

**Desarrollo de un vivero diferencial para
identificar interacciones de genotipos de frijol
y cepas de *Rhizobium***

Astrid Judith Racancoj Coyoy

**Escuela Agrícola Panamericana Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2013

ZAMORANO
CARRECA DE INGENIERIA AGRONOMICA

**Desarrollo de un vivero diferencial para
identificar interacciones de genotipos de frijol
y cepas de *Rhizobium***

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

Presentado por

Astrid Judith Racancoj Coyoy

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2013

Desarrollo de un vivero diferencial para identificar interacciones de genotipos de frijol y cepas de *Rhizobium*

Presentado por:

Astrid Judith Racancoj Coyoy

Aprobado:

Juan Carlos Rosas, Ph. D.
Asesor principal

Renan Pineda, Ph. D.
Director
Departamento de Ciencia y
Producción Agropecuaria

Juliana Franco, Ing. Agr.
Asesora

Raúl Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

Desarrollo de un vivero diferencial para identificar interacciones de genotipos de frijol y cepas de *Rhizobium*.

Astrid Judith Racancoj Coyoy

Resumen: El frijol (*Phaseolus vulgaris*) es uno de los alimentos más importantes en la dieta diaria de la mayoría de los países de América Latina, debido al alto porcentaje de proteína de sus granos (20- 28%). El presente estudio se realizó con el objetivo de conocer la respuesta de genotipos de frijol a la inoculación con cepas representativas de tres especies de *Rhizobium*; y con base en estas respuestas desarrollar un vivero diferencial que pueda ser utilizado para identificar las interacciones hospedero- cepas más efectivas en ambientes diversos. Se evaluaron 32 genotipos de frijol (16 andinos y 16 mesoamericanos) bajo cinco tratamientos, la inoculación con las cepas CIAT 899 (*R. tropici*), CIAT 632 (*R. etli*) y UPR 2010 (*R. leguminosarum*), y dos tratamientos sin inoculación, uno con adición de nitrógeno (N) y el otro sin N. Se utilizó un arreglo factorial de un diseño de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones; los tratamientos de cepas y adición de N se distribuyeron en las parcelas y los genotipos en las sub-parcelas. El estudio se condujo en casa de malla utilizando maceteros conteniendo un sustrato suelo: arena (1:1) de bajo contenido de materia orgánica, N total y fósforo. A la etapa de floración se evaluaron la nodulación (escala 1 a 9) y los pesos secos de raíz (PSR), follaje (PSF) y total (PST) de la planta. Se observaron diferencias significativas en la nodulación por efecto de los tratamientos de cepas/N y genotipos; y en PSR, PSF y PST debido a genotipos. Se logró identificar genotipos andinos y mesoamericanos e interacciones de genotipos \times cepas con alta nodulación. La nodulación estuvo correlacionada con el PSR, PSF y PST. Con base en los resultados del estudio se seleccionaron seis genotipos andinos y seis mesoamericanos para conformar un vivero diferencial a ser validado en condiciones controladas y en el campo.

Palabras clave: Fijación de nitrógeno, genotipo, nodulación, *Phaseolus vulgaris* L., simbiosis.

Abstrac: The common bean (*Phaseolus vulgaris*) is one of the most important foods of the daily diet in most of the countries of Latin America, also contain high percentage of protein in their grains (20 - 28%). The present study was conducted with the purpose to know the genotypes answer of the inoculation with representative strain of three species of *Rhizobium*; and develop a differential nursery in base these answers that can be used to identify the interactions host- strain more effective in diverse atmosphere stocks. Was evaluated 32 genotypes of common bean (16 Andean and 16 Mesoamericans) under five treatments, the inoculation with CIAT 899 (*R. tropici*), CIAT 632 (*R. etli*) and UPR 2010 (*R. leguminosarum*), and two treatments without inoculation, one with nitrogen addition (N) and other without N. Was used a factorial adjustment design of complete blocks, with four repetitions; the treatments of strain and N was distributed in the main plots and the genotypes in sub-plots. The study was conducted under green house conditions using pots that containing substrate by ground: sand (1: 1) and low content of organic matter, total N and phosphorus. At flowering, nodulation (scale 1 to 9) root, foliage and total dry weights

of the plant were measured. Significant differences in the nodulation by effect of the treatments were observed. Were identified Andean and Mesoamericans genotypes and interactions of genotypes \times strain with high nodulation. The nodulation was correlated with the root, foliage and total dry weights. In base to the results six Andean genotypes and six Mesoamericans were selected to form differential nursery to be validated in controlled conditions and in the field.

Key words: Genotypes, nitrogen fixation, nodulation, *Phaseolus vulgaris*, symbiosis.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	v
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 MATERIALES Y MÉTODOS	2
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	5
4 CONCLUSIONES	14
5 RECOMENDACIONES	15
6 LITERATURA CITADA.....	16
7 ANEXOS	17

