planta.

**Muestreo a la madurez de cosecha (plantas secas).** Se cosecharon 10 plantas/parcela para determinar los pesos secos de semillas (PSS), vainas (PSV) y el índice de cosecha ( $IC = PSS / (PSV + PSS)$ ) (Beebe *et al.* 2013). Se determinó además el peso seco de 100 semillas (PCS). El rendimiento de grano se expresó en kg/ha al 14% de humedad utilizando una densidad de 133,333 plantas/ha.

Los datos de ambos ensayos incluyendo la nodulación y el PSF en la etapa de floración (R6), los de PSF, PSV e IPV en la etapa de llenado de vainas (R8), y los de PSV, PSS, IC, PCS y el rendimiento de semilla a la madurez de cosecha, se evaluaron mediante análisis de varianza y separación de medias por el método de diferencia mínima significativa (DMS). Se hicieron análisis de correlación lineal entre nodulación y PSF y número de raíces basales a la floración y el rendimiento de semilla. Los datos fueron analizados en el programa estadístico Statistix® 8.1.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Ensayos de campo.** Debido a las dificultades en el manejo de parcelas con y sin inoculación con *Rhizobium* y para evitar la posible contaminación debido a que por la randomización de las parcelas estas pueden quedar ubicadas una al costado de la otra, los ensayos de campo con y sin inoculación se manejaron por separado, y por esa misma razón los resultados se discuten por separado.

**Ensayo sin inoculación con *Rhizobium*:** En la evaluaciones en la etapa de llenado de vainas no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (genotipos de frijol) en los pesos secos de follaje (PSF) y de vainas (PSV) pero si en el índice de partición de vainas ( $P < 0.01$ ) (Cuadro 4). Estos resultados indican diferencias entre las líneas de frijol en cuanto a la distribución de fotosintatos y productos asimilados de la parte vegetativa (follaje) hacia el componente reproductivo (vainas) sugiriendo mayor eficiencia fisiológica (Beebe *et al.* 2013). Bajo las condiciones de suelo con baja concentración de N como La Vega cinco del ensayo, las líneas FBN 1211-66, FBN 1205-18 y FBN 1203-43 presentaron un mayor IPV, sobre todo en relación al testigo no-nodulador R99.

A la madurez de cosecha no se presentaron diferencias significativas entre las líneas de frijol para el índice de cosecha (IC) y el rendimiento, pero si para el peso seco de 100 semillas (PCS) como se indica en el (Cuadro 5). Aunque las diferencias en PCS pueden deberse a diferencias mayormente genéticas por ser un carácter de alta heredabilidad (White *et al.* 1994, Muñoz *et al.* 2006), sin embargo la expresión de este carácter es afectada por las condiciones de cultivo, en especial cuando existe algún tipo de estrés como es el caso de la baja concentración de N del ensayo. Los efectos de bajo N se observa más acentuado en la línea no-noduladora, en la cual la deficiencia de N es más obvia por falta de nodulación y por ende de la capacidad de usar N atmosférico a través de la fijación biológica de nitrógeno (FBN).

**Cuadro 4.** Diferencias en promedio de los pesos secos de follaje (PSF) y de vainas (PSV) y del índice de partición de vainas (IPV) en la etapa fisiológica de llenado de vainas (R8) de 10 líneas de frijol crecidas en condiciones de campo de bajo N y sin inoculación con *Rhizobium*. La Vega cinco, Zamorano, 2015.

Tratamiento	Línea	PSF	PSV	IPV
		(g)		
1	FBN 1205-28	49.1 a §	38.3 ab	0.44 cd
2	FBN 1211-102	43.6 abc	38.1 ab	0.46 bcd
3	FBN 1211-66	38.0 abc	44.7 a	0.54 a
4	FBN 1206-75	43.8 abc	44.7 a	0.51 abc
5	FBN 1202-72	44.2 abc	39.7 ab	0.47 abcd
6	FBN 1205-18	36.2 ab	42.6 ab	0.54 a
7	FBN 1203-43	42.2 abc	51.0 a	0.54 a
8	FBN 1206-54	47.2 ab	44.2 a	0.48 abcd
9	R 99	40.4 abc	29.6 b	0.42 d
10	Amadeus 77	35.0 c	39.0 ab	0.53 ab
Probabilidad		0.28 <sup>ns</sup>	0.20 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>**</sup>
Coeficiente de variación (%)		19.1	22.8	10.3
DMS (0.05)		5.7	6.6	0.04

§= Medias con letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). \*\*, ns= Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) y no significativas, respectivamente. DMS= diferencia mínima significativa.

