

**Tolerancia de variedades de judía
a estrés hídrico estacional e
implicaciones en la fijación
simbiótica de Nitrógeno.**

Manuel Riveiro Leira

Tesis Doctoral, 2012



Tolerancia de variedades de judía a estrés hídrico estacional e implicaciones en la fijación simbiótica de Nitrógeno.

Memoria para optar al título de
Doctor, que presenta el Ingeniero
Agrónomo Manuel Riveiro Leira



Dra. ANA PAULA RODIÑO MÍGUEZ, Investigadora “Parga Pondal” en la Misión Biológica de Galicia, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (MBG-CSIC, Pontevedra, España) y Dr. ANTONIO M. DE RON PEDREIRA, Profesor de Investigación del CSIC en la MBG, Codirectores de la investigación y Dra. M. JESÚS SAINZ OSÉS, Profesora Titular de la Universidad de Santiago de Compostela (Lugo, España), Tutora de la Investigación,

CERTIFICAMOS:

Que la investigación recogida en la Memoria que lleva por título “Tolerancia de variedades de judía a estrés hídrico estacional e implicaciones en la fijación simbiótica de Nitrógeno”, de la que es autor MANUEL RIVEIRO LEIRA, ha sido realizada bajo nuestra inmediata dirección.

Y considerando que representa un trabajo de Tesis Doctoral, autorizamos su presentación en el Departamento de Producción Vegetal de la Universidad de Santiago de Compostela.

A.Paula Rodiño

Antonio M. De Ron

M. Jesús Sainz



Esta investigación ha sido financiada mediante los proyectos PGIDIT06RAG40301PR, PGIDIT09MDS026403PR e INCITE07PXI403088ES de la Xunta de Galicia.

El contenido de este trabajo no podrá reproducirse, ya sea todo o en parte, bajo ningún tipo de soporte, sin la autorización expresa de los responsables de los mencionados proyectos, Dra. A. Paula Rodiño Míguez y Dr. Antonio M. De Ron Pedreira.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmamos este documento en Pontevedra, a 28 de septiembre del 2012.

A. Paula Rodiño

Antonio M. De Ron

Manuel Riveiro

Agradecimientos

En primer lugar deseo expresar mi agradecimiento a la Dra. Paula Rodiño Míguez y al Prof. Antonio De Ron, por su labor de dirección del presente trabajo y por dedicarme ese bien tan escaso llamado tiempo.

Manifiesto además mi gratitud a D. Juan Fernando Castro Ínsua, Director del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo, Dr. Pedro Revilla Temiño, Director de la Misión Biológica de Galicia y D. Jaime Fernández Paz, Director del Laboratorio Agrario y Fitopatológico de Galicia, por el apoyo material que me han prestado.

Así mismo me gustaría agradecer a D. José Manuel Rodríguez Bao y al personal técnico de campo de la Estación Experimental Agrícola do Baixo Miño y de la Misión Biológica de Galicia, por su colaboración en todo el proceso experimental.

Además deseo manifestar mi agradecimiento a la Subdirección Xeral de Innovación e Experimentación Agroforestal de la Consellería do Medio Rural e do Mar, a la Misión Biológica de Galicia del Consejo de Superior de Investigaciones Científicas, a la Excelentísima Diputación Provincial de Pontevedra por permitir el uso de la Finca de Mouriscade, a la Dirección Xeral de Investigación, Desenvolvemento e Innovación de la Consellería de Economía e Industria por haber proporcionado financiación a través de los proyectos PGIDIT06RAG40301PR, PGIDIT09MDS026403PR e INCITE07PXI403088ES.

Además agradecer al Prof. S. Singh de University of Idaho (USA), al Prof. J.D. Kelly de Michigan State University (USA), al Dr. M. Brick de University of Colorado (USA), al Dr. J. Acosta - INIFAP (México) y al Centro Nacional de Recursos Fitogenéticos - INIA (Alcalá de Henares) que me proporcionaron parte de las semillas de las variedades utilizadas en el ensayo.

Por último, a mi familia, en particular a mis hijos Nacho y Carmen, por su infinita paciencia, apoyo y cariño.

En la Misión Biológica de Galicia, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (MBG-CSIC, Pontevedra, España) existe una colección de germoplasma de judía común (*Phaseolus vulgaris* L.) de la que se viene evaluando el potencial productivo, la resistencia a enfermedades (bacterias y virus) y la resistencias a estreses abióticos (frio y sequía), desde 1988. Uno de los objetivos de la presente investigación ha sido el valorar la tolerancia al estrés hídrico de 27 variedades de la colección de la MBG-CSIC y comparar su comportamiento con 16 variedades contrastadas para este carácter. PHA-0471, variedad de semilla pequeña ha mostrado la mejor productividad, tanto en regadío como en condiciones de estrés hídrico. Otras variedades con buena tolerancia a la sequía fueron PHA-0432, PHA-0543 y PHA-0683, todas con semillas grandes y calibres más comerciales. A través del estudio estadístico de los datos se determinó, que cuando el modelo contempla el número de días con estrés hídrico, durante la fase de crecimiento y llenado de vaina, en vez del comúnmente utilizado “estrés-no estrés”, se incrementan las estimaciones de la heredabilidad en todos los caracteres. También se observó que no existe una única estrategia de respuesta a la sequía, y que al plantearse un programa de mejora para la tolerancia al estrés hídrico, los parentales deben tener estrategias compatibles. En los ensayos de inoculación con rizobios se observó que a medida que la masa nodular (MSNod) aumentaba, la cantidad de semilla producida (MSS) respecto a la MSNod disminuía, por lo que en un programa basado en el incremento de la MSS a través del aumento de la MSNod, tendría un resultado incierto. La variedad PHA-0683 cuando muestra el fenotipo de nódulo grande (BNO), presenta una gran uniformidad en el calibre de sus nódulos y una correlación lineal con la producción. Sería interesante un estudio de este hecho, pues podría responder a la existencia de algún mecanismo de bloqueo de la planta a la formación de nódulos con cepas ineficaces. Las plantas inoculadas han tenido un comportamiento productivo, tanto en regadío como en sequía, igual o superior que el de las plantas de control con suplemento de N. La relación variedad-cepa es muy específica y no ha existido ninguna cepa que haya sido superior al resto. Las cepas EXIC, EXIB, EG, EF, EPOB, APAFI, LTMF y SLL2 han logrado el máximo productividad con algunas variedades tanto en regadío como en sequía, lo cual pone en valor su posible uso como inoculantes.

Since 1988 in the Misión Biológica de Galicia - National Spanish Research Council (MBG-CSIC, Pontevedra, España) has been evaluated the potential yield, the resistance to diseases (bacteria and virus) and to abiotic stress on a germplasm collection of common bean landrace (*Phaseolus vulgaris* L.). One of the objectives of the current study has been to assess the water stress resistance of 27 genotypes of MGB-CSIC collection and compare their behavior with 16 tested genotypes. PHA-0471, small seeded genotype, has shown the best yield under irrigation and under water stress. Other genotypes with a good tolerance to drought were: PHA-0432, PHA-0543 and PHA-0683, all with big seeds. The statistical analysis of the data showed that the heritability gets higher estimation in all parameters, when it is considered the number of days with water stress during both growing and pod-filling stage, instead of the commonly used "stress- non stress". It was also observed that there is not only a unique strategy to face the drought and in a program for improving the water stress tolerance, all the parental lines should have compatible strategies.

In the *Rhizobium* inoculation tests it was observed that the increase of dry nodular weight (MSNod) produced less seed yield (MSS) per MSNod, so the result would be uncertain in a program based on the increase of seed production through the increase of MSNod. The PHA-0683 genotype presents a great uniformity on nodule size and a lineal correlation with yield when it displays the big nodule phenotype (BNO). Further research about this would be interesting because this fact could be due to the existence of a plant blocking mechanism for inefficient strain nodules. The inoculated plants have been productive not only in irrigated fields but also in drought ones and their productivity has been the same or even better than the N supplement plant control. The genotype-strain relationship is very specific and there has not been any strain better than the rest. The EXIC, EXIB, EG, EF, EPOB, APAFI; LTMF and SLL2 strains have achieved the greatest productivity with some genotypes in irrigated and drought conditions what make possible their use as inoculating strains.

Na Misión Biolóxica de Galicia, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (MBG-CSIC, Pontevedra, España) existe unha colección de xermoplasma de feixón común (*Phaseolus vulgaris* L.) da que vén avaliando o potencial produtivo, a resistencia a enfermidades (bacterias e virus) e a resistencias a estreses abióticos (frío e seca), desde 1988. Un dos obxectivos da presente investigación foi o valorar a tolerancia á tensión hídrico de 27 variedades da colección da MBG-CSIC e comparar o seu comportamento con 16 variedades contrastadas para este carácter. PHA-0471, variedade de semente pequena mostrou a mellor produtividade, tanto en regadío como en condicións de tensións hídrico. Outras variedades con boa tolerancia á seca foron PHA-0432, PHA-0543 e PHA-0683, todas con sementes grandes e calibres máis comerciais. A través do estudo estatístico dos datos determinouse, que cando o modelo contempla o número de días con tensións hídrico, durante a fase de crecemento e enchido de vaina, en vez do comunmente utilizado “estrés-non estrés”, incrementáanse as estimacións da heredabilidade en todos os caracteres. Tamén se observou que non existe unha única estratexia de resposta á seca, e que ao exporse un programa de mellora para a tolerancia á tensión hídrico, os parentales deben ter estratexias compatibles. Nos ensaios de inoculación con rizobios observouse que a medida que a masa nodular (MSNod) aumentaba, a cantidade de semente producida (MSS) respecto da MSNod disminuía, polo que nun programa baseado no incremento da MSS a través do aumento da MSNod, tería un resultado incerto. A variedade PHA-0683 cando mostra o fenotipo de nódulo grande (BNO), presenta unha gran uniformidade no calibre dos seus nódulos e unha correlación lineal coa produción. Sería interesante un estudo deste feito, pois podería responder á existencia dalgún mecanismo de bloqueo da planta á formación de nódulos con cepas ineficaces. As plantas inoculadas tiveron un comportamento produtivo, tanto en regadío como en seca, igual ou superior que o das plantas de control con suplemento de N. A relación variedade-cepa é moi específica e non existiu ningunha cepa que sexa superior ao resto. As cepas EXIC, EXIB, EG, EF, EPOB, APAFI, LTMF e SLL2 lograron o máximo produtividade con algunhas variedades tanto en regadío como en seca, o cal pon en valor o seu posible uso como inoculantes.

Phaseolus vulgaris



Contenidos

ÍNDICE

1. Introducción	1
1.1. El género <i>Phaseolus</i>	1
1.1.1. Judía común	3
1.1.2. Judía escaflata	3
1.1.3. Judía tépari	4
1.1.4. Judía cacha	6
1.1.5. Judía de Lima	7
1.2. Origen y domesticación de la judía común	8
1.3. Valor nutritivo	15
1.4. Situación actual: superficie, producción y consumo	17
1.5. Simbiosis <i>Rhizobium</i> -leguminosa	24
1.6. El nitrógeno en la planta	27
1.7. La importancia del nitrógeno	30
1.8. Tolerancia al estrés hídrico	33
1.8.1. Efectos negativos	34
1.8.2. Respuesta al estrés hídrico	35
1.8.3. Efecto en la partición de Nitrógeno	39
1.8.4. Tolerancia a la alta temperatura	40
1.9. La selección para la tolerancia al estrés hídrico	41

Contenidos

1.10. Objetivos del trabajo	45
2. Material	47
2.1. Localización	47
2.1.1. Experimento 1 (2005 y 2006)	47
2.1.2. Experimento 2 (2008)	49
2.1.3. Experimento 3 (2009)	49
2.2. Material biológico	49
2.3. Infraestructura y equipamiento	57
3. Métodos	
3.1. Diseño experimental	61
3.1.1. Experimento 1	61
3.1.2. Experimento 2	61
3.1.3. Experimento 3	65
3.2. Procedimientos comunes	66
3.2.1. Caracteres fenológicos	66
3.2.2. Caracteres morfológicos	68
3.2.3. Caracteres productivos	69
3.2.4. Preparación del inóculo e inoculación	72
3.2.5. Determinación de la proteína bruta	72
3.2.6. Análisis estadístico de los resultados	73

4. Primer experimento: Resultados y discusión	75
4.1. Campos de ensayo	75
4.2. Modelo para el análisis de resultados	75
4.3. Comportamiento productivo de las variedades	80
4.4. Análisis de las diferentes estrategias de respuesta al estrés	87
5. Segundo experimento: Resultados y discusión	97
5.1. Análisis de varianza	97
5.2. Análisis de medias	102
6. Tercer experimento: Resultados y discusión	135
6.1. Análisis de varianza	135
6.2. Análisis de medias	140
7. Discusión general	179
7.1. Evaluación de variedades en condiciones de estrés hídrico	179
7.2. Mejora de FBN en condiciones de estrés hídrico	183
8. Conclusiones	187
9. Bibliografía	189
10. Anexos	223
Anexo 1: Datos meteorológicos	223
Anexo2: Análisis del balance hídrico	227
Anexo 3: Análisis de suelos	237

INDICE DE TABLAS

1. INTRODUCCIÓN

Tabla 1.1: Especies cultivadas del género <i>Phaseolus</i> : altitud, temperatura diurna, precipitación media anual, duración del ciclo de crecimiento desde inicio a cosecha y producción potencial en zonas tropicales.	2
Tabla 1.2: Acervo Mesoamericano: Principales clases comerciales de judía común y su distribución.	11
Tabla 1.3: Acervo Andino: principales clases comerciales de judía común y su distribución.	13
Tabla 1.4: Valor nutricional de la judía verde y judía grano.	16
Tabla 1.5: Composición de aminoácidos en base 100 de la proteína patrón y de otros alimentos	17
Tabla 1.6: Principales países productores de judía grano y judía verde en 2010	19
Tabla 1.7: Principales productores de judía grano en España en 2009	21
Tabla 1.8: Resumen de índices productivos	44

2. MATERIAL

Tabla 2.1: Coordenadas de las parcelas donde se realizaron los ensayos de campo	48
Tabla 2.2: Origen de las poblaciones locales ensayadas, habito de crecimiento y características de sus semillas.	51
Tabla 2.3: Relación de líneas de mejora y cultivares comerciales ensayados y las características de sus semillas	55

3. MÉTODOS

Contenidos

4. PRIMER EXPERIMENTO: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 4.1: Variables analizadas con su nivel de significación de cada una de las fuentes de varianza	76
Tabla 4.2: Variables analizadas con su nivel de significación de cada una de las fuentes de varianza para el modelo que tiene en cuenta el estrés hídrico sufrido	79
Tabla 4.3: Heredabilidades (H) para 11 variables utilizando la varianza del genotipo (σ^2_G) y varianza del error (σ^2_e) calculadas a partir de dos modelos	80
Tabla 4.4: Producción de semilla (kg ha^{-1}) en Pontevedra y Salceda	81
Tabla 4.5: Valores medio de las distintas variables para cada clase	90

5. SEGUNDO EXPERIMENTO: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 5.1: Grado de significación de los distintos modelos analizados para las variables: materia seca aérea (MSA), materia seca radicular (MSR), número de nódulos (nuNod) y materia seca nodular (MSNod)	98
Tabla 5.2: Variables analizadas con el grado de significación para cada una de las fuentes de varianza del modelo	99
Tabla 5.3: Variables analizadas en regadío con su nivel de significación para cada una de las fuentes de varianza del modelo elegido	99
Tabla 5.4: Variables analizadas en ambiente con estrés hídrico con su nivel de significación de cada una de las fuentes de varianza del modelo elegido.	101
Tabla 5.5: Modelo con genotipo-cepa: variables analizadas con su grado de significación de cada una de las fuentes de varianza	102
Tabla 5.6. Medias de la materia seca aérea (MSA) (g planta^{-1}) de las variedades y cepas, en la parcela de regadío	103
Tabla 5.7. Medias de la materia seca radicular (MSR) (g planta^{-1}) de las variedades y cepas, en la parcela de regadío	104

Tabla 5.8. Medias del número de nódulos (nuNod) por planta de las variedades y cepas, en la parcela de regadío	109
Tabla 5.9. Medias de la materia seca nodular (MSNod) (mg planta^{-1}) de las variedades y cepas, en la parcela de regadío	111
Tabla 5.10. Medias de la materia seca nodular media (MSNodM) (mg nódulo^{-1}) de las variedades y cepas, en la parcela de regadío	117
Tabla 5.11. Medias de la materia seca aérea (MSA) (g planta^{-1}) de las variedades y cepas, en la parcela de sequía.	119
Tabla 5.12. Medias de la materia seca radicular (MSR) (g planta^{-1}) de las variedades y cepas, en la parcela de sequía	121
Tabla 5.13. Medias del número de nódulos (nuNod) por planta de las variedades y cepas, en la parcela de sequía	126
Tabla 5.14. Medias de la materia seca nodular (MSNod) (mg planta^{-1}) de las variedades y cepas, en la parcela de sequía	127
Tabla 5.15. Medias de la materia seca nodular media (MSNodM) (mg nódulo^{-1}) de las variedades y cepas, en la parcela de sequía	130