ÍNDICE DE CUADROS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Variedades de frijol común de la Colección del Programa de Investigaciones en Frijol (PIF) utilizadas en el ensayo. Zamorano, Honduras, 2013.	2
2. Valores P de los ANDEVA de la nodulación (escala visual 1-9), peso seco de raíces (PSR), follaje (PSF) y total (PST) de las plantas en la etapa de floración de 32 genotipos de frijol común crecidos bajo tratamientos de inoculación con tres cepas de <i>Rhizobium</i> y con y sin adición de nitrógeno. Zamorano, Honduras.....	5
3. Promedio de nodulación (escala visual 1-9), peso seco de raíces (PSR), follaje (PSF) y total (PST) en la etapa de floración de los tratamientos con las cepas de <i>Rhizobium</i> y la adición y ausencia de nitrógeno. Zamorano, Honduras 2013.	6
4. Promedios de nodulación (escala 1-9), pesos secos de raíz (PSR), follaje (PSF) y total (PST) en la etapa de floración de 32 genotipos de frijol común crecidos bajo tratamientos con <i>Rhizobium</i> y sin nitrógeno. Zamorano, Honduras, 2013.....	7
5. Promedios de nodulación y pesos secos de raíz (PSR), follaje (PSF) y peso total (PST) en la etapa de floración de 32 genotipos andinos y mesoamericanos de frijol común crecidos bajo tratamientos con <i>Rhizobium</i> y nitrógeno. Zamorano, Honduras, 2013.....	8
6. Efecto de los tratamientos de cepas de <i>Rhizobium</i> y nitrógeno en la nodulación de 32 genotipos andinos y mesoamericanos de frijol común. Zamorano, Honduras, 2013.....	9
7. Efecto de los tratamientos de cepas de <i>Rhizobium</i> y nitrógeno en el promedio del peso seco de raíces (PSR) de 32 genotipos andinos y mesoamericanos de frijol común. Zamorano, Honduras, 2013.	10
8. Efecto de los tratamientos de cepas de <i>Rhizobium</i> y nitrógeno en el peso seco de follaje (PSF) de 32 genotipos andinos y mesoamericanos de frijol común. Zamorano, Honduras, 2013.	11
9. Efecto de los tratamientos de cepas de <i>Rhizobium</i> y nitrógeno peso seco total (PST) de 32 genotipos andinos y mesoamericanos de frijol común. Zamorano, Honduras, 2013.....	12

10. Coeficientes de correlación (r) entre la nodulación, el peso seco de raíces (PSR), follaje (PSF) y total (PST) en la etapa de floración de 32 genotipos de frijol común. Zamorano, Honduras, 2013	13
11. Vivero diferencial para estudios de interacciones cepas <i>Rhizobium</i> -Genotipos de frijol	13

Anexos	Página
1. Contenido de solución nutritiva Stock de Broughton y Dillworth (1971).	17
2. Resultados del análisis del sustrato utilizado en el ensayo. Zamorano, Honduras. 20013.....	17
3. Representación de la escala 1-9 para evaluar la nodulación por <i>Rhizobium</i> en plantas de frijol común.	18

1. INTRODUCCIÓN

El frijol (*Phaseolus vulgaris*) es uno de los alimentos más importantes de la dieta diaria en la mayoría de los países de América Latina, debido al alto porcentaje de proteína (20-28%) y aminoácidos esenciales que contienen sus granos (IICA 1992). Además de ser un alimento importante, su cultivo también es una fuente de empleo de muchas familias en las zonas rurales representando una fuente de ingresos en la economía familiar.

El nivel de producción de frijol en Latinoamérica es relativamente bajo y no se obtienen los resultados de cosecha esperados debido a diversos factores que afectan la productividad del cultivo incluyendo los cambios drásticos en el clima, la alta presión de plagas y enfermedades, y la siembra en suelos deficientes de nutrientes (Bravo, 1999). Se considera importante la nutrición de la planta para que pueda desarrollar su potencial genético. El nitrógeno (N) es uno de los nutrientes que la planta consume en mayor cantidad, debido a que es necesario para la conversión de metabolitos en aminoácidos, los que a su vez son convertidos en proteínas (Somasegaran, 1994). Las deficiencias de este nutriente se pueden suplir aplicando fertilizantes nitrogenados; sin embargo, se debe tomar en cuenta el costo de los fertilizantes sintéticos, siendo estos poco accesibles para los pequeños productores.

Existe un proceso natural de fijación biológica de nitrógeno (FBN), llevado a cabo por microorganismos ya sean bacterias o algas. El *Rhizobium* es un microorganismo del suelo que tiene la habilidad de formar una simbiosis para la fijación de nitrógeno con las leguminosas; esta asociación simbiótica es la contribución más importante de la FBN en la agricultura (Somasegaran, 1994). Estas bacterias crean una modificación química de la molécula de nitrógeno atmosférico (N₂) transformándolo a una molécula disponible para las plantas; la bacteria por su parte aprovecha los exudados de las raíces para llevar a cabo sus procesos metabólicos (Rodríguez *et al.* 1984).

Para los pequeños productores la fijación natural de N₂ es una alternativa para aumentar la producción, al inocular las plantas con cepas de *Rhizobium*. Sin embargo es necesario identificar la respuesta de las variedades de frijol a la inoculación con cepas de *Rhizobium*, para obtener el mayor beneficio de esta simbiosis. En este estudio se propone conocer la respuesta a la inoculación de una amplia gama de genotipos de frijol de los reservorios andinos y mesoamericanos, con cepas representativas de tres especies de *Rhizobium* (*R. etli*, *R. tropici* y *R. leguminosarum*); y con base en estas respuestas desarrollar un vivero diferencial que pueda ser utilizado para identificar las interacciones hospedero × cepas más efectivas en condiciones representativas de producción, y así lograr los mayores beneficios de la FBN en el cultivo de frijol.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio. El proyecto de investigación se realizó en casas de mallas, y en el Laboratorio de Biotecnología Aplicada del Programa de Investigaciones en Frijol (PIF), de la Escuela Agrícola Panamericana (EAP), ubicada en el Valle del Yeguaré, Francisco Morazán, Honduras, a una elevación de 800msnm, con una temperatura media anual de 24°C y precipitación de 1,100 mm. El proyecto se desarrolló a partir del mes de agosto del 2012 hasta agosto del 2013.