**Cuadro 5.** Diferencias en promedios de índice de cosecha (IC), peso seco de 100 semillas (PCS) a la madurez de cosecha de 10 líneas de frijol crecidas en condiciones de campo de bajo N y sin inoculación con *Rhizobium*. La Vega cinco, Zamorano, 2015.

Tratamiento	Línea	IC	PCS	Rendimiento
			(g)	(kg/ha)
1	FBN 1205-28	0.83 a §	22.7 cde	1857 b
2	FBN 1211-102	0.78 a	21.6 def	2799 a
3	FBN 1211-66	0.77 a	20.7 f	2362 ab
4	FBN 1206-75	0.77 a	25.1 ab	1929 b
5	FBN 1202-72	0.76 a	23.7 abc	1877 b
6	FBN 1205-18	0.74 a	25.3 a	1722 b
7	FBN 1203-43	0.78 a	21.6 def	1735 b
8	FBN 1206-54	0.77 a	23.4 bcd	2155 ab
9	R 99	0.52 b	14.7 g	1651 b
10	Amadeus 77	0.77 a	21.2 ef	2196 ab
Probabilidad		0.06 <sup>ns</sup>	0.00 <sup>**</sup>	0.09 <sup>ns</sup>
Coeficiente variación (%)		15.0	5.9	25.1
DMS (0.05)		0.08	0.92	360

§= Medias con letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). \*\*, n.s.= Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) y no significativas entre los tratamientos. DMS= diferencia mínima significativa.

Aunque las diferencias en el rendimiento entre las líneas sólo son significativas al  $P > 0.09$ , se observa diferencias entre la línea FBN 1211-102 y la R99 no-noduladora y algunas líneas FBN, lo cual se puede atribuir a diferencias en la capacidad de nodulación y FBN, pero no es posible explicarlo porque en este ensayo no se inoculó con *Rhizobium* y por ese motivo no se evaluó la nodulación.

**Ensayo con inoculación con *Rhizobium*:** En la etapa de floración (R6) de este ensayo se evaluó la nodulación en muestras de 5 plantas/parcela, utilizando la escala 1-9 (Rosas, 2005). Las diferencias entre líneas fue significativa entre líneas FBN y de estas con la línea no-noduladora R99 (Cuadro 6). Las líneas con mayor nodulación fueron FBN 1211-102, FBN 1211-66 y FBN 12-43. En la etapa de llenado de vainas (R8) no se observaron diferencias significativas en PSF y PSV, pero si en el IPV, como en el ensayo de campo sin inoculación. La mayor eficiencia fisiológica expresada a través del IPV se registró en las líneas FBN 1205-28 y nuevamente en la línea FBN 1211-66. La línea no-noduladora R99 presentó el IPV más bajo, lo que indica su ineficiencia bajo condiciones de bajo N, atribuido a la falta de su capacidad de nodulación.

**Cuadro 6.** Promedios en nodulación en la etapa de floración (R6), pesos secos de follaje (PSF) y de vainas (PSV) e índice de partición de vainas (IPV) en la etapa de llenado de vainas (R8) de 10 líneas de frijol en condiciones de campo de bajo N y con inoculación con *Rhizobium*. La Vega cinco, Zamorano, 2015.

Tratamiento	Línea	Nodulación	PSF	PSV	IPV
		(1-9)	(g)	(g)	
1	FBN 1205-28	4.0 ab §	46.4 a	35.3 ab	0.43 a
2	FBN 1211-102	5.0 a	45.8 a	42.1 a	0.48 cd
3	FBN 1211-66	5.0 a	35.5 a	45.5 a	0.56 a
4	FBN 1206-75	4.5 ab	37.2 a	38.4 ab	0.51 bc
5	FBN 1202-72	4.0 ab	44.2 a	38.6 a	0.46 de
6	FBN 1205-18	3.0 b	38.3 a	42.6 a	0.53 ab
7	FBN 1203-43	4.8 a	37.3 a	41.6 a	0.53 ab
8	FBN 1206-54	4.5 ab	49.4 a	50.9 a	0.50 bcd
9	R 99	1.0 c	39.3 a	23.6 b	0.38 f
10	Amadeus 77	4.0 <sup>ab</sup>	35.8 a	40.2 a	0.53 ab
Probabilidad		0.00 **	0.62 <sup>ns</sup>	0.14 <sup>ns</sup>	0.00 **
Coeficiente variación (%)		29.4	27.6	27.6	6.4
DMS (0.05)		0.8	8	7.8	0.02