6. TERCER EXPERIMENTO: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 6.1: Grado de significación del modelo y de cada una de las fuentes de varianza para las variables registradas	136
Tabla 6.2: Grado de significación del modelo y de cada una de las fuentes de varianza del mismo para las variables medidas por parcela elemental en regadío	138
Tabla 6.3: Grado de significación del modelo para cada una de las variables medidas por parcela elemental en condiciones de estrés hídrico	139
Tabla 6.4. Medias en regadío de las variedades y cepas de la producción de materia seca aérea (MSA) (g planta^{-1})	141
Tabla 6.5. Medias en regadío de las variedades y cepas de la masa de 100 semillas (MCS) ($\text{g } 100\text{semillas}^{-1}$)	142

Contenidos

Tabla 6.6. Medias en regadío de las variedades y cepas de la producción de materia seca grano (MSS) (g planta^{-1}). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas	144
Tabla 6.7. Medias en regadío de las variedades y cepas del número de nódulos por planta (nuNod)	145
Tabla 6.8. Medias en regadío de las variedades y cepas de materia seca nodular por planta (MSNod) (mg planta^{-1})	148
Tabla 6.9. Medias en regadío de las variedades y cepas del porcentaje de N en materia seca aérea (PNMSA) (%)	153
Tabla 6.10. Medias en regadío de las variedades y cepas del contenido de N en materia seca aérea (NMSA) (g planta^{-1})	155
Tabla 6.11. Medias en regadío de las variedades y cepas del porcentaje de N en materia seca semilla (PNMSS) (%)	157
Tabla 6.12. Medias en regadío de las variedades y cepas del contenido de N en materia seca de semilla (NMSS) (g planta^{-1})	158
Tabla 6.13. Medias en sequía de las variedades y cepas de la producción de materia seca aérea (MSA) (g planta^{-1})	160
Tabla 6.14. Medias en sequía de las variedades y cepas de la masa de 100 semillas (MCS) ($\text{g 100semillas}^{-1}$)	162
Tabla 6.15. Medias en sequía de las variedades y cepas de la producción de materia seca semilla (MSS) (g planta^{-1})	164
Tabla 6.16. Medias en sequía de las variedades y cepas del número de nódulos por planta (nuNod)	165
Tabla 6.17. Medias en sequía de las variedades y cepas de materia seca nodular por planta (MSNod) (mg planta^{-1})	167
Tabla 6.18. Medias en sequía de las variedades y cepas del porcentaje de N en materia seca aérea (PNMSA) (%)	171
Tabla 6.19. Medias en sequía de las variedades y cepas del contenido de N en materia seca aérea (NMSA) (g planta^{-1})	172
Tabla 6.20. Medias en sequía de las variedades y cepas del porcentaje de N en materia seca grano (PNMSS) (%)	174
Tabla 6.21. Medias en sequía de las variedades y cepas del contenido de N en materia seca aérea (NMSS) (g planta^{-1})	175

Tabla 6.22. Valores medios de las combinaciones correspondientes agrupados por intervalos de NHI	176
---	-----

7. DISCUSIÓN GENERAL

8. CONCLUSIONES

9. BIBLIOGRAFIA

ANEXOS

Tabla A2.1: Valores de campo utilizados para la determinación de Θ_{fc} : capacidad de campo. Θ_{wp} : punto de marchitamiento	228
---	-----

Tabla A2.2: Parámetros utilizados para el cálculo de ET_{caj}	229
--	-----

Tabla A3.1: Valores medios del análisis de suelos de las parcelas utilizadas en el ensayo 1 y 3	238
--	-----

INDICE DE FIGURAS

1. INTRODUCCIÓN

Figura 1.1: Organización de la diversidad genética del género <i>Phaseolus</i>	2
---	---

Figura 1.2: Judía escaflata (<i>Phaseolus coccineus</i> L.)	4
---	---

Figura 1.3: Judía tépari (<i>Phaseolus acutifolius</i> A. Gray)	5
---	---

Figura 1.4: Judía cacha (<i>Phaseolus dumosus</i> Macfad)	6
---	---

Figura 1.5: Judía de Lima (<i>Phaseolus lunatus</i> L.)	8
---	---

Figura 1.6: Fotografía de patrones de faseolina: B (Boyaca), C (Contender), H (Pampa), S (Sanilac) y T (Tender-green)	10
--	----

Contenidos

Figura 1.7: Razas de <i>Phaseolus vulgaris</i>	12
Figura 1.8: Ejemplar silvestre de <i>Phaseolus vulgaris</i> L	15
Figura 1.9: Porcentaje de las distintas leguminosas en la producción mundial de 2010	18
Figura 1.10: Evolución de la producción de judía grano 1961-2010	20
Figura 1.11: Porcentaje de las distintas leguminosas en la producción de España en 2009	21
Figura 1.12: Cultivo de judía asociada al maíz	22
Figura 1.13: Evolución de la producción nacional, importaciones y exportaciones de la judía grano durante período 1999 - 2009	23
Figura 1.14: Sección de un nódulo de judía común	25
Figura 1.15: Nódulos determinados de judía (<i>Phaseolus vulgaris</i>) y nódulos indeterminados de trébol blanco (<i>Trifolium repens</i>)	25
Figura 1.16: Esquema sobre el origen de los productos nitrogenados encontrados en la savia del xilema	29
Figura 1.17: Composición de la savia del xilema en función del porcentaje de fijación biológica de N	29
Figura 1.18: Desglose de la fijación mundial de nitrógeno	32
Figura 1.19: Evolución del consumo de abonos nitrogenados en España entre 1996 y 2010	
Figura 1.20: Rotación de los foliolos para evitar los rayos solares ante un estrés hídrico	33
 2. MATERIAL	
Figura 2.1: Experimento 1: Campo de ensayo en el Barrio de Hermida, Lalín (2005)	48
Figura 2.2: Experimento 2: Invernadero de EEA do Baixo Miño en Salceda de Caselas (2008)	50

Figura 2.3: Experimento 3: Campo de ensayo en EEA do Baixo Miño en Salceda de Caselas (2009)	50
Figura 2.4: Distintas clases comerciales de judía evaluada	52
Figura 2.5: Localización de las variedades ensayadas en un mapa coloreado según el índice de Turc para sequía	53
Figura 2.6: Autómata de riego Agronic 7000	58
Figura 2.7: Detalle de la disposición de las cajas y de la división interior	58
Figura 2.8: Equipo de digestión para proteína bruta Kjeldahl Bloc-Digest 12 (JPSelecta S.A.) y RAT-2 (JPSelecta S.A.)	59
Figura 2.9: Destilador para proteína bruta Kjeldahl Vapodest 6 (Gerhart) e irrometro (Irrrometer Company)	60
3. MÉTODOS	
Figura 3.1: Vista general de la disposición del entutorado en una fase inicial y final del cultivo	63
Figura 3.2: Detalle separación con láminas de polietileno entre parcelas elementales	64
Figura 3.3: Vista general de la disposición de las parcelas y particular	65
Figura 3.4: Tipos de hábitos de crecimiento en judía común	68
4. PRIMER EXPERIMENTO: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
Figura 4.1: Producción de grano (kg ha^{-1}) de regadío vs ambiente con estrés hídrico	82
Figura 4.2: Producción grano promedio de Pontevedra y Salceda regadío vs ambiente con estrés hídrico	84

Contenidos

Figura 4.4: Dendrograma de las variedades agrupadas por disimilitud por distancias euclídeas	89
5. SEGUNDO EXPERIMENTO: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
Figura 5.1. Sistema radicular de la variedad PMB-0286 en plantas en regadío	105
Figura 5.2. MSR frente a MSA para plantas A)entre 2,5 y 4,99% de MSR, B) entre 5,00 y 9,99% de MSR y C) entre 11 y 16% de MSR	107
Figura 5.3. MSR en g vs MSNod en mg en regadío	112
Figura 5.4. Gráfica de MSNod vs rendimiento de MSA/MSNod en escala logarítmica	114
Figura 5.5. MSNod vs MSA: A) Grupo 2 corresponde a las rendimientos 0,5 – 0,99 g mg ⁻¹ . B) Grupo 3 corresponde a las rendimientos 1,00 – 1,99 g mg ⁻¹	115
Figura 5.6: Frecuencias de la masa media nódulo por planta en mg para regadío	116
Figura 5.7. MSR frente a MSA para plantas entre A) 2,5 y 4,99%, B) 5,00-9,99% y C) 10,00-16,00% de MSR respecto al total de MS de la planta	124
Figura 5.8. MSR en g vs MSNod en mg en sequía	128
Figura 5.9 Gráfica de MSNod vs rendimiento de MSA/MSNod en escala logarítmica	129
Figura 5.10: Frecuencias masa nódulo medio por planta en mg nódulo ⁻¹ en sequía	131
Figura 5.11: Variación del tamaño del nódulo en función de la variedad y la cepa	132
Figura 5.12. A y B: nódulos de la variedad PMB-0222 inoculada con la cepa EPOB, en regadío (A) y sequía (B). C y D: nódulos de la variedad PHA-0683 inoculada con la cepa EG, en regadío (C) y sequía (D)	133
Figura 5.13: Gráfica MSNod vs MSA en sequía de nódulos BNO de PHA-0683, mayores a 2 mg nódulo ⁻¹	134

6. TERCER EXPERIMENTO: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Figura 6.1. Gráfica de MSNod vs rendimiento de MSS/MSNod en regadío en escala logarítmica	149
Figura 6.2. MSNod vs MSS en regadío. A) Grupo 3, B) Grupo 4, C) Grupo 5 y D) Grupo 6	151
Figura 6.3: Relación MSA vs PNMSA de las variedades PHA-0683 y PMB-0220	154
Figura 6.4: Relación NMSS vs MSNod de las variedades PHA-0471 y PMB-0244	159
Figura 6.5. Gráfica de MSNod vs rendimiento de MSS/MSNod en sequía en escala logarítmica	168
Figura 6.6. MSNod vs MSS en sequía. Grupo 3 corresponde a los rendimientos 2,00 – 2,99 g mg ⁻¹ . Grupo 4 corresponde a los rendimientos 3,00 – 3,99 g mg ⁻¹	169
Figura 6.7. Relación NMSA vs NMSS en sequía para combinaciones agrupadas según su NHI	176
Figura 6.8. Relación NMSS vs MSS en sequía	177

7. DISCUSIÓN GENERAL

8. CONCLUSIONES

9. BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

Figura A1.1: Temperatura media (°C) y días post-siembra en Salceda y Pontevedra	223
Figura A1.2: Temperatura mínima (°C) en Pontevedra y Salceda	224
Figura A1.3: Temperatura mínima y máxima (°C) en el experimento 2	225
Figura A1.4: Temperatura mínima y máxima (°C) en el experimento 3	226

Contenidos

Figura A2.1: Ensayo para la determinación de Θ_{wp} : punto de marchitamiento	228
Figura A2.2: Balance hídrico Pontevedra en sequía	231
Figura A2.3: Balance hídrico Pontevedra en regadío	231
Figura A2.4: Balance hídrico Salceda en sequía	232
Figura A2.5: Balance hídrico Salceda en regadío	233
Figura A2.6: Balance hídrico Lalín 2005 en sequía	234
Figura A2.7: Balance hídrico Lalín 2006 en sequía	234
Figura A2.8: Balance hídrico Xinzo 2005 en regadío	235
Figura A2.9: Balance hídrico Xinzo 2005 en sequía	235
Figura A2.10. Experimento 2: Registro de las sondas de humedad de regadío y sequía en porcentaje de humedad referido a capacidad de campo (CC)	236
Figura A2.11. Experimento 3: Registro de las sondas de humedad de regadío y sequía en porcentaje de humedad referido a capacidad de campo (CC)	237

Las imágenes utilizadas en las separaciones de los capítulos han sido tomadas de la página web de Neotropical Herbarium Specimens.

Phaseolus damosus



Introducción

1. Introducción

1. Introducción

1.1. El género *Phaseolus*.

El género *Phaseolus* taxonómicamente pertenece al orden *Fabales*, familia *Fabaceae*, subfamilia *Faboideae*, tribu *Phaseoleae*, Subtribu *Phaseolinae*. Es un género polimórfico que comprende unas 400 especies (Debouck, 1988) de las cuales sólo cinco fueron domesticadas: judía común (*Phaseolus vulgaris* L.), judía escarlata (*Phaseolus coccineus* L.), judía tépari (*Phaseolus acutifolius* A.Gray), judía cachea (*Phaseolus dumosus* Macfad, sin. *polyanthus*) y judía de Lima (*Phaseolus lunatus* L.). El cultivo de estas especies tiene por objeto la obtención de semillas secas o vainas verdes para la alimentación humana. Además, pueden tener un aprovechamiento forrajero o utilizarse como mejoradoras del suelo, al incrementar su contenido de N gracias a la fijación biológica del N₂ atmosférico (Freytag y Debouck, 2002).

Las cinco especies antes citadas se cultivaron por los pueblos precolombinos como fuente principal de proteína para compensar al escaso desarrollo que la ganadería tuvo en estas civilizaciones. En los albores de las civilizaciones precolombinas, la judía común era la especie que tenía mayor aceptación y había sufrido una selección más intensa. Las formas arcaicas de *Phaseolus vulgaris* L. crecieron entre las zonas subtropical seca y tropical templada donde se asentaron la mayoría de las civilizaciones precolombinas, lo que podría explicar la elección de esta especie. Pero es a partir de 1492 cuando la especie experimenta una expansión, tanto en el continente americano como europeo (Hernández y León, 1994). En Europa, la Península Ibérica se considera un centro de diversidad genética secundario de judía (Santalla et al., 2002).

En la **Tabla 1.1** se resumen los parámetros ambientales, fenológicos y productivos de las principales especies cultivadas de género *Phaseolus*. La judía común es la que tiene un mayor rango de altitudes y la judía de Lima tiene el mayor rango de

precipitaciones, con lo que se adaptarían perfectamente desde las zonas más áridas a las lluviosas.

Tabla 1.1: Especies cultivadas del género *Phaseolus*: altitud, temperatura diurna, precipitación media anual, duración del ciclo de crecimiento desde inicio a cosecha y producción potencial en zonas tropicales.

Especie	Altitud (msnm)	Temperatura (°C)	Precipitación (mm año ⁻¹)	Ciclo crecimiento (d)	Producción (kg ha ⁻¹)
Judía común	50 - 3000	14 - 26	400 - 1600	70 - 330	400 - 5000
Judía escaflata	1400 - 2800	12 - 22	400 - 2600	90 - 365	400 - 4000
Judía tépari	50 - 1900	20 - 32	200 - 400	60 - 110	400 - 2000
Judía cacha	800 - 2600	14 - 24	1000 - 2600	110 - 365	300 - 3500
Judía de Lima	50 - 2800	16 - 26	0 - 2800	90 - 365	400 - 5000

* msnm: metros sobre el nivel del mar

La organización de la diversidad genética en el género *Phaseolus* está basada en la habilidad de las especies de cruzarse con *P. vulgaris*, por lo que se ha sugerido que tal organización está dividida en cuatro acervos genéticos diferentes de acuerdo a relaciones filogenéticas (Smartt, 1980; Singh, 2005), como se muestra en la **Figura 1.1**.

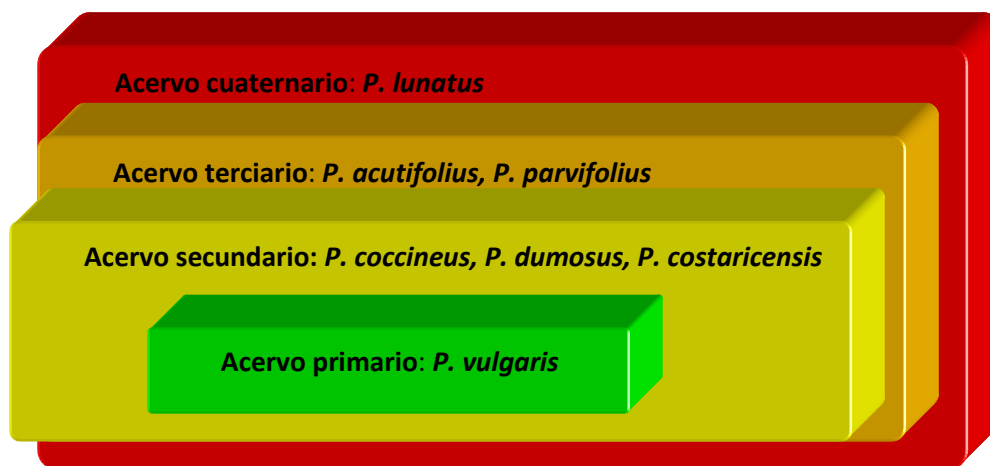


Figura 1.1: Organización de la diversidad genética del género *Phaseolus*.

1. Introducción

1.1.1. Judía común.

La judía común, es una planta herbácea, anual, de porte muy diverso (desde rastrera a erecta, pasando por voluble y enredadera). Su hoja es pinnatitrfoliadas y con foliolos de bordes casi siempre enteros y con estípulas lanceoladas. Las flores tienen un cáliz más o menos tubuloso, la corola de pétalos de forma y color muy diferentes y quilla típicamente espiralada. El fruto es una legumbre poliesperma, dehiscente en las formas silvestres, de forma y tamaño variables (Freytag y Debouck, 2002).