Material experimental. Las accesiones de frijol que se utilizaron proceden de la colección del Banco de Germoplasma del PIF. Se utilizaron 32 variedades, 16 de procedencia andina y 16 mesoamericanas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Variedades de frijol común de la Colección del Programa de Investigaciones en Frijol (PIF) utilizadas en el ensayo. Zamorano, Honduras, 2013.

No.	Mesoamericanas	No.	Andinas
1	A-55	1	Badillo
2	Aifi Wuriti	2	Bolón Bayo
3	BAT477	3	CAL 143
4	Bribri	4	Ervilha
5	Carioca	5	G05686
6	Cincuentaño	6	G06727
7	Dorado	7	G21212
8	DPC-40	8	ICA Quimbaya
9	Flor de Mayo	9	Ind. Jamaica Red
10	Macuzalito	10	Mantenga
11	Milenio	11	Michigan DRK
12	Salagnac	12	Montcalm
13	Seda	13	Pompadour J
14	Tacaná	14	PR 0737-1
15	TARS10IS-2421	15	RedHawk
16	Tío Canela 75	16	Widusa

El ensayo se condujo usando un arreglo factorial de un diseño estadístico de bloques completos al azar. En las parcelas se distribuyeron cinco tratamientos incluyendo tres cepas de *Rhizobium* (*R. tropici* CIAT 899, *R. etli* CIAT 632 y *R. leguminosarum* UPR 2010), y dos fertilizaciones utilizando una solución nutritiva de Broughton y Dillworth (1971) adicionando nitrógeno a la solución (+N) y otra sin adición de nitrógeno (-N).

Para el desarrollo del experimento se utilizaron maceteros de 6 pulgadas conteniendo 4.5 kg de medio de crecimiento suelo: arena en una relación 1:1. El medio fue tratado con vapor para reducir la presencia de microorganismos patógenos y rizobios residentes del suelo que pudiesen interferir en el experimento. Las características primordiales del medio utilizado fueron el bajo contenido de materia orgánica (1.64%) y nitrógeno (0.08% N total); el contenido de fósforo fue medio de (13 mg/Kg), el de potasio fue alto (226 mg/Kg), el calcio fue medio (967 mg/Kg), el magnesio fue medio (159 mg/Kg) y el sodio fue normal (35 mg/Kg).

Las semillas se pre germinaron por dos días en un medio de agar previo a la siembra, las semillas más vigorosas y con longitud de radícula similar se utilizaron para la siembra de cada variedad en los maceteros. Se sembraron cuatro semillas y a los 8 días después de la siembra (DDS) se dejaron dos plantas establecidas por macetero.

A los 8 DDS, las plantas se inocularon con 1 ml de inoculante líquido de las cepas individuales preparado con dos días de anticipación aplicado en la base del tallo con micro pipetas. Para tener seguridad que las plantas fueron inoculadas de manera efectiva, a los 11 DDS las plantas se re-inocularon con nuevos cultivos líquidos de las cepas.

Cada dos días, las plantas fueron regadas con 100 ml de agua conteniendo 1 ml de la solución nutritiva de Broughton y Dillworth (1971) por cada litro de agua (ver Anexo1), para proporcionar una nutrición adecuada durante el riego; siendo el N el único nutriente limitante para los tratamientos de las tres cepas y el de sin nitrógeno (-N). Para el tratamiento con nitrógeno (+N), a la solución nutritiva se le adicionó KNO_3 (0.005%). Los días alternos se utilizó sólo agua potable para el riego de las plantas. Para el manejo en la casa malla, fue necesario el tutorio de las plantas utilizando varillas de bambú.

Evaluación del experimento. En la etapa de floración (a los 40 DDS) se evaluó la nodulación y los pesos secos de raíces y follaje de los 32 genotipos. Para ello se realizó el corte de la planta en la base del tallo; el follaje se colocó en una bolsa de papel para ser secado en un horno a 70°C x 72 h y posteriormente pesado. La raíz se extrajo del medio y se lavó teniendo cuidado de no lastimar los nódulos, ya que estos pueden desprenderse fácilmente de la raíz.

La evaluación de la nodulación se realizó por medio de evaluación visual, tomando en cuenta el tamaño y número de nódulos en la raíz. Se utilizó una escala de 1 a 9 (1 = ausencia de nódulos o nódulos muy pequeños; 9 = nódulos grandes y numerosos), según el Anexo 3. Después de realizada la evaluación visual, las raíces se colocaron en bolsas de papel para realizar el proceso de secado en horno a 72°C x 72 h y determinar el peso seco de la raíz.

Diseño experimental. Se utilizó un arreglo factorial de un diseño de bloques completos al azar; los tratamientos de las tres cepas, +N y -N fueron distribuidos en las parcelas, y los genotipos en sub-parcelas. El análisis de varianza (ANDEVA) se realizó para determinar la significancia del modelo, y la separación de medias (DMS) basada en una probabilidad de $P \leq 0.05$ para evidenciar las diferencias entre tratamientos. Los datos recolectados se analizaron con el programa estadístico Statistix 10.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La respuesta de los genotipos a la inoculación con las tres cepas de *Rhizobium*, con y sin fertilización de N, fue muy variable debido al número y a la diversidad de los genotipos, procedentes de los reservorios andino y mesoamericano incluidos en el ensayo. Se observaron diferencias significativas debidas a los tratamientos de cepas y N solamente en la evaluación visual de la nodulación (Cuadro 2). Sin embargo, en los efectos de genotipos se observaron diferencias significativas en la nodulación, pesos secos de raíces (PSR), follaje (PSF) y total (PST) de las plantas. No se observaron diferencias en las interacciones de cepa x genotipo.