§= Medias con letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). \*\*, ns= Diferencias significativas ( $P \leq 0.01$ ) y no significativas entre tratamientos. DMS= diferencia mínima significativa.

En las evaluaciones a madurez de cosecha de este ensayo de campo inoculado con *Rhizobium* se observó diferencias significativas para el IC y PCS, pero no para rendimiento (Cuadro 7).

En cuanto al IC, todas las líneas FBN y el testigo comercial Amadeus 77 fueron superiores al testigo no-nodulador R99, mostrando mejor remobilización de fotosintatos y nutrientes del follaje hacia las semillas formadas. Como en el ensayo anterior de campo, las diferencias entre las líneas se deben mayormente a diferencias genéticas, pero en el caso del no-nodulador a efectos de las condiciones de bajo N y falta de nodulación.

**Cuadro 7.** Diferencias en promedios de índice de cosecha (IC), peso seco de 100 semillas (PCS) y rendimiento de semilla en la madurez de cosecha de 10 líneas de frijol en condiciones de campo de bajo N e inoculadas con *Rhizobium*. La Vega cinco, Zamorano, 2015.

Tratamiento	Línea	IC	PCS	Rendimiento
			(g)	(kg/ha)
1	FBN 1205-28	0.78 a §	21.2 cd	2072 ab
2	FBN 1211-102	0.76 a	22.9 abc	2423 a
3	FBN 1211-66	0.71 a	19.6 d	1762 ab
4	FBN 1206-75	0.78 a	24.5 a	2195 ab
5	FBN 1202-72	0.76 a	24.3 ab	1845 ab
6	FBN 1205-18	0.76 a	24.3 ab	1784 ab
7	FBN 1203-43	0.78 a	21.9 bcd	2070 ab
8	FBN 1206-54	0.77 a	22.4 abc	2064 ab
9	R 99	0.34 b	12.0 e	1602 b
10	Amadeus 77	0.76 a	20.7 cd	2378 a
Probabilidad (<0.05)		0.00 **	0.00 **	0.36 <sup>ns</sup>
Coeficiente variación (%)		17.7	7.8	24.8
DMS (0.05)		0.09	1.18	354

§= Medias con letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). \*\*, ns= Diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) y no significativas entre los tratamientos. DMS= diferencia mínima significativa.

La falta de diferencias significativas en el rendimiento de las líneas de frijol a pesar de algunas obvias diferencias en los valores absolutos, se puede explicar principalmente por el alto coeficiente de variación (24.8%) presentado en la mediciones de esta variable. Para otras variables que resultaron sin diferencias significativas también se observaron coeficientes de variación altos (>20%). Para próximos ensayos de campo de este tipo se sugiere utilizar un número mayor de repeticiones para mejorar la precisión de estos.

**Ensayo en bancales:** En el ensayo en los bancales o camas con sustrato suelo: arena (1:1) de baja concentración de materia orgánica y N, y con inoculación con *Rhizobium*, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en el número de raíces basales y nodulación a la floración (Cuadro 8). La mayor diferencia en raíces basales y en nodulación se presentó entre las líneas FBN y el testigo R99 no-nodulador. El comportamiento del testigo comercial Amadeus 77 fue similar a las líneas FBN. Por otro lado, se presentaron diferencias significativas en el IC y rendimiento, siguiendo el mismo patrón anterior, es decir entre las líneas FBN y el testigo R99.

**Cuadro 8.** Promedios del número de raíces basales y nodulación en la etapa de floración (R6), e índice de cosecha (IC) y rendimiento de semilla a la madurez de cosecha, de 10 líneas de frijol crecidas en un sustrato suelo: arena (1:1) bajo en nitrógeno y con inoculación con *Rhizobium*. La Vega cinco, Zamorano, Honduras, 2015.