Las vainas verdes se consumen y dependiendo de la zona se denominan: judías verdes, vainas, ejotes, porotos verdes, vainicas o chauchas. Pero generalmente se consumen sus semillas, también llamadas: judías, fabes, frijoles, alubias, caraotas, chícharos, fabas, frejoles, frisoles, granos, habas, habichuelas, pochas o porotos.

1.1.2. Judía escarlata.

Es una especie plurianual de gran vigor vegetativo que posee un hábito de crecimiento indeterminado con tallos de varios metros. Sus semillas son de gran tamaño (80-170 g 100 semillas⁻¹), aunque en la forma silvestre son más pequeñas (6-12 g 100 semillas⁻¹) (**Figura 1.2.**). Sus inflorescencias son grandes con flores rojo escarlata, blancas o más raramente bicolors. Florece a partir de los 50 días de la siembra. La polinización es cruzada en la mayoría de los casos, ayudada por la presencia de un estigma extrorso y nectarios (Freytag y Debouck, 2002).

Los hallazgos arqueológicos son escasos, y se concentran en las zonas húmedas y altas de México, donde se supone tuvo lugar su domesticación. Su introducción en el sur de Colombia (Antioquía y Nariño) y en Europa (donde se conoce con los nombres de “haricot d'Espagne” y “scarlet runner”) podría haber ocurrido a partir del siglo XVII (Hernández y León, 1992). Una distribución muy localizada de los ascendentes silvestres puede ser la responsable de la escasa

expansión ecológica de esta leguminosa (Debouk, 1999). El Reino Unido es el mayor productor europeo de *P. coccineus*, pero es cultivado mayoritariamente en huertos familiares, y en ocasiones como especie ornamental. Esta especie se adapta mejor a las bajas temperaturas que la judía común (Rodiño et al., 2007). Una producción típica de Castilla-León es el llamado “judión de La Granja”, que es un cultivar de *P. coccineus* de semilla muy grande y blanca. Es muy apreciada en el mercado y está incluida en la Indicación Geográfica Protegida (IGP) de “Judías del Barco de Ávila”.



Figura 1.2: Judía escaarlata (*Phaseolus coccineus* L.)

1.1.3. Judía tépari.

La forma cultivada, así como las silvestres son de ciclo corto, florecen a los 27-40 días después de la germinación y maduran a los 60-80 días. Son plantas de hábito indeterminado. Existen dos formas de semillas: una de grano pequeño, redondeado, blanco o negro; y otra de grano anguloso, romboédrico, de mayor tamaño y de gran variedad de colores (**Figura 1.3**). El tépari oscila entre 10 y 20 g 100 semillas⁻¹ (Freytag y Debouck, 2002).

Esta especie se cultiva desde hace mucho tiempo en Mesoamérica, y principalmente como legumbre en las zonas desérticas o con una larga temporada seca. Existen hallazgos arqueológicos que han mostrado una gran antigüedad del cultivo de esta especie en el suroeste de Estados Unidos (donde habría penetrado

1. Introducción

desde México hace 1200 años) (Nabhan y Felger, 1978; Muñoz et al., 2006). Se consume mayormente el grano seco por su riqueza en proteínas (17-27 %) y glúcidos (Hernández y León, 1994). La fracción proteínica no está exenta de factores antinutricionales: inhibidores de la actividad de la tripsina, ácido fítico, etc.

No se sabe aún con precisión el lugar de domesticación de esta especie. Los análisis electroforéticos de la faseolina y de isoenzimas indican una escasa variabilidad, lo que supone que la domesticación se inició con un número muy reducido de poblaciones. Esto pudo deberse a una extinción histórica, a que la base genética de los ecotipos silvestres fuese ya reducida en el momento de su domesticación, o sencillamente a la autogamia de la especie. (Pratt y Nabhan, 1988; Debouk, 1999).

Es una especie con gran potencial en zonas subdesérticas (Castonguay y Markhart, 1992). La judía tépari comparte gran parte de su genoma con la judía común (Muñoz et al., 2006), pero a pesar de esto existe una barrera importante que impide el cruzamiento entre ambas especies (McClellan et al., 2004). Esta similitud genética es utilizada para primero detectar en judía tépari los genes de resistencia al estrés hídrico severo, que después se buscarán en los programas de mejora de judía común (Micheletto et al., 2007). De igual manera se puede proceder para incrementar la tolerancia al calor (Rainey y Griffiths, 2005b).



Figura 1.3: Judía tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray).

1.1.4. Judía cacha.

Es una planta plurianual que puede vivir 2-4 años, pero en entornos más secos tiende a comportarse como anual. Su semilla (70-100 g 100 semillas-1, y 16-25 g 100 semillas-1 en las formas silvestres) presenta un hilo amplio y elíptico. Las semillas son normalmente amarillo-anaranjadas, pero puede tener una coloración variada (**Figura 1.4**) (Freytag y Debouck, 2002).

En comparación con las formas silvestres y con las demás especies, *P. dumosus* está menos evolucionada, lo que parece ser resultado de una domesticación más reciente (Schmit y Debouck, 1991).

El Judía cacha es una especie que prefiere los suelos profundos, orgánicos, húmedos, filtrantes, con pH 6,2- 6,5. Tolera cierto nivel de sombra. En regiones de clima húmedo y altitud intermedia de Mesoamérica se cultiva asociado con maíz, calabazas, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. Tradicionalmente se prefiere el grano verde por su mejor digestibilidad y por tener el tegumento más tierno (Hernández y León, 1994).

Puede suponer una importante fuente de genes para la mejora de *P. vulgaris*, entre las que se encuentran resistencias a varias enfermedades fúngicas (*Phoma exigua*), tolerancia al frío y engrosamiento del tallo (Singh, 1999b; Schmit y Baudoin, 1992).



Figura 1.4: Judía cacha (*Phaseolus dumosus* Macfad).

1. Introducción

1.1.5. Judía de Lima.

Es una especie plurianual que se distingue fácilmente por sus semillas en forma de media luna (**Figura 1.5**). Es una especie autógama, aunque la polinización cruzada puede llegar a superar el 32 %. Los genotipos más precoces florecen 35 días después de la siembra y terminan su ciclo en 100 días. La mayoría de las variedades tradicionales son de crecimiento indeterminado, con tallos de 3 a 6 m (Freytag y Debouck, 2002). Las semillas pueden contener un glucósido cianogénico, la limanarina (300mg 100 g⁻¹), aunque la mayoría de las variedades cultivadas tiene unos valores bajos (Ologhobo et al., 1984; Hill, 2003).

Vekemans et al. (1998), basándose en las variaciones del DNA de los cloroplastos, lo sitúan en un grupo filogenético distinto al resto de las especies de *Phaseolus* domesticadas. Existen dos morfotipos de semilla diferente que corresponden a formas silvestres distintas domesticadas en zonas diferentes (Gutierrez Salgado et al., 1995; Fofana et al., 1997): los cultivares de semilla grande y los cultivares de semilla pequeña.

Los cultivares de semillas grande (54-280 g 100 semillas⁻¹) están localizados en la zona andina. Los cultivares de semilla pequeña (24-70 g 100 semillas⁻¹) se localizan en Mesoamérica. Su domesticación fue muy posterior a la judía común, los hallazgos más antiguos sólo tienen 1200 años. El estudio comparativo del DNA del cloroplasto de los diferentes ecotipos confirma el origen Andino de esta especie. El ecotipo silvestre domesticado en Mesoamérica descendería de un antepasado silvestre andino (Fofana et al., 1999), que pudo migrar a la zona de Tehuantepec después de la formación del Istmo de Panamá (Serrano-Serrano et al., 2010). *P. lunatus* probablemente tiene una amplia base genética por la extensa distribución de su antecesor silvestre y los múltiples núcleos de domesticación (Baudoin et al., 1992). En España también se le conoce como “garrofo”, que se utiliza en la paella valenciana.



Figura 1.5: Judía de Lima (*Phaseolus lunatus* L.)

1.2. Origen y domesticación de la judía común.

El origen de la judía común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una forma silvestre (Bücher, 1988) que habita el continente americano y desde donde se extendió al resto del mundo. La gran diversidad que se encuentra actualmente, es la respuesta, en forma de cambios morfológicos, fisiológicos y genéticos, que esta especie ha dado a la diversidad de ambientes a los que se ha tenido que enfrentar y a la presión de la selección que ha ejercido el hombre sobre ella (Gepts y Debouck, 1991)

A partir de datos arqueológicos, botánicos, históricos y lingüísticos, Gepts y Debouck (1991) concluyeron que la judía común se originó en América, entre el norte de México y el noroeste de Argentina. Existen gran cantidad de restos arqueológicos: semillas, similares a las cultivadas actualmente o fragmentos de vainas, etc. (Kaplan, 1981). Los yacimientos localizados en los Andes (Perú, Chile, Ecuador y Argentina), contienen los restos más antiguos, datados entre 10000 y 8000 años AC. En Mesoamérica y Norteamérica son más recientes (6000 a 1000 años AC) y se localizan en suroeste de Estados Unidos, Tehuacán y el valle de Oaxaca (Kaplan, 1981). Estudios recientes con microsatélites en cultivares y genotipos silvestres, sitúa el centro de domesticación en la zona Oeste-Central de México (Kwak et al., 2009).

1. Introducción

Evans (1976) fue el primero en reconocer la existencia de dos acervos genéticos, tanto en judía silvestre como cultivada: el Andino y el Mesoamericano. Esto induce a pensar en la existencia de más de un centro de domesticación. Para diferenciar los dos acervos existen marcadores morfológicos y agronómicos que los diferencian: tamaño de la semilla, forma de las bracteolas y del foliolo, pilosidad del foliolo, etc. (Gepts y Debouck, 1991; Singh et al., 1991a). Los marcadores bioquímicos y moleculares tienen la ventaja, frente a los anteriores, de no estar afectados por el ambiente y de ser más fáciles de observar (Gepts, 1988). Los marcadores bioquímicos más utilizados son la faseolina e isoenzimas (Koenig y Gepts, 1989; Singh et al., 1999b) y los moleculares son RAPDs (*random amplification of polymorphic DNA*), AFLP (*amplified fragment length polymorphism*), RFLPs (*restriction fragment length polymorphism*) y SSR (*short sequence repeat*) (Khairallah et al., 1992; Freyre et al., 1996; Schneider et al., 1997; Beebe et al., 2000; Du et al., 2009; Muchero et al., 2010). El acervo Mesoamericano presenta semillas pequeñas, con faseolina "S" o "B" (**Figura 1.6**) y bracteolas grandes y ovaladas. El acervo Andino tiene semillas grandes, faseolina "T", "H" y "C" con bracteolas pequeñas y triangulares. Esta distribución paralela pudo ser debida a una domesticación múltiple con cruces ocasionales entre formas silvestres y cultivadas (Gepts y Debouck, 1991).

El estudio de los polimorfismos del DNA mitocondrial (Khairallah et al., 1992) y DNA de cloroplastos (Chacón et al., 2005) confirman la existencia de domesticación en dos áreas independientes de Mesoamérica y los Andes. Las tres razas andinas (Chile, Perú y Nueva Granada) comparten el mismo haplotipo de cloroplasto, lo cual pone de manifiesto la existencia de una única especie silvestre domesticada que por divergencia genética dio lugar a las tres razas andinas actuales. Khairallah et al. (1992) y Beebe et al. (2001) establecen que el origen sea una o varias poblaciones similares de judías silvestre de la ladera Este de los Andes bolivianos.

El acervo Mesoamericano es más complejo. A partir de los trabajos de Chacón et al. (2005) y Beebe et al. (2000) con RAPDs, se puede concluir en la existencia en este acervo de cuatro centros de domesticación, que corresponderían a las razas Jalisco, Mesoamericana, Durango y Guatemala (**Tabla 1.2** y **Figura 1.7**). La raza Jalisco habría sido domesticada en la región de Jalisco donde se encuentran las especies silvestres con faseolina S y haplotipo de cloroplasto L. Las razas Mesoamericana y Durango a pesar de compartir el mismo haplotipo K, presentan suficiente diferencia entre sus RAPDs para creer en la existencia de dos centros de domesticación independientes. La raza Mesoamericana sería domesticada en los valles de Oaxaca mientras la raza Durango lo haría en la zona montañosa de Durango. Khairallah et al.

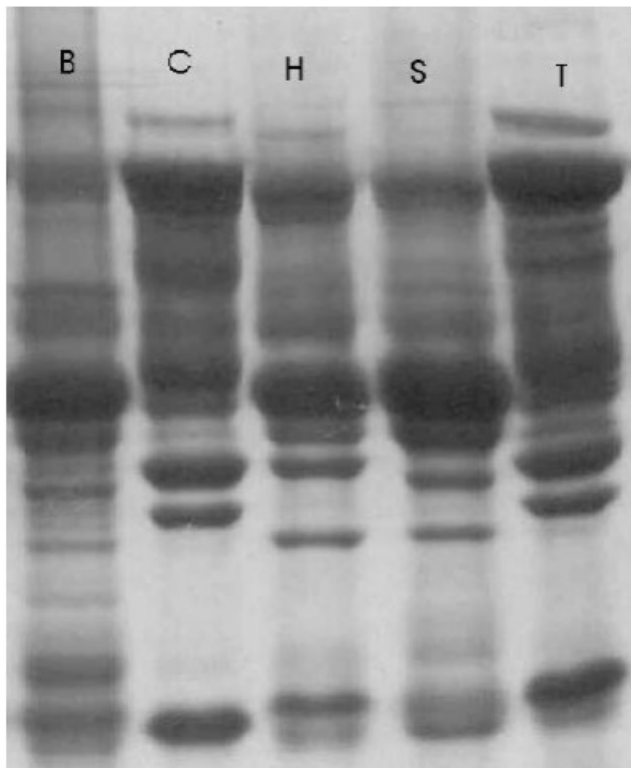


Figura 1.6: Fotografía de patrones de faseolina: B (Boyaca), C (Contender), H (Pampa), S (Sanilac) y T (Tender-green) (Rodiño et al., 2001).

1. Introducción

(1992) y Beebe et al. (2000) también incluirían una cuarta raza mesoamericana, Guatemala, que se localizaría entre las zonas montañosas del sur de México y Guatemala, donde debido al aislamiento evolucionó a una población silvestre diferenciada cuyo haplotipo I comparte los cultivares domesticados en esa zona.

Tabla 1.2: Acervo Mesoamericano: Principales clases comerciales de judía común y su distribución. (Singh, 1999a; Beebe et al., 2000)

Raza	Clase comercial	Color	Localización
Durango	Bayo	crema	Altiplano México
	Flor de Mayo	motas rosas	Altiplano México
	Great Northern	blanca	Europa, Norte América, Asia
	Ojo de Cabra	marrón claro	Altiplano México
	Rosa	rosa	Norte América
	Pinta	marrón claro	Norte América
	Roja	roja	Norte América
Mesoamérica	Negra	negro	Argentina, Brasil, Venezuela, Caribe, M y Norte América
	Carioca	rayas marrón	Brasil, Bolivia
	Jalinho	crema	Brasil
	Mulatinho	rayas marrón	Brasil
	Roja	roja	Meso América, China
	Blanca	blanca	África, China, N América
Jalisco	Garbancillo zarco	amarillo	Altiplano México
Guatemala	Bolinillo	blanca	Chiapas, Guatemala, Rwanda



Figura 1.7: Razas de *Phaseolus vulgaris* L (Singh et al., 1991).

La raza Durango es la más resistente a las situaciones de estrés hídrico (Singh, 1995, Muñoz-Perea et al., 2006 y Singh 2007). Los tipos comerciales de la raza Durango son: Bayo, Flor de Mayo, Great Northern, Ojo de Cabra, Rosa, Pinta y Roja. La raza Mesoamérica, que incluye las variedades de grano negro opaco pequeño y de hábito de crecimiento indeterminado Tipo II ó III, de regiones del trópico húmedo y de baja altitud. Los tipos comerciales de la raza Mesoamérica son: Negra, Carioca, Jalinho, Mulatinho, Roja y Blanca. La raza Jalisco de grano negro brillante mediano y

1. Introducción

de hábito de crecimiento indeterminado postrado Tipo III, sembradas principalmente en el Altiplano de México (Singh et al., 1999a). La raza Guatemala tiene crecimiento indeterminado tipo III (Beebe et al., 2000).

Los cultivares pertenecientes al acervo Andino (**Tabla 1.3** y **Figura 1.7**) se han desarrollado en regiones de alta montaña, templadas y húmedas, por lo que no están adaptadas a ningún tipo de estrés ambiental. (Rosales-Serna et al., 2004). La raza más extendida por su productividad y gran tamaño de semilla es la Nueva Granada. Los tipos comerciales más comunes son: Alubia, Azufrado, Calima, Manteca, Cranberry, Alubia roja oscura, Alubia roja clara y Radical. En la raza Chile las variedades comerciales más comunes son la Tórtola y Coscorrón, mientras en la Perú son las ñuñas o “popping bean” que se consume tostada (Chacón et al., 2005).