Cuadro 2. Valores P de los ANDEVA de la nodulación (escala visual 1-9), peso seco de raíces (PSR), follaje (PSF) y total (PST) de las plantas en la etapa de floración de 32 genotipos de frijol común crecidos bajo tratamientos de inoculación con tres cepas de *Rhizobium* y con y sin adición de nitrógeno. Zamorano, Honduras 2013.

Factores	Valores P			
	Nodulación	PSR	PSF	PST
Cepa (C)	0.00 **	0.81 ^{Ns}	0.14 ^{Ns}	0.25 ^{Ns}
Genotipo (G)	0.00 **	0.00 **	0.00 **	0.00 **
Interacción (C×G)	0.80 ^{Ns}	0.98 ^{Ns}	0.71 ^{Ns}	0.80 ^{Ns}

** y ^{Ns} Diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) y no significativas.

Efecto de tratamientos de cepas de *Rhizobium* y fertilización con y sin N. Se presentaron diferencias significativas en la nodulación únicamente por efectos de los tratamientos (tres cepas de *Rhizobium* y dos niveles de fertilización con N) (Cuadro 2). Sin embargo, no hubo diferencias entre las cepas, pero sí de estas con respecto al tratamiento sin inoculación y con N (+N); la nodulación promedio más alta se presentó con la cepa UPR 2010 (Cuadro 3). En general, los nódulos provenientes de la inoculación con las cepas CIAT 899, CIAT 632 y UPR 2010, fueron de tamaño intermedio a grandes, y estuvieron concentrados en la región basal de las raíces y presentaron una coloración rojiza indicando ser efectivos, por la presencia de la leghemoglobina (Somasegaran, 1994).

El tratamiento sin inoculación y sin N (-N), presentó una nodulación intermedia en la escala de evaluación, debida a un alto número de nódulos pequeños y blanquecinos, típicos de la presencia de rizobios inefectivos (Rosas y Bliss 1985) presentes en el

sustrato. Los nódulos de este tratamiento –N estaban distribuidos en las partes extremas de las raíces.

Como era de esperarse, se presentó una nodulación muy baja en el tratamiento con adición de nitrógeno (+N), ya que cuando la planta dispone de este nutriente en el suelo lo toma de esta fuente y se reduce la formación de nódulos (Cuadro 3). También en este tratamiento +N, los nódulos presentaron características inferiores en tamaño (pequeños), fueron numerosos y de coloración blanquizca, y ubicados mayormente en las raíces laterales más profundas.

Los pesos secos de raíz (PSR), follaje (PSF) y total (PST) de las plantas no presentaron diferencias significativas por efecto de los tratamientos de cepas y nitrógeno, aunque los mayores valores se presentaron en el tratamiento +N. La falta de diferencias en PSR, PSF y PST, sugiere que las condiciones del ensayo no permitieron la expresión de los efectos del tratamiento +N y alguna de las cepas de *Rhizobium* en relación al tratamiento –N, a pesar de que el análisis del sustrato suelo: arena (1:1) indicó un contenido bajo de N (0.08%). Según estos resultados, habría que considerar el uso de un sustrato con menos contenido de N. La falta de diferencias entre el tratamiento +N y las cepas se podría explicar a que estas poseen la capacidad de fijar suficiente N₂ y pueden producir plantas con crecimiento similar.

Cuadro 3. Promedio de nodulación (escala visual 1-9), peso seco de raíces (PSR), follaje (PSF) y total (PST) en la etapa de floración de los tratamientos con las cepas de *Rhizobium* y la adición y ausencia de nitrógeno. Zamorano, Honduras 2013.

Tratamiento	Nodulación (1-9)	PSR (g/pl)	PSF (g/pl)	PST (g/pl)
CIAT 899	5.89	0.75	2.12	2.84
CIAT 632	5.88	0.71	2.11	2.82
UPR 2010	6.22	0.77	2.19	2.96
Sin nitrógeno (-N)	5.00	0.75	2.13	2.88
Con nitrógeno (+N)	1.55	0.77	2.44	3.21
DMS	0.97**	Ns	Ns	Ns

** y ^{Ns} Altamente significativo (P≤0.01) y no significativo.

Efecto de genotipos de frijol. Los genotipos presentaron diferencias significativas en la nodulación, PSR, PSF y PST (Cuadro 5). Sin embargo, se observó cierta tendencia a mejores respuestas en estas variables en los andinos, por lo que se presentan estos resultados en dos grupos, los andinos y los mesoamericanos, y sus respectivos promedios (Cuadro 6). La variación de nodulación entre los genotipos confirmó las diferencias que existen en la capacidad de ciertos genotipos de establecer una simbiosis más efectiva que otros con las cepas utilizadas.

Los resultados del efecto de genotipos indican que el promedio y los rangos (variaciones) de la nodulación (Cuadro 7), PSR Cuadro 8), PSF (Cuadro 9) y PST (Cuadro 10) de las variedades andinas fueron ligeramente mayores a las de las mesoamericanas.