Tratamiento	Línea	Raíces basales	Nodulación (1-9)	IC	Rendimiento (kg/ha)
1	FBN 1205-28	6.5 b §	7.0 a	0.76 ab	4710 a
2	FBN 1211-102	8.0 a	8.0 a	0.74 b	4580 a
3	FBN 1211-66	8.3 a	7.8 a	0.76 ab	4924 a
4	FBN 1206-75	8.3 a	7.5 a	0.78 a	4749 a
5	FBN 1202-72	7.8 a	6.8 a	0.76 ab	4789 a
6	FBN 1205-18	7.5 ab	7.5 a	0.78 a	4784 a
7	FBN 1203-43	7.8 a	6.8 a	0.77 a	4103 a
8	FBN 1206-54	8.0 a	8.0 a	0.77 a	4486 a
9	R 99	1.0 c	1.0 b	0.68 c	647 b
10	Amadeus 77	8.3 a	8.0 a	0.77 a	4383 a
Probabilidad		0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.00 **
Coeficiente variación (%)		17.2	9.9	2.1	15.6
DMS (0.05)		0.83	0.50	0.01	162

§= Medias con letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ), \*\*=Diferencias significativas entre los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ), DMS= diferencia mínima significativa.

Las diferencias debidas a la nodulación y por ende en FBN fueron muy obvias en cuanto a al vigor de las plantas (PSF) y el rendimiento de semilla en los bancales. Las plantas de la línea no- noduladora R99 desde las primeras etapas hasta la cosecha presentaron menor vigor y un amarilleamiento expresando los síntomas típicos de la deficiencia de N, lo cual afecto el rendimiento de esta línea en relación a las líneas FBN y Amadeus 77. Así mismo, la nodulación estuvo correlacionada con el PSF ( $r=0.86$  \*\*) a la floración, y con el rendimiento a la madurez de cosecha ( $0.79$  \*\*) en este ensayo (Cuadro 9).

**Cuadro 9.** Coeficientes de correlación lineal (r) entre la nodulación y número de raíces basales con el peso seco de follaje (PSF) y el rendimiento en el ensayo de bancales y con el PSF y rendimiento en el campo. Zamorano, 2015.

	Nodulación	Raíces basales
<b>Bancales</b>		
Peso de follaje en la etapa R6.....	0.86 **	0.86 **
Rendimiento a madurez de cosecha.....	0.79 **	
<b>La Vega 5 (campo)</b>		
Peso de follaje en la etapa R6.....	0.17 <sup>ns</sup>	
Rendimiento a madurez de cosecha.....	0.30 <sup>ns</sup>	

\*\*, <sup>ns</sup>= Diferencias significativas y no significativas entre los tratamientos ( $P \leq 0.01$ ).

## 4. CONCLUSIONES

- Los ensayos de campo indican que el índice de partición de vainas es más efectivo en estimar diferencias entre líneas de frijol que las mediciones directas de los pesos secos de follaje y de vainas, y pueden explicar mejor las diferencias en eficiencia fisiológica en líneas de frijol en condiciones de bajo N en el suelo.
- Para poder identificar las diferencias de la nodulación y sus contribuciones en el crecimiento y productividad del frijol en condiciones de bajo N se requiere complementar los ensayos de campo con otros, como la técnica de los bancales, que puedan determinar de manera más efectiva las diferencias en nodulación y la fijación biológica de N.
- Las líneas FBN superiores en nodulación y mejor comportamiento de campo y en los bancales representan un grupo de líneas promisorias para su validación como variedades (ya que poseen otros caracteres agronómicos y comerciales deseables), y su uso como progenitores para el siguiente ciclo de selección recurrente.

## **5. RECOMENDACIONES**

- Conducir los próximos ensayos de campo para evaluar nodulación en suelos bajos en N de textura más ligera que el de La Vega 5 para facilitar la extracción de nódulos y tener datos más precisos.
- Seguir utilizando el índice de partición de vainas en la etapa de llenado de vainas como un criterio para determinar las diferencias en la eficiencia fisiológica de las líneas de frijol bajo estrés de deficiencia de N y otros nutrimentos relacionados a los efectos de la baja fertilidad de los suelos en el cultivo del frijol común.
- Conducir validaciones en fincas de las líneas promisorias FBN para determinar su valor potencial como variedades mejoradas y progenitores en mejoramiento genético.
- Realizar estudios de la respuesta de las líneas FBN promisorias a las cepas individuales CIAT 632 y CIAT 899 y otras disponibles en el cepario del Laboratorio de Biotecnología del PIF, para determinar el potencial de la interacción cepa x hospedero.