Tabla 1.3: Acervo Andino: principales clases comerciales de judía común y su distribución. (Paredes y Gepts, 1995; Singh, 1999a)

Raza	Clase comercial	Color	Localización
Chile	Tórtola	canela	Regiones bajas y secas S Andes
	Coscorrón	blanca	
Nueva Granada	Alubia	blanca	Argentina, Europa, Norte África O Asia
	Azufrado	blanca	Costa Pacífico México y Perú
	Calima	moteado rojo	África, Andes y Caribe
	Manteca	crema	Andes
	Cranberry	crema y rojo	África, Asia, Europa N y S América
	Alubia roja oscura	rojo oscuro	África, Andes, Norte América
	Alubia roja clara	rojo clara	África, Norte América
Perú	Radical	roja	Andes
	Ñuñas	rojo claro	Andes peruanos

Durante el proceso de domesticación se han producido una serie de cambios en la planta de judía que las diferencian de sus parentales silvestres (**Figura 1.8**). Al conjunto de estos cambios se le denomina “Síndrome de Domesticación” (Smartt, 1988; Koinange 1996):

- Gigantismo (incremento del tamaño de la semilla, vaina y hoja)
- Paso de un crecimiento indeterminado a uno determinado (no siempre)
- Cambio de vida perenne a ciclo anual
- Pérdida del hábito trepador (no siempre)
- Reducción de nudos en tallo principal y aumento distancia entre ellos.
- Reducción del ciclo reproductivo (días floración, días madurez vaina)
- Supresión de la dehiscencia de la vaina
- Pérdida de la latencia de la semilla
- Supresión de semillas de tegumento duro
- Pérdida de pigmentación de las semillas (no siempre)
- Aumento del índice de cosecha
- Pérdida de la sensibilidad al fotoperiodo

Según el trabajo de Koinange et al. (1996) este proceso de domesticación fue rápido (gracias a una gran diversidad genética y una alta intensidad en la selección) y estos cambios evolutivos se debieron más a la modificación de unos pocos genes con gran repercusión en la morfología de la planta, que una acumulación gradual de pequeños efectos. Las poblaciones actuales cultivadas y silvestres son simpátricas y probablemente exista un flujo genético entre ellas (Papa y Gepts, 2003).

1. Introducción



Figura 1.8: Ejemplar silvestre de *Phaseolus vulgaris* L.

1.3. Valor nutritivo

La judía común es un cultivo destinado básicamente a la alimentación humana. Es un alimento rico en proteínas, glúcidos, vitaminas, minerales y fibra. La judía grano tiene un 50-70 % de glúcidos (**Tabla 1.4**), entre almidón, mono-, di- y oligosacáridos. El almidón puede llegar a representar 70-80 % de los glúcidos. Los oligosacáridos (rafinosa, verbascosa y ajucosa) suponen un 3 % de los glúcidos y al no ser asimilados en el intestino delgado, son degradados por las bacterias de intestino grueso produciendo flatulencias (Sathe y Deshpande, 2003). La judía grano tiene un importante contenido de proteína, 239,4 a 270,6 g kg⁻¹ de materia seca, aunque su calidad no es comparable a la de la proteína animal. La susceptibilidad a la proteólisis es variable, 57- 96 % una vez cocinada (Santalla et al., 1999; Wang, 2010). El modelo de proteína ideal de la FAO-OMS sirve para evaluar la calidad de la proteína. Una proteína será de mejor calidad en la medida que tenga una proporción de aminoácidos similar a la proteína patrón (**Tabla 1.5**). La judía grano tiene como

aminoácidos limitantes la metionina y cisteína, pero mediante programas de mejora podría aumentarse su disponibilidad hasta un 37 % (Montoya et al. 2010). En los países en vías de desarrollo, la judía grano se utiliza como complemento en las dietas de cereales. Esta leguminosa aporta la lisina que es fundamental para el balance de aminoácidos esenciales. La judía grano también es importante por su contribución de hierro a la dieta, 6,79 mg 100 g⁻¹, lo cual supone el triple de hierro que la carne de vacuno. La judía común tiene una importante cantidad de antinutrientes: inhibidores de la actividad trípica (TIA), taninos y ácido fítico. El contenido de taninos en judías de grano coloreado oscila entre 13,0 a 19,9 g kg⁻¹ de materia seca, mientras en las variedades blancas su valor es casi nulo. El contenido de ácido fítico se encuentra entre 9,6 a 13,8 g kg⁻¹ de materia seca. Este compuesto de fósforo además de no ser asimilable por el organismo, bloquea la absorción de minerales esenciales como el K y Zn. La cocción además de suavizar la textura de los granos sirve para reducir los niveles de TIA un 87 % y los de taninos 76 %. (Hill, 2003; Wang et al. 2010).

La leguminosas tienen un peso importante en los países menos desarrollados, en Burundi suponen el 50 % de la proteína de su dieta. Sin embargo, en los países desarrollados la importancia es menor, en España solo supone 3 % de la proteína de la dieta (FAOSTAT, 2012), pero son la base de una rica gastronomía tradicional.

Tabla 1.4: Valor nutricional de la judía verde y judía grano. (MAPA, 1984)

Valor nutricional 100g		Judías grano
Energía	kcal	312,70
Proteína	g	21,46
Glucidos asimilables	g	49,11
Fibra	g	9,73
Grasa	g	2,23
Ac.grasos esenciales	g	0,00
Colesterol	g	0,00

1. Introducción

Tabla 1.4: (Continuación).

Valor nutricional 100g		Judías grano
Tiamina (B₁)	mg	0,46
Riboflavina (B₂)	mg	0,20
Niacina (B₃)	mg	1,44
Vitamina B₆	mg	0,49
Ácido fólico (B₉)	mg	0,30
Calcio	mg	96,85
Hierro	mg	6,79
Magnesio	mg	104,39
Fósforo	mg	0,46
Zinc	mg	4,00

Tabla 1.5: Composición de aminoácidos en base 100 de la proteína patrón y de otros alimentos (MAPA, 1984).

	Composición aminoácidos									Calidad proteica	Aminoácidos limitantes	
	ile	leu	lys	met + cys	phe	tyr	thr	trp	val	%	1º	2º
Judía grano	11,0	19,9	18,8	4,9	13,6	6,5	10,3	2,6	12,0	51,1	met+cys	tyr
Arroz	10,9	21,5	9,4	9,5	12,6	8,3	8,6	3,5	15,1	61,8	Lys	thr
Came de ternera	10,8	18,2	19,9	8,8	9,8	8,0	10,3	2,4	11,2	80,9	val	trp
Came de cerdo	11,6	17,2	18,4	8,6	9,5	8,1	11,1	3,1	11,8	85,2	val	leu
Leche de vaca	11,4	22,2	12,9	5,6	12,4	11,3	7,9	2,5	13,2	59,4	met+cys	trp
Huevo	12,2	17,2	13,6	11,2	11,1	8,1	10,0	2,8	13,3	88,7	leu	lys
Patrón FAO-OMS	11,1	19,4	15,3	9,7	8,3	8,5	11,1	2,8	13,9	100,0		

1.4. Situación actual: superficie, producción y consumo

La producción mundial de leguminosas en el año 2010 se cifra en $400 \cdot 10^9$ Mg. En la **Figura 1.9**, aparecen los porcentajes de las distintas especies respecto a la producción mundial total de leguminosas (FAOSTAT, 2012). La leguminosa más importante es la soja con un 65 % de la producción, cuyo destino principal es la obtención de aceites

vegetales, y sus subproductos son utilizados en la industria de los piensos compuestos.

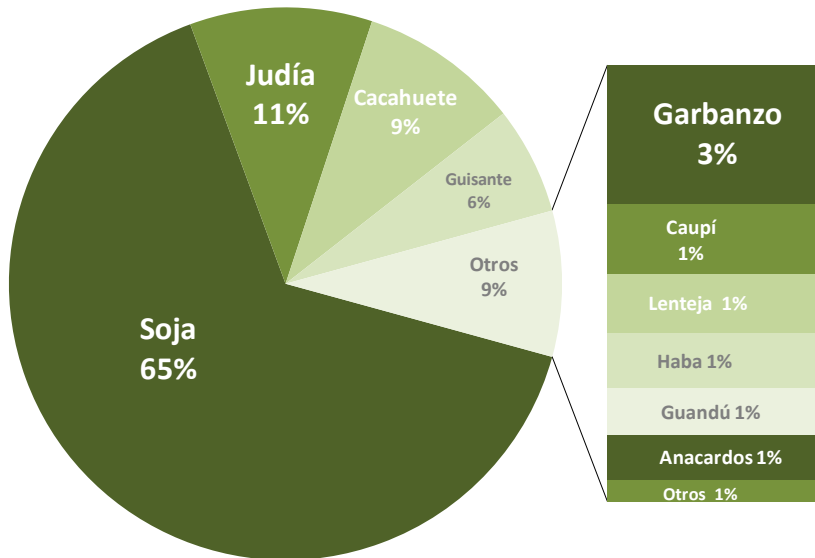


Figura 1.9: Porcentaje de las distintas leguminosas en la producción mundial de 2010 (FAOSTAT, 2012).

La judía (*Phaseolus vulgaris*), con un 11 % de la producción mundial de leguminosas, es la primera leguminosa cuyo destino principal es la alimentación humana, con un total de $43 \cdot 10^9$ Mg. En 2010, (Tabla 1.6) en el mundo se cultivaron $31 \cdot 10^6$ ha judía grano con una producción de $40,88 \cdot 10^9$ Mg y $0,23 \cdot 10^6$ ha de judías verdes con una producción de $1,94 \cdot 10^9$ Mg (FAOSTAT, 2012). La producción de judía grano está muy concentrada (Tabla 1.6). China e India producen casi el 50 % de la producción mundial y en los 10 primeros productores se concentra el 80 % de la producción. En la judía verde la concentración es mayor, Estados Unidos y Francia producen el 64% del total y solo 10 países producen el total mundial. La producción judía grano se localiza en países en vías de desarrollo, lo que da idea de la importancia que tiene esta leguminosa en la dieta nacional. La mayoría de la producción es para consumo nacional, salvo China que exporta $1046 \cdot 10^6$ Mg, lo que supone el 7 % de su

1. Introducción

producción. También exportan México $863 \cdot 10^6$ Mg y Uganda $434 \cdot 10^6$ Mg, que supone el 69 % y el 94 % de su producción respectivamente. Llama la atención Estados Unidos, que a pesar de ser un gran productor tiene que importar el 41% de la judía grano que consume.

Tabla 1.6: Principales países productores de judía grano y judía verde en 2010 (FAOSTAT, 2012).

2010		2010	
Judías grano		Judías verdes	
(10^6 Mg)		(10^6 Mg)	
China	14572	Estados Unidos	927
India	5452	Francia	318
Brasil	3202	Marruecos	160
Myanmar	3030	Filipinas	118
Estados Unidos	1495	México	102
México	1260	Polonia	65
Indonesia	1177	Turquía	60
Tanzania	950	Japón	48
Turquía	801	Argentina	46
Uganda	460	Iraq	41
Mundo	40884	Mundo	1941

Según la FAO, (**Figura 1.10**) el cultivo de judía grano en los últimos 49 años ha sufrido un crecimiento sostenido de 6 % anual. En este período la superficie total solo se ha incrementado un 34% y en cambio la producción ha triplicado. Este incremento en la producción se debe a la mejora en el control de plagas y enfermedades, abonado, gestión de los recursos hídricos y los programas de mejora en las variedades empleadas. A pesar de esta evolución favorable, aún existen países grandes productores como la India que tienen un rendimiento escaso (451 kg ha^{-1}). México posee un rendimiento intermedio de 709 kg ha^{-1} , y se debe a que existen zonas

amplias de producción como las del altiplano semiárido del Norte donde se cultivan 1,8 millones de hectáreas con un rendimiento de 680 kg ha⁻¹ (Rosales-Serna et al., 2000). Aún existe margen para la mejora de los rendimientos si se comparan estos resultados con los rendimientos de Canadá (1995 kg ha⁻¹) o Estados Unidos (1864 kg ha⁻¹).

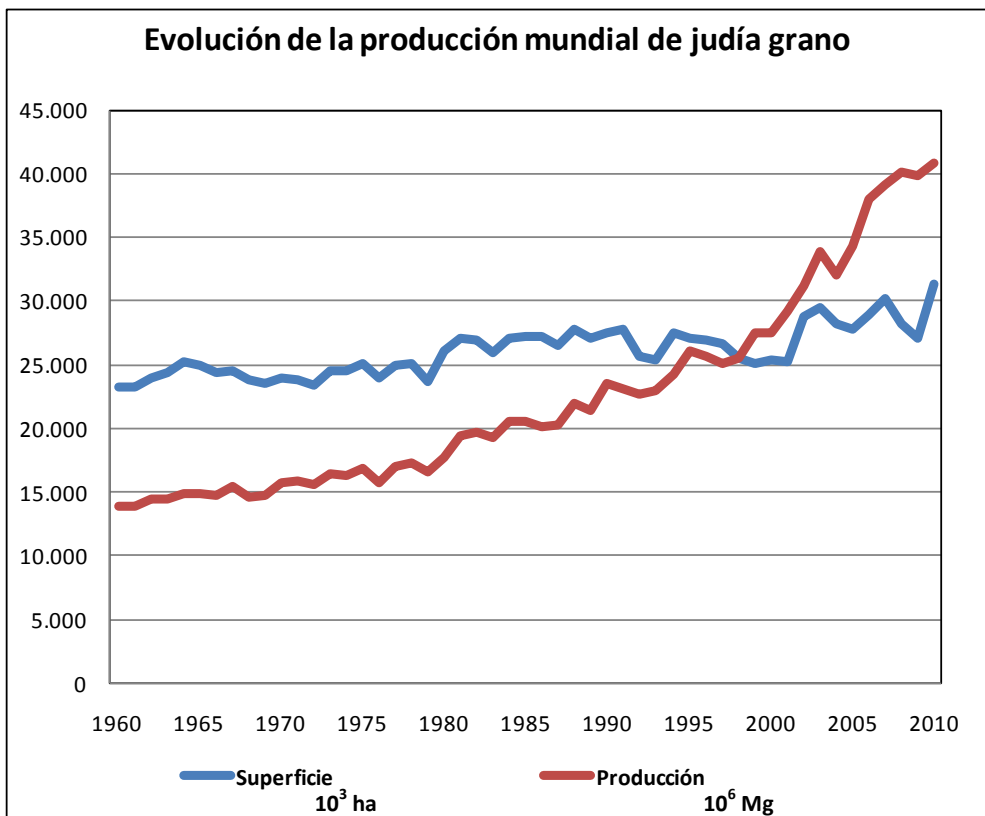


Figura 1.10: Evolución de la producción de judía grano 1961-2010. (FAOSTAT, 2012)

La producción de leguminosas secas en España en 2009 (Figura 1.11) fue de 285000 Mg de las que sólo el 28 % se destinaron a la alimentación humana. El 72 % restante se utilizó como materia prima en la industria de piensos. La leguminosa grano es un cultivo de secano, el 89% de las 311000 ha cultivadas en 2009. El mayor productor es Castilla-León con 112000 Mg, seguido de Castilla la Mancha y Andalucía

1. Introducción

con 70000 Mg y 51000 Mg respectivamente. La judía grano tiene un modesto sexto lugar dentro de las leguminosas grano, que con sus 13000 Mg solo supone el 5% de la producción total.

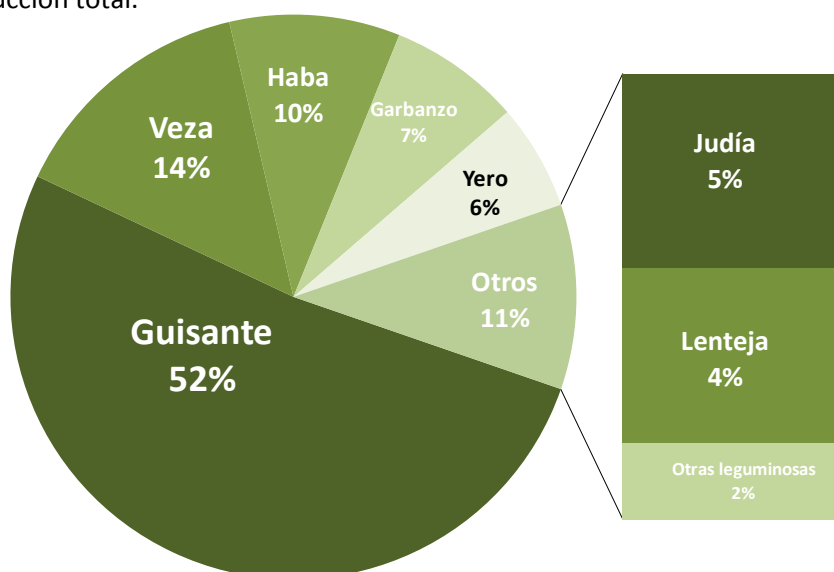


Figura 1.11: Porcentaje de las distintas leguminosas en la producción de España en 2009 (MAPA, 2010).

El 78% de la producción de judía grano está concentrada en dos comunidades autónomas: Castilla y León y Galicia. León con 5718 Mg es la provincia de mayor producción, lo que supone el 43% del total nacional (**Tabla 1.7**).

Tabla 1.7: Principales productores de judía grano en España en 2009 (MAPA, 2010).