Cuadro 4. Promedios de nodulación (escala 1-9), pesos secos de raíz (PSR), follaje (PSF) y total (PST) en la etapa de floración de 32 genotipos de frijol común crecidos bajo tratamientos con *Rhizobium* y sin nitrógeno. Zamorano, Honduras, 2013.

Genotipo	Nodulación (1-9)	PSR (g/pl)	PSF (g/pl)	PST (g/pl)
ICA Quimbaya	6.50	0.99	2.40	3.44
G05686	6.35	1.02	2.58	3.60
Ervilha	6.30	0.95	2.49	3.46
Mantenga	5.90	0.82	2.13	2.91
CAL 143	5.75	0.89	2.21	3.15
G21212	5.70	0.79	2.21	2.90
Montcalm	5.65	0.71	2.96	3.59
Macuzalito	5.50	0.69	1.99	2.66
G06727	5.45	0.92	2.23	3.13
Bribri	5.40	0.62	2.01	2.69
PR 0737-1	5.30	0.91	2.29	3.15
Tío Canela 75	5.10	0.62	1.97	2.59
Carioca	5.05	0.69	2.22	2.89
Tacaná	4.90	0.61	1.92	2.54
Badillo	4.85	0.81	1.60	3.34
Widusa	4.70	0.60	2.28	2.85
Dorado	4.70	0.67	1.97	2.65
Pompadour J	4.65	0.82	2.16	2.91
TARS10IS-2421	4.65	0.69	2.06	2.68
A-55	4.65	0.92	2.1	3.08
Bolón Bayo	4.60	0.89	2.23	3.09
Milenio	4.55	0.59	2.11	2.70
Ind. Jamaica Red	4.55	0.70	2.05	2.74
RedHawk	4.50	0.69	2.79	3.34
Salagnac	4.40	0.71	2.09	2.87
Seda	4.35	0.77	1.99	2.77
BAT477	4.10	0.69	2.01	2.66
Cincuentaño	4.10	0.69	2.09	2.91
DPC-40	4.10	0.72	1.88	2.57
Flor de Mayo	4.00	0.71	2.22	3.04
Aifi Wuriti	3.75	0.65	1.83	2.56
Michigan DRK	3.15	0.57	2.19	2.68
DMS	1.18**	0.11 **	0.30 **	0.38 **

*, ** y ^{ns} Significativo ($P \leq 0.05$), altamente significativo ($P \leq 0.01$) y no significativo.

Cuadro 5. Promedios de nodulación y pesos secos de raíz (PSR), follaje (PSF) y peso total (PST) en la etapa de floración de 32 genotipos andinos y mesoamericanos de frijol común crecidos bajo tratamientos con *Rhizobium* y nitrógeno. Zamorano, Honduras, 2013.

Genotipo	Nodulación (1-9)	PSR (g/pl)	PSF (g/pl)	PST (g/pl)
Andinos				
ICA Quimbaya	6.50	0.99	2.40	3.44
G05686	6.35	1.02	2.58	3.60
Ervilha	6.30	0.95	2.49	3.46
Mantenga	5.90	0.82	2.13	2.91
CAL 143	5.75	0.89	2.21	3.15
G21212	5.70	0.79	2.21	2.90
Montcalm	5.65	0.71	2.96	3.59
G06727	5.45	0.92	2.23	3.13
PR 0737-1	5.30	0.91	2.29	3.15
Badillo	4.85	0.81	1.60	3.34
Widusa	4.70	0.60	2.28	2.85
Pompadour J	4.65	0.82	2.16	2.91
Bolón Bayo	4.60	0.89	2.23	3.09
Ind. Jamaica Red	4.55	0.70	2.05	2.74
RedHawk	4.50	0.69	2.79	3.34
Michigan DRK	3.15	0.57	2.19	2.68
Promedio	5.24	0.82	2.30	3.14
Mesoamericanos				
Macuzalito	5.50	0.69	1.99	2.66
Bribri	5.40	0.62	2.01	2.69
Tío Canela 75	5.10	0.62	1.97	2.59
Carioca	5.05	0.69	2.22	2.89
Tacaná	4.90	0.61	1.92	2.54
Dorado	4.70	0.67	1.97	2.65
TARS10IS-2421	4.65	0.69	2.06	2.68
A-55	4.65	0.92	2.1	3.08
Milenio	4.55	0.59	2.11	2.7
Salagnac	4.40	0.71	2.09	2.87
Seda	4.35	0.77	1.99	2.77
BAT477	4.10	0.69	2.01	2.66
Cincuentaño	4.10	0.69	2.09	2.91
DPC-40	4.10	0.72	1.88	2.57
Flor de Mayo	4.00	0.71	2.22	3.04
Aifi Wuriti	3.75	0.65	1.83	2.56
Promedio	4.70	0.72	2.13	2.88

Cuadro 6. Efecto de los tratamientos de cepas de *Rhizobium* y nitrógeno en la nodulación de 32 genotipos andinos y mesoamericanos de frijol común. Zamorano, Honduras, 2013.