## 6. LITERATURA CITADA

Beebe, S.E., I.M. Rao, M.W. Blair, y J.A. Acosta-Gallegos, 2013. Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Frontiers in Physiology* 4:35-64.

Graham, P. H., J. C. Rosas, 1977. Growth and development of indeterminate bush and climbing cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. inoculated with *Rhizobium*. *Journal Agricultural Science Cambridge* 88:503-508.

Graham, P. H., J. C. Rosas, 1978. Plant and nodule development and nitrogen fixation in climbing cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. grown in monoculture or associated with *Zea mays* L. *Journal Agricultural Science Cambridge* 90: 311-317.

Graham, P.H., J.C. Rosas, C. Estévez de Jensen, E. Peralta, B. Tlusty y J.A. Acosta-Gallegos, 2003. Addressing edaphic constraints to bean production: Bean/Cowpea CRSP perspective. *Field Crops Research* 82: 179-192.

McFerson, J.R., F.A. Bliss, J.C. Rosas, 1982. Selection for enhanced nitrogen fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) pp.39-44. *In*: P.H. Graham and S. Harris (eds.), *Biological Nitrogen Fixation Technology for Tropical Agriculture*, CIAT, Cali, Colombia.

Muñoz, G., H. Terán, R. G. Allen, J. L. Wright, D. T. Westermann, S. P. Singh, 2006. Selection for drought resistance in dry bean landraces and cultivars. *Crop Science* 46:2111–2120.

Rosas, J. C. 2003. Recomendaciones para el manejo agronómico del cultivo del frijol. Programa de Investigaciones en Frijol, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Imprenta LitoCom, Tegucigalpa, Honduras, 33p.

Rosas, J.C. 2005. Escala ilustrada 1-9 para la evaluación de la nodulación en frijol común. Programa de Investigaciones en Frijol, Zamorano, Honduras. 1p

Rosas, J. C. 2011. Contribuciones del Programa de Investigaciones en Frijol en Centro América y El Caribe. *Revista CEIBA* 52:65-73.

Rosas, J.C. 1986. Improvement of the N<sub>2</sub> fixation capacity in common beans. *Revista CEIBA* 27(1): 95-104.

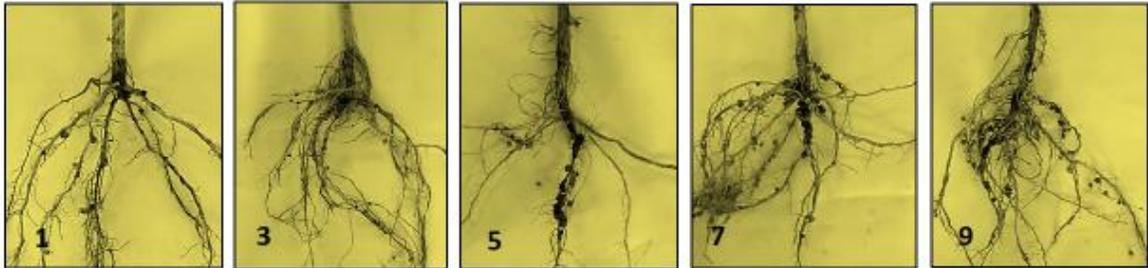
Rosas, J.C. 2015. Escala ilustrada.1-9 para evaluar nodulación en frijol común. Programa de Investigaciones en frijol. Zamorano, Honduras, 1p.

Rosas, J.C., F.A. Bliss, 1986. Improvement of the nitrogen fixation potential of common beans in Latin America. CEIBA 27(2): 245-260.

White, J. W., M. R. Ochoa, P. F. Ibarra, S. P. Singh, 1994. Inheritance of seed yield, maturity and seed weight of common bean (No significant differences were observed in) under semiarid rainfed conditions. Journal of Agricultural Science, Cambridge 122: 265-273

## 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).