2009	Superficie (ha)			Rendimiento (kg ha ⁻¹)		Producción grano (Mg)
	Secano	Regadío	Total	Secano	Regadío	
CASTILLA Y LEÓN	101	2.772	2.873	829	2.417	6.786
GALICIA	2.368	125	2.493	1.387	1.386	3.459
P. DE ASTURIAS	890	30	920	697	1.600	668
ESPAÑA	4.137	3.845	7.982	1.106	2.235	13.175

La judía es una excepción dentro de las leguminosas grano, ya que en 2009, el regadío supuso la mitad de las 7982 ha cultivadas (**Tabla 1.7**). Un 22% de la superficie

de judía grano suele cultivarse en asociación con maíz (**Figura 1.12**). A pesar de que el cultivo asociado supone una disminución en el rendimiento de judía de un 55 % y en el del maíz de un 33%, la Relación Equivalente de Tierra (**LER**) del cultivo asociado es de 1,12. En cultivos asociados con valores de LER > 1,0 indican que tienen una mayor productividad cuando están asociados, que cuando son cultivados de forma independiente. Además pone de manifiesto que el aprovechamiento de los recursos por parte de las dos especies es más complementario que competitivo. Este uso más intensivo de la tierra está muy extendida en el Norte de España, donde la superficie agraria de las explotaciones es limitada (Santalla et al., 1999, 2001A y 2001C). Las variedades utilizadas son trepadoras, de semillas grandes o extras grandes y con largos periodos de floración y llenado (Rodiño et al., 2006).



Figura 1.12: Cultivo de judía asociada al maíz.

1. Introducción

Existe la percepción por parte de del consumidor de que la judía grano es un producto ligado a la tierra y que forma parte de la tradición culinaria, por lo cual el consumidor está dispuesto a pagar un precio superior. Prueba de ello es la existencia de seis Indicaciones Geográficas Protegidas (IGP) como son: Alubia de la Bañeza - León, Faba asturiana, Faba de Lourenzá, Judía del Barco de Ávila, Judía del Ganxet Vallés-Maresme y Alubia del País Vasco. El fin de estas IGP, es la de proporcionar a los agricultores un cultivo de alto valor añadido, que permita conservar un nivel de renta aceptable y defenderlo de otras zonas del mundo con costes de producción menores y con los que no pueden competir. El consumo nacional se cifra en 60000-70000 Mg (**Figura 1.13**) y la producción nacional solo cubre el 20% de la demanda. España es un importador neto, siendo Argentina es el principal exportador con 31000 Mg, lo que supone el 63% del total importado. En los últimos años se ha recuperado la producción levemente y las importaciones han caído un 20%.

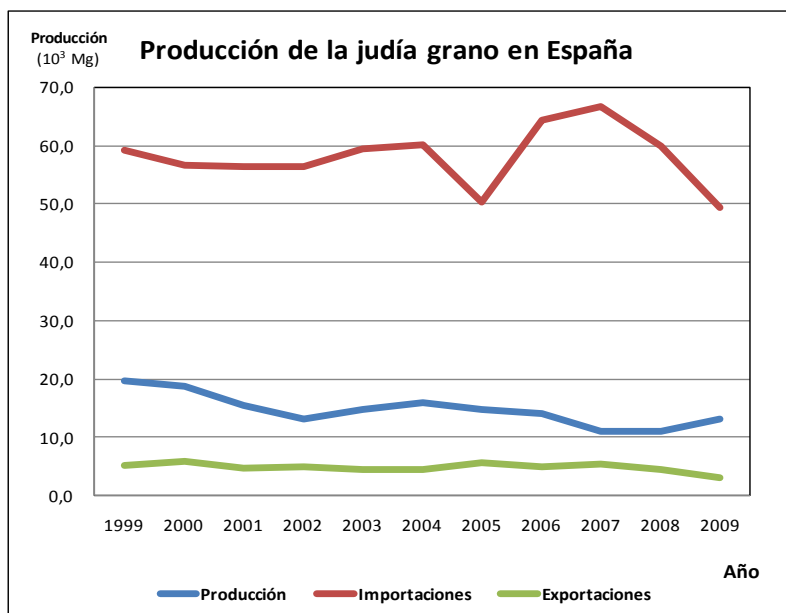


Figura 1.13: Evolución de la producción nacional, importaciones y exportaciones de la judía grano durante período 1999 - 2009.

1.5. Simbiosis *Rhizobium*-leguminosa

La simbiosis *Rhizobium*-leguminosa se puede calificar como rizoendosimbiosis mutualista estricta. En el establecimiento de esta simbiosis se pueden diferenciar dos procesos complejos: a) una infección controlada, y b) la aparición de un nuevo órgano en la planta, el nódulo, en el cual se lleva a cabo la fijación del nitrógeno atmosférico (**Figura 1.14**) (Mylona et al., 1995; Schultze y Kondorosi, 1998). Se han descrito dos tipos de nódulos en las leguminosas, nódulos determinados e indeterminados, que difieren en su morfología, en la estructura y desarrollo del cordón de infección (Rae et al., 1992), en la presencia o no de meristemo apical y en el tipo de metabolitos nitrogenados que exportan. Los nódulos indeterminados (**Figura 1.15**) se caracterizan por presentar un meristemo indeterminado situado en el ápice que origina nódulos pleomórficos, un sistema vascular abierto que conecta el sistema vascular de la raíz con el meristemo nodular, asparagina y glutamina como productos mayoritarios de traslado a la planta del nitrógeno fijado, bacteroides de gran tamaño individuales y un canal de infección ancho. Las leguminosas de zonas templadas como *Pisum*, *Vicia*, *Trifolium* y *Medicago* desarrollan nódulos indeterminados. Los nódulos determinados se caracterizan, a su vez, por presentar un meristemo apical determinado que origina nódulos globosos, un sistema vascular cerrado que se dicotomiza y es continuo por el nódulo, ureidos como productos mayoritarios de traslado a la planta del nitrógeno fijado, bacteroides en grupos de dos o más que se hallan entremezclados con células intersticiales no infectadas y canal de infección estrecho que apenas interviene en la distribución de las bacterias. Las leguminosas de zonas subtropicales y tropicales, *Glycine*, *Phaseolus*, *Vigna*, etc. presentan nódulos determinados (Sprent et al., 1989; Rae et al., 1992).

La importancia de la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa radica en la capacidad del nuevo órgano formado, el nódulo, de transformar el nitrógeno atmosférico en

1. Introducción

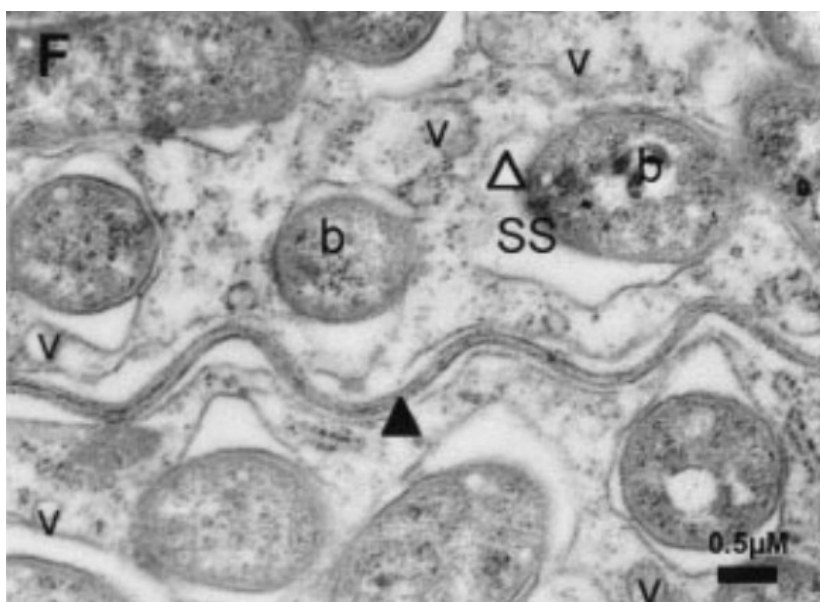
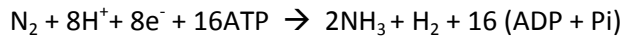


Figura 1.14: Sección de un nódulo de judía común. Triángulo negro, membrana plasmática planta; triángulo blanco, espacio vesícula endocítica o simbiosoma; b, bacterioide (*Rhizobium etli*); v, vesícula (Chuanwu et al., 2000).



Figura 1.15: Nódulos determinados de judía (*Phaseolus vulgaris*) y nódulos indeterminados de trébol blanco (*Trifolium repens*).

N asimilable para la planta, con lo que de esta manera se incorpora a la cadena trófica. La fijación biológica del N₂ es un proceso de reducción que convierte el nitrógeno molecular en amonio, según la siguiente ecuación:



La reacción está catalizada por un complejo enzimático denominado nitrogenasa o dinitrogenasa, que consta de dos componentes: La nitrogenasa propiamente dicha, caracterizada por poseer un cofactor de hierro y molibdeno (FeMoCo) que forma parte del centro activo y la nitrogenasa reductasa o ferroproteína (Olivares, 2006).

La familia *Rhizobiaceae* tiene células sin endosporas, normalmente con forma de bastón. Móviles, bien con un flagelo polar o subpolar, o bien con flagelos peritricos en número de dos a seis. Son microorganismos aerobios, Gram negativos, que pueden utilizar distintos glúcidos como fuente de C. En medios de cultivo que contienen glúcidos el crecimiento se caracteriza por la producción de gran cantidad de exopolisacáridos (Kuykendall, 2005). La capacidad del *Rhizobium* para fijar nitrógeno atmosférico en simbiosis con leguminosas y su gran implicación en la agricultura ha hecho que la taxonomía del grupo se haya realizado, durante mucho tiempo, en función de las especies de leguminosas que pueden comportarse como huéspedes en la simbiosis.

Todos los *Rhizobium* encontrados en judía fueron inicialmente asignados a la especie *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* sobre la base de su especificidad de hospedador, y separados de *R. leguminosarum* bv. *viciae* y *R. leguminosarum* bv. *trifolii*, simbioses de vezas y tréboles (Kuykendall, 2005). Esta misma subdivisión se haya avalada por las diferencias existentes entre sus megaplásmidos que codifican para la nodulación (Martínez et al., 1987 y 1988). Actualmente todos ellos se hallan encuadrados dentro de dos géneros, *Rhizobium* y *Sinorhizobium*. La especie de

1. Introducción

Rhizobium que predominantemente nodula la judía común es *Rhizobium etli*, aunque también está descrita simbiosis con otras especies como *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, *R. gallicum* bv. *phaseoli*, *R. giardinii* bv. *phaseoli* y *R. tropici*. También puede nodular y fijar nitrógeno con otros géneros: *Sinorhizobium arboris* y *Mesorhizobium huakuii*. Pero hay especies con las que nodula pero no fija nitrógeno: *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae*, *Rhizobium fredii*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Azorhizobium caulinodans*, *Mesorhizobium loti*, *Bradyrhizobium* sp. y *Sinorhizobium terangaie* (Buttery et al., 1990, Michiels et al., 1998; Martínez-Romero, 2003). Este amplio rango de especies con las que puede nodular da ideas de su promiscuidad como huésped y de la existencia de gran diversidad de interacciones planta-Rhizobium (Graham, 2008). Herrera-Cervera et al. (1999) han identificado en los suelos de España cinco especies con las que nodula: *R. etli*, *Sinorhizobium fredii*, *R. gallicum*, *R. giardini* y *R. leguminosarum*, donde *R. etli* es la especie más abundante (Rodríguez-Navarro et al., 2000). *R. tropici* ha sido aislada de judías y de nódulos de otras leguminosas en Europa, Australia y Centro América, siendo la especie predominante en los suelos de Brasil posiblemente por su tolerancia a los suelos ácidos (Martínez-Romero et al., 1991; Graham y Vance, 2000; Amarger et al. 1997; Hungria et al., 1997; Silva Pinto et al., 2007).

1.6. El nitrógeno en la planta

El NH_3 (o NH_4^+) fijado por *Rhizobium* pasa al citosol de las células que contienen los bacteroides y debido a su naturaleza tóxica, rápidamente la célula lo transloca en aminas (asparagina y glutamina) o en ureidos (alantoína y ácido alantoico) (Herridge et al., 1978; Hansen et al., 1993). Por otro lado, el N absorbido por las raíces suele estar en forma de nitrato. En las raíces parte del nitrato es reducido a NH_4^+ para translocarse en aminas y el resto queda en forma de ion nitrato

(Figura 1.16). A continuación, los nitratos, las aminos y los ureidos pasan a los haces vasculares para terminar en el xilema. Del xilema pasan a las hojas donde se degradan para formar NH_4^+ , que se incorpora a la síntesis de aminoácidos, amidas y proteínas. Existe una relación directa entre ureidos y fijación de biológica de nitrógeno. Hansen et al. (1993) en judía comprobó que el porcentaje de nitratos, aminos y ureidos en la savia de xilema variaban en función del porcentaje de N fijado biológicamente (%Ndfa) (Hansen y Pate, 1987; Peoples y Herridge, 1990; Giller 2001; Raso et al. 2007), como se aprecia en la Figura 1.17.

En los géneros *Phaseolus*, *Glycine* y *Vigna* la mayoría de los compuestos nitrogenados se transportan en forma de ureidos pero existen géneros como *Arachis*, *Pisum*, *Vicia*, *Lens* y *Cicer*, que no sintetizan ureidos y el N se transporta exclusivamente en forma de aminos (Devi et al., 2010).

Durante la fase de llenado la planta, para mantener la tasa de suministro de nutrientes a las semillas en un período de escasa disponibilidad, tiene que recurrir a la remobilización de C y N fijado desde otros órganos de la planta. En la judía el 39% del N de las semillas proviene de la movilización de otros órganos de la planta y en caso de sequía el porcentaje aumenta hasta el 73% (Foster et al., 1995). En garbanzo los porcentajes de movilización son superiores, 62% en regadío y 93% cuando sufren estrés hídrico (Davies et al., 2000).

Esta alta dependencia del N movilizado se atribuye a las altas necesidades para la síntesis de proteína y una sustancial disminución en la fijación de N durante la fase de llenado de las vainas (Kurdali et al., 1996). En las leguminosas de grano, la mayoría de N movilizado proviene de las hojas y está estrechamente relacionada con la senescencia de la planta. EL N movilizado procede de la descomposición de las proteínas fotosintéticas, incluida la clorofila, lo que provoca la clorosis de los órganos fotosintéticos. Vasilas et al. (1995) encontraron que la variabilidad genética en la movilización de N en soja, está relacionada con la duración del llenado de semillas.

1. Introducción

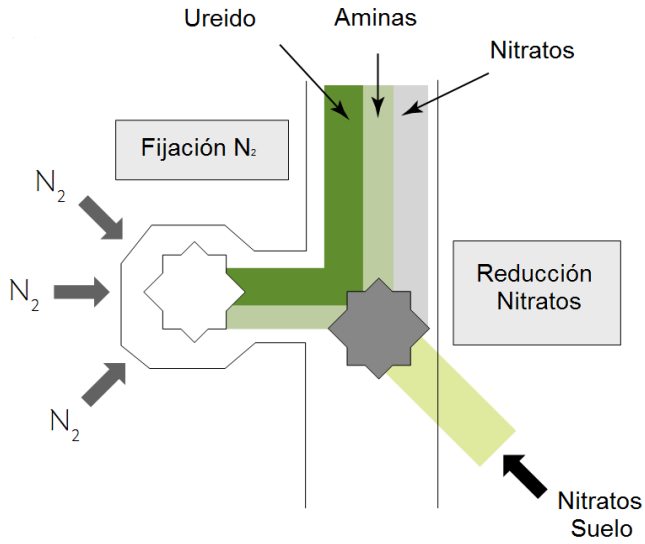


Figura 1.16: Esquema sobre el origen de los productos nitrogenados encontrados en la savia del xilema.

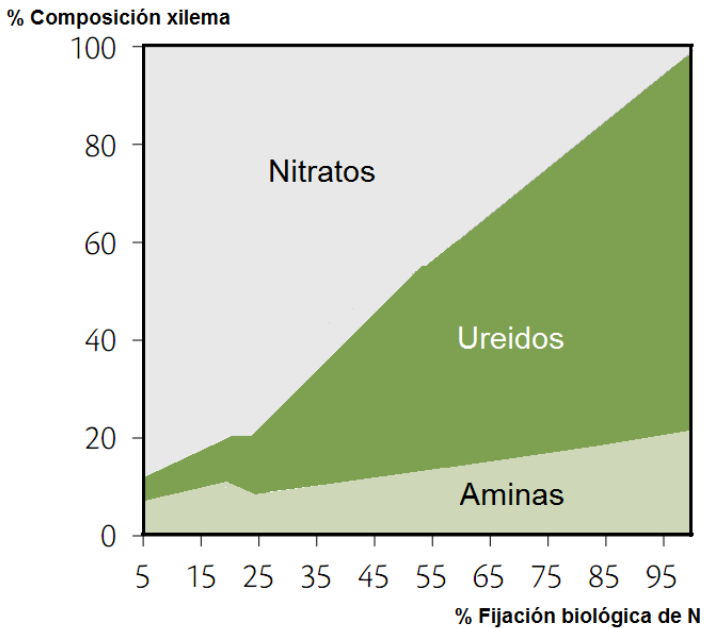


Figura 1.17: Composición de la savia del xilema en función del porcentaje de fijación biológica de N. (Hansen et al., 1993)

Los genotipos con períodos de llenado cortos movilizan más N que aquellos con períodos de llenado más largos. Pero la mayor o menor movilización del N no está correlacionado con la producción de grano (Kurdali et al., 1996).