Genotipo	Cepas de <i>Rhizobium</i> y nitrógeno (N)				
	CIAT 899	CIAT 632	UPR 2010	-N	+N
	Andinos (nodulación 1-9)				
ICA Quimbaya	7.75	8.25	8.75	6.25	1.25
G05686	7.50	7.00	9.00	5.75	2.50
Ervilha	8.50	7.00	8.25	5.75	2.00
Mantenga	6.50	7.50	8.25	5.75	1.50
CAL 143	7.50	6.50	7.50	5.75	1.50
G21212	8.00	6.25	6.75	5.50	2.00
Montcalm	6.75	7.25	6.50	6.00	1.75
G06727	6.75	5.00	8.25	5.75	1.50
PR 0737-1	5.25	7.00	7.25	5.25	1.75
Badillo	6.75	6.50	5.25	4.50	1.25
Widusa	5.75	5.00	7.00	4.25	1.50
Pompadour J	5.75	5.25	6.00	4.50	1.75
Bolón Bayo	5.75	5.00	5.50	5.00	1.75
Ind. Jamaica Red	5.50	5.00	5.00	6.00	1.25
RedHawk	6.75	7.00	4.75	3.75	2.00
Michigan DRK	4.50	2.75	3.00	4.00	1.50
Promedio	6.58	6.14	6.69	5.23	1.67
	Mesoamericanos (nodulación 1-9)				
Macuzalito	8.00	8.50	4.25	5.50	1.25
Bribri	5.00	6.75	6.50	7.25	1.50
Tio Canela 75	5.75	6.50	5.75	6.25	1.25
Carioca	5.50	6.75	6.75	5.00	1.25
Tacaná	5.25	6.00	6.75	5.00	1.50
Dorado	6.50	5.50	6.25	4.25	1.00
TARS10IS-2421	5.00	6.25	5.50	4.50	2.00
A-55	5.25	5.75	7.50	3.75	1.00
Milenio	6.00	4.25	5.25	6.00	1.25
Salagnac	6.00	4.75	5.50	4.00	1.75
Seda	4.00	5.50	5.25	5.00	2.00
BAT477	4.00	5.00	6.00	3.75	1.75
Cincuentaño	4.00	5.00	6.25	3.25	2.00
DPC-40	3.50	5.25	6.00	4.50	1.25
Flor de Mayo	4.75	5.75	4.00	4.50	1.00
Aifi Wuriti	4.75	4.00	4.75	4.00	1.25
Promedio	5.62	5.70	5.86	4.87	1.52

Cuadro 7. Efecto de los tratamientos de cepas de *Rhizobium* y nitrógeno en el promedio del peso seco de raíces (PSR) de 32 genotipos andinos y mesoamericanos de frijol común. Zamorano, Honduras, 2013.

Genotipo	Cepas <i>Rhizobium</i> y nitrógeno (N)				
	CIAT 899	CIAT 632	UPR 2010	-N	+N
	Andinos (PSR, g/planta)				
ICA Quimbaya	1.01	0.98	1.02	0.91	1.04
G05686	1.00	0.10	1.14	0.99	0.97
Ervilha	0.84	0.90	1.09	0.94	0.95
Mantenga	0.89	0.89	0.75	0.74	0.84
CAL 143	0.94	0.85	0.93	0.87	0.86
G21212	0.82	0.66	0.81	0.80	0.88
Montcalm	0.70	0.66	0.66	0.72	0.83
G06727	0.93	0.71	1.18	0.92	0.86
PR 0737-1	0.76	0.93	0.96	0.93	0.98
Badillo	0.94	0.74	0.81	0.84	0.70
Widusa	0.59	0.57	0.69	0.54	0.60
Pompadour J	0.65	0.75	0.83	0.98	0.88
Bolón Bayo	0.88	0.84	0.75	0.95	1.02
Ind. Jamaica Red	0.66	0.60	0.72	0.71	0.81
RedHawk	0.81	0.67	0.70	0.56	0.73
Michigan DRK	0.59	0.40	0.52	0.57	0.75
Promedio	0.81	0.70	0.85	0.81	0.86
	Mesoamericanos (PSR, g/planta)				
Macuzalito	0.82	0.80	0.56	0.64	0.64
Bribri	0.53	0.61	0.60	0.71	0.65
Tio Canela 75	0.66	0.59	0.57	0.68	0.60
Carioca	0.70	0.68	0.75	0.72	0.60
Tacaná	0.60	0.68	0.63	0.58	0.57
Dorado	0.72	0.71	0.60	0.70	0.65
TARS10IS-2421	0.72	0.66	0.67	0.67	0.73
A-55	1.00	0.79	1.03	0.95	0.82
Milenio	0.60	0.51	0.59	0.64	0.61
Salagnac	0.72	0.64	0.70	0.74	0.72
Seda	0.68	0.73	0.85	0.78	0.80
BAT477	0.59	0.57	0.65	0.67	0.79
Cincuentaño	0.61	0.75	0.79	0.56	0.73
DPC-40	0.62	0.72	0.81	0.72	0.76
Flor de Mayo	0.77	0.76	0.64	0.76	0.63
Aifi Wuriti	0.64	0.50	0.69	0.66	0.77
Promedio	0.72	0.68	0.74	0.73	0.75

Cuadro 8. Efecto de los tratamientos de cepas de *Rhizobium* y nitrógeno en el peso seco de follaje (PSF) de 32 genotipos andinos y mesoamericanos de frijol común. Zamorano, Honduras, 2013.

Genotipo	Cepas <i>Rhizobium</i> y nitrógeno (N)				
	CIAT 899	CIAT 632	UPR 2010	-N	+N
	Andinos (PSF, g/planta)				
ICA Quimbaya	2.43	2.51	2.41	2.24	2.41
G05686	2.49	2.54	2.49	2.55	3.05
Ervilha	2.54	2.40	2.66	2.24	2.65
Mantenga	2.01	2.21	1.98	1.98	2.48
CAL 143	2.13	2.05	2.40	2.23	2.25
G21212	2.35	2.06	1.95	2.12	2.58
Montcalm	2.90	2.59	3.11	2.87	3.35
G06727	2.01	1.84	2.50	2.32	2.48
PR 0737-1	1.92	2.36	2.29	2.20	2.66
Badillo	2.63	2.63	2.61	2.45	2.68
Widusa	2.03	2.27	2.75	1.98	2.40
Pompador J	2.10	1.42	2.11	2.35	2.79
Bolón Bayo	2.08	2.07	1.74	2.50	2.74
Ind. Jamaica Red	1.80	2.02	2.16	1.90	2.39
RedHawk	2.60	3.03	2.78	2.42	3.12
Michigan DRK	2.48	1.33	1.92	2.14	3.09
Promedio	2.28	2.21	2.36	2.28	2.69
	Mesoamericanos (PSF, g/planta)				
Macuzalito	2.18	2.18	1.77	1.52	2.32
Bribri	1.92	2.06	1.70	2.25	2.13
Tio Canela 75	1.96	2.10	1.50	2.17	2.13
Carioca	2.03	2.37	2.23	2.45	2.33
Tacaná	1.72	2.07	1.92	1.74	2.13
Dorado	1.88	1.75	2.01	1.91	2.30
TARS10IS-2421	1.99	2.13	1.96	1.73	2.47
A-55	1.93	1.99	2.23	2.34	2.00
Milenio	2.23	1.67	2.04	2.29	2.33
Salagnac	2.17	2.09	1.84	2.20	2.16
Seda	1.60	2.11	2.19	1.99	2.07
BAT477	1.67	1.82	2.25	2.00	2.55
Cincuentaño	2.09	2.30	2.48	1.55	2.01
DPC-40	1.53	1.71	2.15	1.95	2.21
Flor de Mayo	2.29	2.41	2.23	2.40	1.76
Aifi Wuriti	1.88	1.45	1.83	1.72	2.28
Promedio	2.08	2.07	2.16	2.13	2.43

Cuadro 9. Efecto de los tratamientos de cepas de *Rhizobium* y nitrógeno peso seco total (PST) de 32 genotipos andinos y mesoamericanos de frijol común. Zamorano, Honduras, 2013.

Genotipo	Cepas <i>Rhizobium</i> y nitrógeno (N)				
	CIAT 899	CIAT 632	UPR 2010	-N	+N
	Andinos (PST, g/planta)				
ICA Quimbaya	3.44	3.48	3.42	3.15	3.72
G05686	3.48	3.57	3.63	3.34	3.95
Ervilha	3.39	3.29	3.72	3.18	3.71
Mantenga	2.90	3.09	2.73	2.72	3.12
CAL 143	3.07	2.89	3.33	3.10	3.37
G21212	3.17	2.72	2.75	2.92	2.95
Montcalm	3.60	3.24	3.77	3.59	3.74
G06727	2.94	2.55	3.68	3.24	3.22
PR 0737-1	2.68	3.30	3.25	3.13	3.40
Badillo	2.80	3.38	3.42	3.29	3.83
Widusa	2.62	2.84	3.44	2.53	2.86
Pompadour J	2.75	2.17	2.94	3.33	3.38
Bolón Bayo	2.95	2.91	2.49	3.45	3.65
Ind. Jamaica Red	2.46	2.61	2.87	2.61	3.12
RedHawk	3.41	3.70	3.48	2.97	3.14
Michigan DRK	3.07	1.72	2.44	2.71	3.44
Promedio	3.05	2.97	3.21	3.08	3.41
	Mesoamericanos (PST, g/planta)				
Macuzalito	3.00	2.98	2.32	2.15	2.85
Bribri	2.46	2.67	2.29	2.96	3.06
Tio Canela 75	2.62	2.69	2.07	2.85	2.72
Carioca	2.73	3.04	2.98	2.86	2.82
Tacaná	2.32	2.75	2.55	2.31	2.75
Dorado	2.59	2.45	2.61	2.60	3.01
TARS10IS-2421	2.71	2.79	2.62	2.40	2.89
A-55	2.93	2.78	3.25	3.30	3.12
Milenio	2.83	2.18	2.63	2.92	2.90
Salagnac	2.89	2.73	2.54	2.94	3.25
Seda	2.27	2.84	3.03	2.76	2.96
BAT477	2.26	2.38	2.97	2.67	3.04
Cincuentaño	2.69	3.04	3.27	2.11	3.42
DPC-40	2.15	2.42	2.96	2.51	2.81
Flor de Mayo	3.06	3.17	2.87	3.16	2.96
Aifi Wuriti	2.51	1.95	2.51	2.38	3.47
Promedio	2.77	2.75	2.90	2.85	3.15

Los coeficientes de correlación lineal (r) entre la nodulación y el PSF, PSR y PST fueron significativos (Cuadro 4), sugiriendo las relaciones entre estas variables en las condiciones de crecimiento de bajo contenido de N. De igual manera, la relación del PSF con el PSR y PST fueron significativos, lo que sugiere que para las condiciones de bajo N las relaciones con el PST de las plantas fueron relevantes.

Cuadro 10. Coeficientes de correlación (r) entre la nodulación, el peso seco de raíces (PSR), follaje (PSF) y total (PST) en la etapa de floración de 32 genotipos de frijol común. Zamorano, Honduras, 2013.

Observaciones	Nodulación	PSF	PST
PSF	0.305 **		
PST	0.375 **	0.966 **	
PSR	0.434**	0.593**	0.780 **

** Altamente significativo ($P \leq 0.01$) según análisis de correlación lineal de Pearson.

Con base en los resultados del estudio, se identificaron 12 genotipos que presentaron alta nodulación y PST, seis andinos y seis mesoamericanos, para que conformaran el vivero diferencial (Cuadro 11).