La fijación de N_2 es un proceso con una alta demanda de energía, lo que provoca un alto consumo de glúcidos por parte de los nódulos. En algunos estadíos de crecimiento la fijación de N_2 consume 30-50% de los fotosintetizados netos por la planta al día (Minchin, 1997). Como término medio los nódulos representan el 23% de la respiración total de la raíz. La tasa máxima de fijación de N_2 , se obtiene a los 40-55 días después emergencia y oscila entre 0,55 y 11,93 mg N planta⁻¹ día⁻¹. La mejor combinación simbiótica coincide con mayor eficiencia relativa (Hungria et al., 1989). El rendimiento de la fijación de N_2 en judía es de 0 a 150 kg ha⁻¹ (Unkovich y Pate, 2000; Graham et al., 2003), y es bajo si se compara con leguminosas forrajeras (Caixeta Franco et al., 2001; Vadez et al., 1999)

1.7. Importancia del nitrógeno

El N es el elemento más abundante de la atmósfera terrestre y sin embargo es un elemento limitante para la vida. El N supone entre el 8 y 10% de los seres vivos y forman parte de compuestos tan importantes como los ácidos nucleicos y proteínas. La explicación a esta paradoja se encuentra en lo extremadamente inerte que es el N_2 atmosférico, el cual no resulta útil como fuente de N para la mayoría de los seres vivos. La excepción la constituyen un grupo variado de microorganismos procariontes llamados diazotrofos, que son capaces de transformar N_2 atmosférico en N combinado mediante un proceso complejo llamado fijación biológica de nitrógeno (FBN).

La FBN del N_2 atmosférico puede tener lugar en diversos hábitats, tanto acuáticos como terrestres, y se lleva a cabo por un amplio grupo de bacterias y arqueas, tanto aerobias como anaerobias, taxonómicamente poco relacionadas. Los

1. Introducción

diazótrofos consiguen combinar el N_2 a presión atmosférica y a temperatura ambiente gracias a un complejo enzimático conocido como nitrogenasa. Desde el punto de vista biogeoquímico el proceso de fijación de N_2 por procariontas es absolutamente vital para el mantenimiento del equilibrio en el ciclo de este elemento (más del 70% del nitrógeno que se aporta a la biosfera proviene de la actividad biológica).

La fijación global de N_2 se estima en unos $275 \cdot 10^6$ Mg N año⁻¹ (**Figura 1.18**), de las que $30 \cdot 10^6$ Mg se fijan por causas naturales como descargas eléctricas, erupciones volcánicas, etc. y $70 \cdot 10^6$ Mg por fijación industrial mediante el proceso Haber-Bosch. De las $175 \cdot 10^6$ Mg N año⁻¹ fijadas por la FBN, $140 \cdot 10^6$ Mg son fijados por organismos simbiotes y $30 \cdot 10^6$ Mg por organismos libres (de Felipe, 2006). El proceso Haber-Bosch, a partir de aire y metano, produce amoníaco, que es la base de la industria de los fertilizantes. Es un proceso industrial muy costoso por la cantidad de energía que requiere para alcanzar las condiciones de presión (300 bares) y temperatura (500 °C). Para la síntesis de 1 kg de nitrato amónico son necesarios 44 MJ y para 1 kg de urea 63 MJ (Audesley et al., 1997). En la **Figura 1.19** se puede ver la evolución del consumo de abonos nitrogenados en España. Al ser un producto con alto coste energético, su precio evoluciona según evolucione el precio de la energía, concretamente el precio del petróleo. La energía del petróleo es de 43 MJ kg^{-1} , por lo que hace falta 1 kg de petróleo para sintetizar 1 kg de abono nitrogenado (Audesley et al., 1997). La subida del petróleo ha supuesto un importante incremento del precio de los abonos nitrogenados, que ha provocado una disminución de su consumo debido a una utilización más racional de los mismos.

En los años 60 hubo un importante incremento de la producción agrícola en el ámbito mundial, la llamada "Revolución Verde", que fue consecuencia del empleo de técnicas de producción modernas, como la utilización masiva de fertilizantes, pesticidas y herbicidas. El efecto positivo de esta nueva agricultura fue la de producir

más alimento sin la necesidad de aumentar la superficie agraria. Los cultivos incrementan de una forma importante su rendimiento con el abonado nitrogenado pero la eficiencia de estos fertilizantes es relativamente baja, ya que se estima que la mitad del nitrógeno se pierde por lixiviación y desnitrificación. Este fertilizante no utilizado es el responsable tanto de problemas sanitarios como ecológicos. Las aguas contaminadas con nitritos suponen un riesgo para la salud, pues pueden producir metahemoglobinemia o aumentar la incidencia de algunos tipos de cáncer. La eutrofización de las aguas y la incorporación de nitrosaminas a la cadena trófica son los principales efectos sobre el medio ambiente. Por su parte, el proceso de desnitrificación, que es vital para la eliminación de los nitratos del medio ambiente, posee también efectos negativos. Los productos finales de este proceso, NO_2^- y NO , son gases con un enorme impacto ambiental, pues intervienen en la formación de la lluvia ácida, en el calentamiento global de la atmósfera y en la destrucción de la capa de ozono (Bohloul et al., 1992; Delgado y Bedmar, 2006).

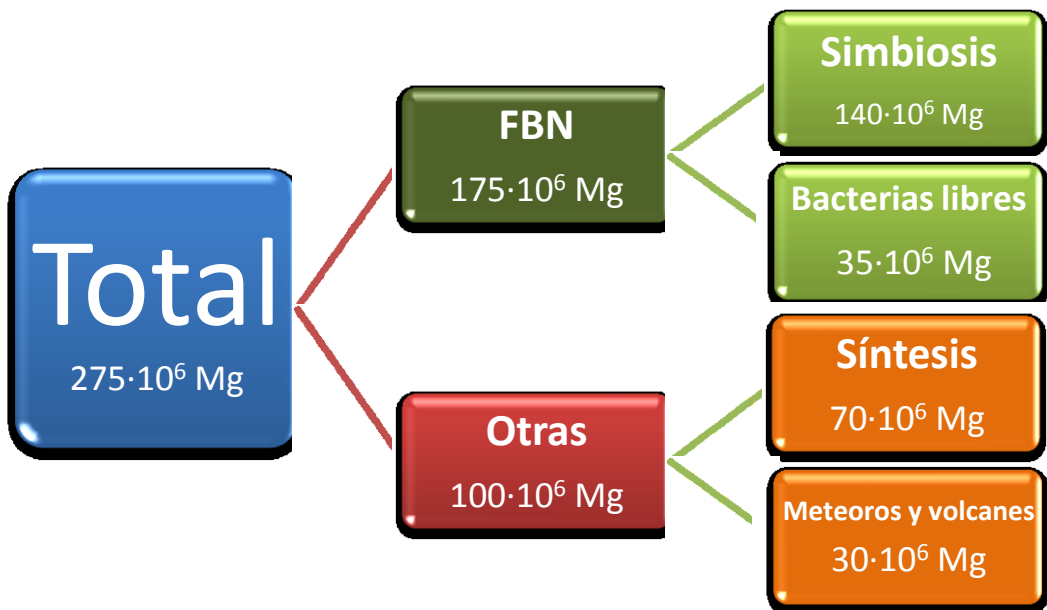


Figura 1.18: Desglose de la fijación mundial de nitrógeno.

1. Introducción

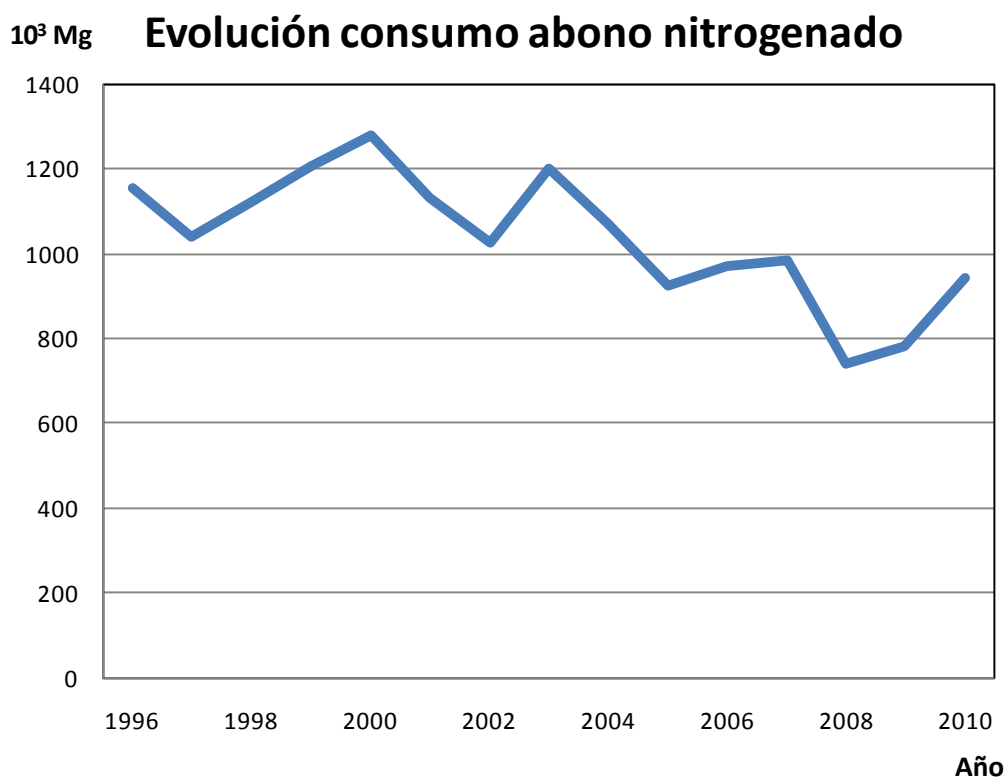


Figura 1.19: Evolución del consumo de abonos nitrogenados en España entre 1996 y 2010 (MAPA, 2010).

1.8 Tolerancia al estrés hídrico

La sequía afecta de una forma intermitente o terminal a más del 60% de la superficie cultivada de judía en el mundo. La sequía es un problema endémico en más de $1,5 \cdot 10^6$ ha. En el oeste de EEUU, se estima que más del 50% de la superficie de laboreo sufriría los efectos de la sequía si no recibiera un aporte de suplementario de agua, lo que supone un consumo de agua un 85% de agua superior al resto del país (Fischer et al., 1978).

1.8.1. Efectos negativos

Los efectos negativos del estrés hídrico dependen de la frecuencia, duración, intensidad y de la fase de crecimiento en que se produzca. La judía es muy sensible a la sequía durante la fase de prefloración (10-12 días antes de la antesis) y floración. El estrés hídrico en esta fase produce un exceso de floración, generación de vainas prematuras y aborto de semilla (Muñoz-Perea et al., 2006; Singh et al., 2007). Las variedades sensibles frente al estrés responden con una fotoinhibición de forma más temprana, lo que afectará de forma directa su producción final (Cruz de Carvalho et al., 1998; Lizana et al., 2006).

En términos generales, el estrés hídrico supone una reducción de la biomasa, una reducción en la producción de grano (entre un 20 a 90%), un menor número de semillas y vainas, así como la reducción de la masa de las mismas. También se reduce la absorción de P, así como la concentración, distribución y fijación de nitrógeno (Serraj y Sinclair, 1998; Lodeiro et al., 2000; Jiménez et al., 2004; Muñoz-Perea et al., 2006; Sinclair et al., 2007; Naya et al., 2007). Incluso la nodulación se ve inhibida (Mnasri et al., 2007). Y también se produce un acortamiento de la raíz, lo que supone una disminución de la superficie de contacto con el suelo que se traduce en un menor transporte de nutrientes. La mayor compactación del terreno también implica una mayor dificultad de penetración de las raíces y por tanto un menor desarrollo radicular (Lizana et al., 2006). El estrés hídrico en las hojas supone el aborto de estomas (Navea et al., 2002) y la disminución en el contenido de clorofila (Yasar et al., 2010). Al verse comprometido el estado general de la planta, se agrava el problema de la podredumbre radicular causado por: *Macrophonia phaseolina* y *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, además de producirse una mayor incidencia de mosquito verde (*Empoasca kraemeri*) en los trópicos y subtrópicos (Muñoz-Perea et al., 2006).

1. Introducción

1.8.2. Respuesta al estrés hídrico

La respuesta de la planta a la sequía puede ser fenológica, morfológica o fisiológica, de las cuales existe una variabilidad genética demostrada (Schneider et al., 1997).

Respuesta fenológica

La planta tiene cierta capacidad de adaptar sus fases fenológicas a las disponibilidades de agua, ante un estrés hídrico. La plasticidad fenológica permite el acortamiento de las fases fenológicas de floración y llenado, para reducir el impacto negativo del estrés hídrico (Rosales-Serna et al., 2004). La precocidad es una estrategia muy difundida entre los cultivos Mediterráneos, es una forma de escapar del periodo de sequía y adecuar el ciclo de la planta a las condiciones ambientales más adecuadas, pero una extrema precocidad penaliza de una forma importante la producción (Singh, 2007; Cattivelli et al., 2008; Al-Tawaha et al., 2010; Khan et al., 2010). La floración tardía también puede suponer una ventaja, sobre todo para los cultivares de crecimiento indeterminado. La planta, en caso de sufrir un leve estrés hídrico durante la fase de floración, puede recuperarse de forma parcial con la generación de nuevas hojas y flores después del periodo de estrés (Singh, 2007). Un ejemplo de genotipo de crecimiento indeterminado son las variedades tipo "Carioca", que tienen un crecimiento vigoroso y precoz, una gran acumulación de biomasa al comienzo del llenado de vaina y la habilidad de transferir fotoasimilados a las vainas antes de la fase de llenado de las mismas. Estas cualidades hacen que sea un genotipo ideal para zonas semiáridas o un parental muy válido para programas de selección para la tolerancia a estrés hídrico (Boutraa y Sanders, 2001b).

Respuesta morfológica

En la respuesta morfológica está la reducción de la superficie foliar como resultado de la pérdida de hojas, la reducción de las hojas jóvenes, la inhibición del desarrollo foliar, o la pérdidas de hojas por senescencia, lo que supone un descenso de la producción (Schneider et al., 1997). Cuando se somete a las plantas a estrés hídrico durante la etapa de floración y durante la etapa de llenado, se reduce el número de hojas trifoliadas y la longitud del tallo, pero el número de nódulos no se ve afectado (Naya et al., 2007).

El grosor de las hojas está asociado a mayor tasa de asimilación de carbono. Los cultivares Mesoamericanos tiene hojas más gruesas y por tanto mayor tasa de crecimiento relativo que los Andinos con un menor aparato fotosintético por unidad de superficie. Así, ante un estrés hídrico los cultivares Mesoamericanos tienen un mejor comportamiento que los Andinos (Sexton et al., 1997; White y Montes-R, 2005). Las hojas pueden aumentar su reflectancia cambiando el color, el contenido de cera cuticular y la pubescencia de las mismas (Singh, 2007). También se puede dar un mayor crecimiento radicular, lo que supone una mayor eficiencia en la extracción de la humedad del suelo y nutrientes (Singh, 2007).

Un ejemplo de adaptación morfológica se puede ver en la raza Durango que posee unas hojas pequeñas, algo oscuras, donde las hojas inferiores permanecen verdes más tiempo y tienen sus nudos inferiores menos espaciados, cubriendo la superficie del terreno de una forma uniforme, conservando la humedad de alrededor de las raíces. El hecho de permanecer las hojas más tiempo verdes, permite una capacidad de llenado de las semillas mayor que el resto de los cultivares (Muñoz-Perea et al., 2006; Singh, 2007).

1. Introducción

Respuesta fisiológica

Una forma de paliar los efectos del estrés hídrico es la de reducir la superficie irradiada por el sol. Como se puede apreciar en la **Figura 1.20** ante el estrés hídrico la planta de judía presenta heliotropismo, movimiento de rotación de los folíolos para evitar la luz (Singh, 2007; Lizana et al., 2006). La reducción del intercambio gaseoso es el primer cambio fisiológico que experimenta la planta ante el estrés hídrico. Las variedades más tolerantes tienen una oclusión más rápida de los estomas en caso de estrés hídrico, lo que se asocia tanto a una mayor síntesis de ácido abscísico (ABA) como a una sensibilidad estomática más alta al mismo (Lizana et al., 2006). La respuesta difiere mucho entre las variedades silvestres y las domesticadas.

El proceso de domesticación también ha supuesto la pérdida en la capacidad de modular la cantidad de estomas en función de las disponibilidades hídricas, así como el aumento de la superficie foliar y un aumento del parénquima de empalizada, lo cual implica un aumento de productividad de la planta, pero disminuyó la eficiencia hídrica y redujo el parénquima esponjoso fundamental para el intercambio gaseoso (Navea et al., 2002; Praba et al., 2009).

Otro mecanismo fisiológico importante de adaptación al estrés hídrico es la elasticidad de la pared celular. Las plantas resistentes que son sometidas a estrés hídrico, evitan la reducción del potencial del agua, reduciendo su tamaño celular para mantener la turgencia gracias al ajuste elástico de las paredes celulares (Martínez et al., 2007). Ante el estrés hídrico la planta necesita ajustar su presión osmótica, para ello utiliza moléculas de bajo peso molecular como osmolitos: prolina (Martínez et al., 1996; Reddy et al., 2008, Khan et al., 2010), glicinabetaina (Ashraf, 2004; Al-Tawaha et al., 2010) y los polioles (Ashraf, 2004; Farooq et al., 2008; André et al., 2009; Evers et al., 2010). Hay sustancias de crecimiento vegetal como el ácido salicílico (Oka-Kira y

Kawaguchi, 2006; Zlatev et al., 2006), auxinas (Reichman, 2007), giberelinas (Turner et al., 2005), citoquininas (Laguerre et al., 2007; Bourion et al., 2010) y el ácido abscísico (Shinozaki y Yamaguchi, 2007; Choudhury et al., 2011) que modulan las respuestas de las plantas a la sequía.

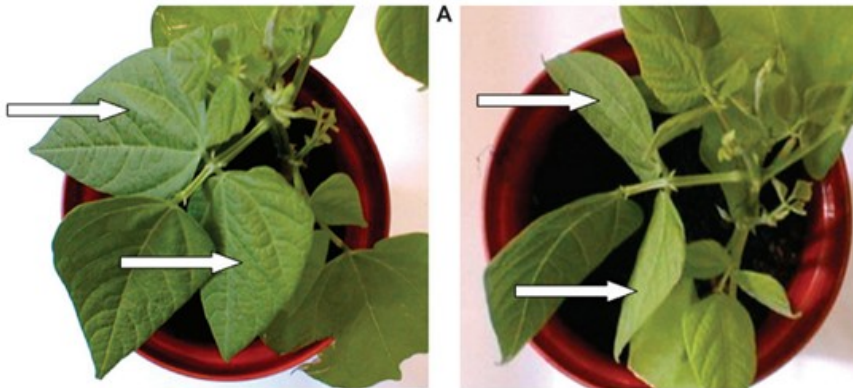


Figura 1.20: Rotación de los folíolos para evitar los rayos solares ante un estrés hídrico. Entre las dos fotografías hay un período de estrés hídrico de 70-80 horas (Lizana et al., 2006).

Todas estas respuestas fisiológicas están reguladas genéticamente. Los genes que se expresan cuando se produce un estrés hídrico, se clasifican en función del producto que codifican (Seki et al., 2003):

- Genes que codifican proteínas que protegen directamente del estrés: protegen de la deshidratación, como enzimas requeridas para la síntesis de osmoprotectores, chaperones y enzimas de desintoxicación.
- Genes que regulan la expresión génica y la transducción de señal en la respuesta al estrés. Incluyen factores de transcripción, proteínas quinasas y enzimas involucradas en el metabolismo de los fosfoinosítidos, promotores de la proteasa del ácido aspártico (Contour-Ansel et al., 2010).

La identificación de estos genes es vital a la hora de seleccionar variedades resistentes, buscar marcadores o crear plantas transgénicas.

1. Introducción

1.8.3. Efecto en la partición de Nitrógeno

La actividad de la nitrogenasa esta correlacionada con la actividad de la sacarosa sintasa, por lo cual la reducción en la fijación de N ante un estrés hídrico, parece estar más relacionada con la imposibilidad de los nódulos de utilizar los fotosintetizados, que la escasez de los mismos (Gordon et al., 1997). El estrés hídrico también actúa sobre la nodulación, incluso inhibiéndola (Mnasri et al., 2007).

La fijación de N, también está relacionada con la permeabilidad al oxígeno de la membrana del nódulo. El oxígeno es necesario para la respiración de los bacteroides, para así mantener la actividad de la nitrogenasa. La sequía provoca la reducción del tamaño de las vacuolas, por lo que las células están más densamente pobladas y la permeabilidad del oxígeno se reduce (Swaraj et al., 1995). Jiménez et al. (2004) han encontrado que cuando los valores de trehalosa nodular son altos, la fijación de N se mantiene a pesar del estrés hídrico. Posiblemente la trehalosa actúe como protector de la actividad de la nitrogenasa bacteriana.

La muerte de rizobios y la senescencia de nódulos cuando los períodos de sequía son más largos o muy agudos, se debe más a que la planta no aporta el carbono necesario para la respiración de la bacteria que a la falta de agua (Serraj and Sinclair, 1996; Gálvez et al., 2005). La sensibilidad de la fijación de N a la sequía varía dentro de las leguminosas, y depende principalmente del tipo de compuesto nitrogenado sintetizado en los nódulos. Las plantas que transportan ureidos, como la judía, son mucho más sensibles al estrés hídrico, que las plantas de clima templado, como el garbanzo, que transportan exclusivamente aminas. Ante el estrés hídrico las plantas de judía responden con una acumulación de alantoato en tallo y hojas debido al aumento de la actividad de síntesis de este ureido (Alamillo et al., 2010) con el fin de movilizar N para el llenado de las semillas (Quiles et al., 2009). Pero la acumulación de los ureidos tiene un efecto negativo en los nódulos, pues acaba inhibiendo la

fijación de N (Sinclair y Serraj, 1995; Serraj y Sinclair, 1996a, 1996b, 1998). En contraste el cacahuete, en el cual el N fijado se transloca a aminos, tiene una gran resistencia a la sequía, y las variedades menos tolerantes tienden a acumular aminos en las hojas (Devi et al., 2010).

1.8.4. Tolerancia a la alta temperatura

Muchas veces es complicado distinguir entre los efectos debidos al estrés hídrico y los producidos por las altas temperaturas. La judía común tiene un intervalo óptimo de temperatura entre los 20 y 25 °C. A partir de los 30°C de día o de los 20 °C de noche, se produce una reducción en la producción. La planta es sensible a los incrementos en las temperaturas mínimas que son los que producen mayores daños y mengua en la producción (Porch, 2006; Nemeskeri et al., 2010).

La causa de la reducción de la producción es el aumento de la abscisión de flores y vainas jóvenes, fallo en la fertilización y en el desarrollo de las semillas. Durante la floración se llegan a perder 4-14% de la producción de grano por cada grado que supere la temperatura de 16 °C. Esta pérdida está relacionada con la esterilidad del polen y la no dehiscencia de las anteras (Hall, 2004).

Según Ofir et al. (1993), la alta temperatura reduce el transporte del ácido indol-3yl-acético (IAA) desde las flores y vainas jóvenes a la base del tallo, y la reducción de niveles de IAA en la base produzca la abscisión del órgano. Rainey y Griffiths (2005a) descubrieron en la variedad 'Majestic' de judía que la abscisión de los órganos reproductivos frente a altas temperaturas estaba regulada por un único gen recesivo. La mayor tolerancia a altas temperaturas también está relacionada con mayor capacidad antioxidante liposoluble en hoja, relacionada con la defensa contra la peroxidación de los lípidos y el daño celular (Nemeskeri et al., 2010).

1. Introducción

1.9. La selección para la tolerancia al estrés hídrico

Durante el proceso de domesticación de la judía ha existido una divergencia de criterio entre la naturaleza y los mejoradores. Por un lado, la selección natural ha favorecido mecanismos para la adaptación y la supervivencia, mientras que los mejoradores han intentado incrementar la productividad económica de los cultivares (Cattivelli et al., 2008). La selección de la judía común ha supuesto una menor adaptación de las especies domesticadas al estrés hídrico (Navea et al., 2002). A pesar de la identificación de varios criterios de selección para la resistencia a la sequía y el gran esfuerzo de los mejoradores durante la segunda mitad de siglo XX, la producción media de judía permanece muy baja ($< 900 \text{ kg ha}^{-1}$). Esto revela que el proceso de transferencia de características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas que tengan un potencial impacto en la resistencia a la sequía a los nuevos cultivares de judía ha sido escaso (Lizana et al., 2006).

En los últimos años se han logrado importantes avances en la comprensión de las respuestas fisiológicas y moleculares de la planta a las condiciones de estrés, aunque sigue siendo necesario la identificación de la relación entre los parámetros de producción y las características fisiológicas específicas relativas al estrés hídrico (Lizana et al., 2006). Sigue existiendo una gran diferencia entre las producciones bajo estrés y las producciones en condiciones óptimas. Minimizar esta diferencia y mejorar la estabilidad bajo las diferentes condiciones de estrés, es un objetivo para garantizar alimento en el futuro (Cattivelli et al., 2008).

Singh et al. (1991a) han obtenido incrementos en la producción en situación de estrés hídrico, a través de cruzamientos entre razas del grupo Mesoamericano, mientras que la mejora en el rendimiento en cruzamientos entre tipos Andinos ha sido más lenta (Kornegay et al. 1992; White et al. 1992). Una de las posibles estrategias para mejorar los tipos Andinos puede ser a través de cruces con judías Mesoamericanas, aunque estos cruces a menudo no son fructíferos (Singh 1995). A

veces es necesario recurrir a la selección recurrente para obtener progenitores viables para los cruzamientos entre los acervos genéticos Andino y Mesoamericano (Beaver and Kelly 1994; Singh et al. 1999a). Existen barreras para los cruzamientos inter-grupo, incluida la hibridación letal en F_1 (Gepts y Bliss 1985), y aunque estos casos no son corrientes, ponen de manifiesto la diferencia existente entre los grupos genéticos y las limitaciones que se imponen a este tipo de cruzamientos (González, 2006; González et al., 2009).

Otra herramienta utilizada actualmente es la selección asistida por marcadores (*marker assisted selection*, **MAS**), que es un procedimiento de selección indirecto donde la selección se basa en un carácter que actúa de marcador y que está ligado a un gen mayor o a un locus de un carácter cuantitativo (*quantitative trait locus*, **QTL**) que se quiere mejorar. Este sistema es muy útil para caracteres que son difíciles de medir, que se expresen en las fases de desarrollo tardío, y que tienen una baja heredabilidad, como es la tolerancia al estrés hídrico.

La baja heredabilidad estimada para el rendimiento de grano pone de manifiesto las dificultades existentes en el proceso de selección para incrementar la producción, cuando el único criterio de selección es el de producción de grano (Shenkut et al., 2003). Esto se complica al seleccionar bajo condiciones de estrés hídrico, ya que a menudo al seleccionar bajo estrés se produce una reducción de la producción en condiciones normales (Schneider et al., 1997).

La producción de grano es la característica de mayor importancia económica en cultivo de judía. La mayoría de los índices utilizados tienen como parámetro básico tanto la producción en condiciones normales como bajo estrés. Los índices más utilizados por los mejoradores son (**Tabla 1.8**): el índice de susceptibilidad a la sequía (**S**), el índice de cosecha (*harvest index*, **HI**), la media geométrica de las producciones en ambiente con y sin estrés hídrico (*geometrical mean*, **GM**), la biomasa (*biomass yield*, **BY**) y el índice de respuesta a la sequía (*drought-response index*, **DRI**) (Bilinguer

1. Introducción

et al., 1987a, 1987b; Schneider et al., 1997; Rosales-Serna et al., 2004; Muñoz-Perea et al., 2006).

El índice de susceptibilidad a la sequía (**S**) se basa en la reducción en la producción para una determinada intensidad de estrés hídrico definida en cada experimento (Schneider et al., 1997). Este índice tiende a valorar de forma errónea la resistencia a la sequía en algunas variedades (Fischer et al., 1978). Los genotipos con baja productividad, se seleccionarían por su S, debido al pequeño diferencial entre la producción con estrés y sin estrés (White et al., 1991). No es un buen índice para evaluar la productividad en condiciones de estrés hídrico, aunque sí lo sea para valorar la tolerancia a la sequía (Fischer et al., 1978). El índice de cosecha (**HI**) evalúa la capacidad de movilizar los fitosintetizados desde los órganos vegetativos a la semilla en la fase de llenado de vainas, característica que es fundamental en minoración de los efectos adversos del estrés hídrico. (Rosales-Serna et al., 2004; Muñoz-Perea et al., 2006). Se han descrito variedades con una gran capacidad de movilización, un alto HI, pero con un potencial de producción muy bajo, tanto en ambientes con y sin estrés hídrico. Si se utiliza como índice principal se tiende a seleccionar variedades precoces y de baja productividad. Este puede ser un buen índice de selección secundario para la mejora de la producción en condiciones de sequía (Schneider et al., 1997).

La media geométrica (**GM**), se define como la media geométrica de las producciones en condiciones normales y de estrés hídrico. En este índice existe una influencia mayor de la producción en condiciones normales, debido a su mayor valor numérico. Para asegurar una adecuada selección ante situación de estrés hídrico sería conveniente utilizar la producción en sequía, como segundo índice de selección (Schneider et al., 1997).

Tabla 1.8: Resumen de índices productivos

Índice	Valor	Fisiología	Ventajas	Inconvenientes
Producción grano (Y)	Semilla cosechada con 12% humedad	Tolerancia a la sequía	Tiene en cuenta los rendimientos con estrés	Descuida los rendimientos en condiciones normales
Biomasa (BY)	Biomasa parte aérea cosechada	Acumulación de MS	Esta correlacionado con rendimiento no hace falta esperar a madurez para evaluar	Existen genotipos mucha MS pero poca capacidad de movilización
Índice de Cosecha (HI)	Y/BY	Capacidad de movilización de fitosintetizados	Es un valor estable	Genotipos con baja productividad pueden ser seleccionados.
Media geométrica (GM)	$GM = (Y_{Di} \cdot Y_{Si})^{0,5}$	Tolerancia a la sequía	Indice de tolerancia pero no descuida los rendimientos en condiciones normales	Producciones altas puede enmascarar un comportamiento malo en estrés.
Suceptibilidad a la sequía (S)	$[1 - (Y_{Di}/Y_{Si})] / [1 - (Y_D/Y_{Si})]$	Tolerancia a la sequía	Buen índice de la tolerancia a la sequía pero no evalúa productividad en sequía.	Genotipos con baja productividad pueden ser seleccionados.
Índice de respuesta a la sequía (DRI)	(Ver cálculo en el capítulo de Métodos).	Tolerancia a la sequía	Aplicable a cualquier situación de estrés que modifique las producciones de grano de los cultivos	No existen trabajos previos en judía.

Y_D = Promedio total del rendimiento en sequía

Y_{Si} = Promedio total del rendimiento en regadío

Y_{Di} = Rendimiento en sequía variedad i

Y_{Si} = Rendimiento en regadío variedad i

DPM = Días de madurez fisiológica

DSF = madurez fisiológica - floración

1. Introducción

El índice de respuesta a la sequía (**DRI**) se calcula usando una regresión de un modelo desarrollado por Bidinger (1987a, 1987b). Este modelo asume que la producción de grano de un cultivar se puede expresar en función de la producción de grano en regadío, los días de floración (FL) y la respuesta a la sequía (DRI).

1.10. Objetivos del trabajo

El objetivo general del presente trabajo de investigación es estudiar la respuesta fenológica y productiva que tiene el estrés hídrico en la judía. También se intenta valorar como afecta este estrés a la relación simbiótica planta-*Rhizobium*, y cada uno de los efectos que tiene en la partición de N en la planta y la masa nodular.

Con esta finalidad se plantean los siguientes objetivos específicos:

1. Evaluar de los caracteres fenotípicos y productivos en variedades de judía, tanto en regadío como en condiciones de estrés hídrico.
2. Evaluar de los caracteres productivos de variedades inoculadas con diversas cepas de *Rhizobium*, tanto en regadío como en condiciones de estrés hídrico.
3. Analizar las variables relacionadas con la nodulación, su relación con las variables productivas y la partición de N en la planta.

Phaseolus coccineus



Material

2. Materiales :

2.1. Localización

2.1.1 Experimento 1 (2005 y 2006):

El experimento 1 consistió en un ensayo en campo de 47 variedades de judía en condiciones de estrés hídrico y regadío. En el año 2005 se realizó el ensayo mencionado en 3 fincas: Salcedo (Pontevedra), Lalín (Pontevedra) y Xinzo de Limia (Ourense) (**Tabla 2.1**). En el año 2006 se realizó en 3 fincas: Salcedo, Lalín y Salceda de Caselas (Pontevedra). En Lalín, el ensayo de regadío se realizó en la finca de Mouriscade, propiedad de la Diputación Provincial de Pontevedra. El ensayo en condiciones de estrés hídrico se realizó en una finca cercana, en el barrio de Hermida, cedida para el ensayo por un particular (**Figura 2.1**). Los datos climatológicos se tomaron de la estación meteorológica que la red MeteoGalicia tiene en la finca de Mouriscade.

En Salceda de Caselas se realizó el ensayo de regadío y el de estrés hídrico, en dos fincas pertenecientes a la “Estación Experimental Agrícola do Baixo Miño”, centro que depende de la Consellería do Medio Rural y se encuentra en la parroquia de Entenza. Los datos meteorológicos utilizados fueron los registrados por una estación meteorológica (Vantage Pro. De Davis Instruments) ubicada en la misma finca.