Cuadro 11. Vivero diferencial para estudios de interacciones cepas *Rhizobium*-Genotipos de frijol.

Andinos	Mesoamericanos
ICA Quimbaya	Macuzalito
G05686	Bribri
Ervilha	Tío Canela 75
Mantenga	Carioca
CAL 143	Tacaná
G21212	Dorado

4. CONCLUSIONES

- La nodulación fue influenciada por las cepas y los tratamientos con y sin N (C/N) y por los genotipos (G), pero no por su interacción (C/N x G). Solo se observaron diferencias en los pesos secos de follaje (PSF), raíces (PSR) y total (PST) de las plantas por efectos de genotipos.
- Los genotipos andinos presentaron mayor nodulación que los mesoamericanos; y en ambos grupos se identificaron genotipos superiores al promedio en interacción con cepas específicas de *Rhizobium*.
- Los resultados de la correlación lineal de Pearson indicaron que los valores de PSF, PSR y PST estuvieron correlacionados con la nodulación.
- Un grupo de seis genotipos andinos y seis mesoamericanos fueron identificados para conformar un vivero diferencial para estudios de interacciones *Rhizobium* × Frijol.

5. RECOMENDACIONES

- Validar el vivero diferencial en estudios de interacciones cepas de *Rhizobium* × genotipos de frijol en condiciones controladas y en campo.
- Utilizar los genotipos con alta nodulación y PST en el desarrollo de variedades tolerantes a suelos con bajo contenido de N, mediante mejoramiento genético de nodulación y fijación de N₂.
- Evaluar la competitividad de las cepas de *Rhizobium* mediante evaluaciones con las técnicas de la velocidad de la nodulación, utilizando cepas con resistencia a antibióticos; considerando que la respuesta a la inoculación en el campo está influenciada por la capacidad de nodulación (competitividad) de las cepas en presencia de *Rhizobium* nativo o residente en el suelo.
- Revisar la escala visual (1-9) teniendo en cuenta que sólo los nódulos de buen tamaño y coloración considerados efectivos, fijan N₂ y contribuyen al crecimiento de las plantas. En esta escala, no se debe considerar en la evaluación visual los nódulos pequeños, blanquecinos que son inefectivos en la fijación de N₂.

6. LITERATURA CITADA

Bravo, M. 1999. Incremento de la productividad y rentabilidad del frijol mediante investigación participativa en el municipio de El Rosario, Olancho. Tesis Ing Agr. Zamorano, Honduras. 61 p.

Broughton BJ, Dilworth MJ (1971) Control of leghaemoglobin synthesis in snake beans. *Biochem J* 125: 1075-1080.

IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura), Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA. Proyecto de frijol para la Zona Andina. PROFRIZA 1992. Curso Internacional sobre el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en la zona de ladera de la Región Andina. Compendio. Rionegro, Antioquia, Colombia. 94 p.

Rodriguez, C; Sevillano, F; Subramaniam, P. 1984. La fijación de nitrógeno atmosférico una biotecnología en la producción agraria. *CeresNet* 65p.

Rosas, J.C. y F.A. Bliss. 1985. Principios y prácticas para la conducción de ensayos de fijación de nitrógeno en condiciones de campo. En: J.C. Rosas y G. Pilz. Primer Seminario Centroamericano de Fijación Biológica de Nitrógeno. *Revista CEIBA* 27(1): 23-39.

Somasegaran, P. and H.J. Hoben. 1994. Handbook for Rhizobia, *Methods in Legume-Rhizobium Technology*. Ed. R. Garber. 450 p.

7. ANEXOS

Anexo 1. Contenido de solución nutritiva Stock de Broughton y Dillworth (1971).

Solución stock 1: a 1.0 L de agua destilada, agregar 294.1 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Cloruro de Calcio dihidratado).

Solución stock 2: a 1.0 L de agua destilada agregar 136.1 g de KH_2PO_4 (Fosfato de Potasio dibásico).

Solución stock 3: a 1.0 L de agua destilada agregar 6.7 g de Citrato de Hierro, 123.3 g de Sulfato de Magnesio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 87 g de Sulfato de Potasio (K_2SO_4) y 0.34 g de Sulfato de Manganeso hidratado ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$).

Solución stock 4: a 1.0 L de agua destilada agregar 0.25 g de Ácido Bórico (H_3BO_3), 0.29 g de Sulfato de Zinc heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) y 0.048 g de Molibdato de Sodio dihidratado ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

Para preparar 10 L de solución nutritiva, tomar 5 ml de cada solución stock y agregar 9,980 ml de agua destilada estéril. Ajustar el pH a un rango de 6.6-6.8 usando NaOH 1N.

Si se desea obtener tratamientos con nitrógeno, se añade KNO_3 al 0.05% a la solución, obteniendo una concentración de 70 ppm de N.

Anexo 2. Resultados del análisis del sustrato utilizado en el ensayo. Zamorano, Honduras. 20013.

Análisis de Suelo								
Muestra	pH	%		mg/Kg (extractable)				
		M.O.	N total	P	K	Ca	Mg	Na
Sustrato 1:1	5.57	Bajo	Bajo	Medio	Alto	Medio	Medio	Normal
		1.64	0.08	13	226	967	159	35

Anexo 3. Representación de la escala 1-9 para evaluar la nodulación por *Rhizobium* en plantas de frijol común.