En Salcedo, el ensayo se realizó en la parcela experimental Huerta II de la Misión Biológica de Galicia-CSIC (MBG-CSIC), perteneciente a la Diputación Provincial de Pontevedra. Los datos meteorológicos fueron recogidos por una estación meteorológica ubicada en la misma finca.

En Xinzo, el ensayo se realizó en dos parcelas que pertenecían Instituto Ourense de Desenvolvemento Económico (INORDE). Los datos meteorológicos se tomaron de una estación agrometeorológica de la red MeteoGalicia cercana a la finca.

2. Materiales

Tabla 2.1: Coordenadas de las parcelas donde se realizaron los ensayos de campo.

		Latitud	Longitud	Altitud
Lalín	Estrés	42° 36' 58"	8° 8' 13"	500 m
(2005, 2006)	Regadío	42° 40' 50"	8° 7' 10"	570 m
Salceda	Estrés	42° 4' 15"	8° 33' 36"	84 m
(2006)	Regadío	42° 4' 17"	8° 33' 31"	84 m
Salcedo	Estrés	42° 24' 23"	8° 38' 22"	32 m
(2005, 2006)	Regadío	42° 24' 28"	8° 38' 36"	32 m
Xinzo	Estrés	42° 6' 35"	7° 42' 17"	620 m
(2005)	Reducido	42° 6' 32"	7° 42' 44"	620 m



Figura 2.1: Experimento 1: Campo de ensayo en el Barrio de Hermida, Lalín (2005).

2.1.2. Experimento 2 (2008):

Este experimento consistió en un ensayo factorial en invernadero de 10 variedades de judía inoculadas con 10 cepas de *Rhizobium* en condiciones controladas de estrés hídrico y regadío en invernadero. El ensayo se realizó en un invernadero de 200 m² situado en la Estación Experimental Agrícola do Baixo Miño” en Salceda de Caselas (Pontevedra) (**Figura 2.2**).

2.1.3. Experimento 3 (2009):

Este experimento consistió en Ensayo factorial de 10 variedades de judías inoculada con 10 cepas de *Rhizobium* en condiciones controladas de estrés hídrico y regadío en campo. El ensayo se realizó en la parcela AL3 situada en la Estación Experimental Agrícola do Baixo Miño”, en Salceda de Caselas (Pontevedra) (**Figura 2.3**).

2.2. Material biológico:

Todas las variedades utilizadas en este ensayo pertenecen al banco de germoplasma de la Misión Biológica de Galicia – Consejo Superior de Investigaciones Científicas (MBG-CSIC) donde, desde 1987, se lleva a cabo un programa de recolección y conservación de variedades locales de judía común (De Ron et al., 1997) con el fin de utilizar la diversidad existente como base para la obtención de variedades mejoradas. Las poblaciones recolectadas son autógamias, por lo tanto son mezcla de líneas puras y se pueden considerar como variedades locales (Sánchez-Monge, 1974). Todas las poblaciones del banco de germoplasma de las MBG-CSIC identifican con el código PHA-. En la **Tabla 2.2** aparece el origen, hábito de crecimiento, color y clase comercial a la que pertenecen las 27 variedades locales que se ensayaron para determinar su tolerancia a la sequía. De ellas, el 40% son originarias de Galicia, el 19% son del País Vasco, el 11% de Portugal y el 7% de Asturias. La mayoría de las variedades son de porte bajo o crecimiento determinado, aunque las variedades PHA-0148, PHA-0155, PHA-2074 son de crecimiento indeterminado erecto (hábito de crecimiento tipo II) y la PHA-0553 presenta

2. Materiales

los dos tipo de crecimiento (De Ron et al., 2010). En la **Figura 2.4** aparecen cada una de las clases comerciales a las que pertenecen las variedades ensayadas.



Figura 2.2: Experimento 2: Invernadero de EEA do Baixo Miño en Salceda de Caselas (2008).



Figura 2.3: Experimento 3: Campo de ensayo en EEA do Baixo Miño en Salceda de Caselas (2009).

Tabla 2.2: Origen de las poblaciones locales ensayadas, habito de crecimiento y características de sus semillas. Habito crecimiento tipo I: crecimiento determinado arbustivo. Tipo II: crecimiento indeterminado erecto, con tallo y ramas erectas.

Variedad	Origen		Habito crec.	Clase comercial (1)	Color semilla	
				Semilla	Primario	Secundario
PHA-0006	Canicouva	Pontevedra	I	Cranberry	Crema	Rojo
PHA-0118	San Fiz	Ourense	I	Canela	Crema	
PHA-0122	Parada de Sil	Ourense	I	Mulatinho	Crema	
PHA-0124	Vilar do Barrio	Ourense	I	Light Red Kidney	Rosa	
PHA-0148	Cotobade	Pontevedra	II	Red Pinto	Rojo	Crema
PHA-0155	Mazaricos	A Coruña	II	White Kidney	Blanco	
PHA-0179	Ortigueira	A Coruña	I	White Kidney	Blanco	
PHA-0246	A Estrada	Pontevedra	I	Canellini	Blanco	
PHA-0298	Chaves	Vila Real (Portugal)	I	Cranberry	Crema	Rojo
PHA-0371	Melide	A Coruña	I	Dark Red Kidney	Rojo	
PHA-0404	Carreño	Asturias	I	Red Caparron	Blanco	Rojo
PHA-0418	Mos	Pontevedra	I	Great Northern	Blanco	
PHA-0432	Tudela	Navarra	I	Marrow	Blanco	
PHA-0471	Pravia	Asturias	I	Navy	Blanco	
PHA-0483	Lasierra	Álava	I	Guernikesa	Rojo	Crema
PHA-0484	Urarte	Álava	I	Guernikesa	Rojo	Crema
PHA-0492	Urturi	Álava	I	Dar Red Kidney	Rojo	
PHA-0493	Urturi	Álava	I	Red Pinto	Rojo	Crema
PHA-0543	Oyartzun	Guipúzcoa	I	Canellini	Blanco	
PHA-0553	La Bañeza	León	I/II	Canela	Crema	
PHA-0578	Onda	Valencia	I	Canellini	Blanco	
PHA-0595	Valladolid	Valladolid	I	Marrow	Blanco	
PHA-0649	Lapa	Viseu (Portugal)	I	Dark Red Kidney	Rojo	
PHA-0683	Monçao	Portugal	I	Cranberry	Crema	Rojo
PHA-1842	Lourenzá	Lugo	I	Verdina	Blanco	
PHA-2074	Ubrique	Cádiz	II	Chumbinho	Marron	
PHA-2076	Alcontar	Almería	I	Azufrado	Amarillo	

(1) Santalla et al. 2001d.

2. Materiales


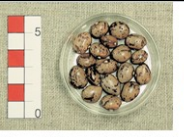
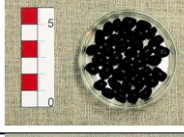
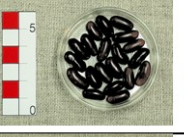



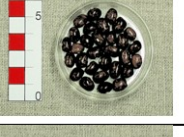





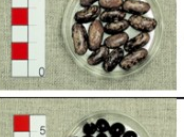
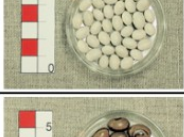
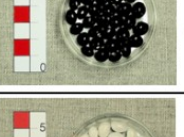
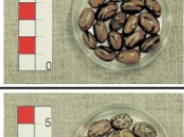


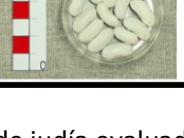
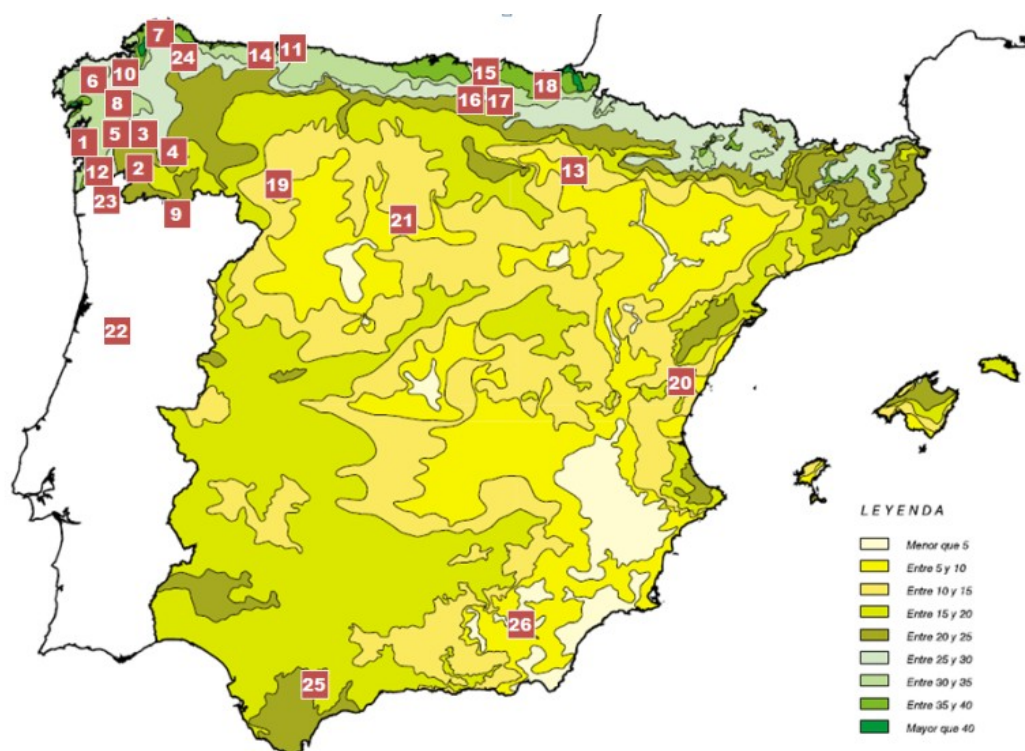
	<p>Bayo Gordo</p> <p>PMB-0289</p>		<p>Cranberry</p> <p>PHA-0006, PHA-0298, PHA-0683, PMB-0284</p>
	<p>Black Turtle</p> <p>PMB-0285, PMB-0286, PMB-0287</p>		<p>Dark Red Kidney</p> <p>PHA-0492, PMB-0311, PHA-0371, PHA-0649</p>
	<p>Canela</p> <p>PHA-0118, PHA-0553</p>		<p>Great Northern</p> <p>PHA-0418</p>
	<p>Canellini</p> <p>PHA-0246, PHA-0543, PHA-0578, PMB-0127, PMB-0244</p>		<p>Guernikesa</p> <p>PHA-0483, PHA-0484</p>
	<p>Chumbinho</p> <p>PHA-2074</p>		<p>Light Red Kidney</p> <p>PHA-0124</p>
	<p>Marrow</p> <p>PHA-0432, PHA-0595</p>		<p>Red Caparron</p> <p>PHA-0404</p>
	<p>Mulatinho</p> <p>PHA-0122, PMB-0306, PMB-0307, PMB-0308, PMB-0309, PMB-0310</p>		<p>Red Pinto</p> <p>PHA-0148, PHA-0493, PMB-0292</p>
	<p>Navy</p> <p>PHA-0471</p>		<p>Small Red</p> <p>PMB-0312</p>
	<p>Ojo de Cabra</p> <p>PMB-0224</p>		<p>Small White</p> <p>PMB-0220, PMB-0239</p>
	<p>Pinto</p> <p>PMB-0288, PMB-0291</p>		<p>White Kidney</p> <p>PHA-0155, PHA-0179</p>

Figura 2.4: Distintas clases comerciales de judía evaluada.

En la **Figura 2.5** se muestra un mapa coloreado con diferentes tramos de potencialidad de producción en secano (índices de Turc para secano) donde se señala el origen de las variedades ensayadas. Las zonas con peor potencialidad son las de menor índice y coinciden con zonas más expuestas a estrés hídrico.



1 PHA-0006	6 PHA-0155	11 PHA-0404	16 PHA-0484	20 PHA-0578	25 PHA-2074
2 PHA-0118	7 PHA-0179	12 PHA-0418	17 PHA-0492	21 PHA-0595	26 PHA-2076
3 PHA-0122	8 PHA-0246	13 PHA-0432	17 PHA-0493	22 PHA-0649	
4 PHA-0124	9 PHA-0298	14 PHA-0471	18 PHA-0543	23 PHA-0683	
5 PHA-0148	10 PHA-0371	15 PHA-0483	19 PHA-0553	24 PHA-1842	

Figura 2.5: Localización de las variedades ensayadas en un mapa coloreado según el índice de Turc para sequía.

2. Materiales

Como variedades control se incluyeron en el ensayo 22 líneas de mejora de la MBG-CSIC y dos líneas comerciales codificadas con el prefijo PMB- y CO- respectivamente (**Tabla 2.4**). Estas variedades control han sido cedidas por diversas instituciones (University of Idaho, USA; Michigan State University (MSU), USA; University of Colorado, USA; INIFAP, México y Centro Nacional de Recursos Fitogenéticos-INIA, España).

De algunas variedades control hay constancia, por ensayos previos, de su respuesta al estrés hídrico: 17 variedades son tolerantes y 3 están descritas como sensibles (Miller et al., 2002; Terán et al., 2002a, 2002b; Shenkut et al., 2003; Rosales-Serna et al., 2004; Wakrim R. et al., 2005; Muñoz-Perea et al., 2006, 2007; Porch, 2006; Miklas et al., 2006; Singh, 2007). Tres de las variedades elegidas inicialmente, PMB-0289, PMB-0290 y PMB-0291, se desecharon por problemas de adaptación. PMB-0222 solo se utilizó en los experimentos 2 y 3.

PMB-0127 es una línea seleccionada por la MBG-CSIC de la población PHA-0253. PMB-0220 cuenta en su pedigrí con una raza tropical de semilla negra (PI203958) originaria de la costa de México que además de ser tolerante a la sequía, es utilizada de forma habitual como fuente de resistencia a *Fusarium* (Muñoz-Perea et al., 2006). PMB-0222 es una línea tolerante a sequía y enfermedades (*Pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola*, BCMV y BCMNV) (Asensio et al., 2005; Rodiño et al., 2010). PMB-0224 es una selección del cruce de variedades pinto (UI-114), Red Mexican (UI-35) y Pink, y tolerante al estrés hídrico (Muñoz-Perea et al., 2006).

Según Singh (2007) PMB-0239 sería una variedad sensible al estrés hídrico, pero al analizar los datos de su ensayo, en uno de los campos de ensayo la variedad debió de tener problemas de adaptación en ambiente con estrés hídrico y lastró la media de forma significativa. Sin embargo, en los otros campos de ensayo logró valores por encima de la media como ocurrió en el experimento 1.

Tabla 2.3: Relación de líneas de mejora y cultivares comerciales ensayados y las características de sus semillas. Sd: sin referencias sobre su respuesta a la sequía. Habito crecimiento tipo I: crecimiento determinado arbustivo. Tipo II: crecimiento indeterminado erecto, con tallo y ramas erectas.

Variedad	Nombre	Frente	Habito	Clase comercial	Color	
		Sequía	crec.	Semilla	Primario	Secundario
CO-25	Flageolet	sd	I	Verdina	Blanco	
CO-37	Alavesa	sd	I	Alavesa	Rojo	Crema
PMB-0127	Aubia de Enfesta	sd	I	Canellini	Blanco	
PMB-0220	Matterhorn	Tolerante	I	Small White	Blanco	
PMB-0222	Almonga	sd	I	Great Northern	Blanco	
PMB-0224	Othello	Tolerante	I	Ojo de Cabra	Crema	Marrón
PMB-0239	UI 465	Tolerante	I	Small White	Blanco	
PMB-0244	Linex	sd	I	Canellini	Blanco	
PMB-0284	LEF2RB	Tolerante	I	Cranberry	Crema	Rojo
PMB-0285	L88-18	Sensible	I	Black Turtle	Negro	
PMB-0286	L88-63	Tolerante	I	Black Turtle	Negro	
PMB-0287	B98311	Tolerante	II	Black Turtle	Negro	
PMB-0288	Pinto Sierra	Tolerante	I	Pinto	Crema	Marrón
PMB-0289	Bayo Madero	Sensible	I	Bayo Gordo	Crema	
PMB-0290	Rayado Rojo	Sensible	I	Rayado Rojo	Rojo	Crema
PMB-0291	Pinto Villa	Tolerante	I	Pinto	Crema	Marrón
PMB-0292	ICA Palmar	Tolerante	I	Red Pinto	Rojo	Crema
PMB-0306	SEA 5	Tolerante	I	Mulatinho	Crema	
PMB-0307	SEA 9	Tolerante	I	Mulatinho	Crema	
PMB-0308	SEA 13	Tolerante	I	Mulatinho	Crema	
PMB-0309	BAT 477	Tolerante	I	Mulatinho	Crema	
PMB-0310	VIVA	Tolerante	I	Mulatinho	Crema	
PMB-0311	Common Red Mexican	Tolerante	I	Dark Red	Rojo	
PMB-0312	UI 239	Tolerante	I	Small Red	Rojo	

2. Materiales

PMB-0284 fue seleccionada por la Michigan State University (**MSU**, Michigan, USA), y catalogada como tolerante, pero según Rosales-Serra et al. (2000) la variedad se comportó como tolerante. PMB-0286, se seleccionó a partir del cruce de dos líneas PMB-0287 y TLP 19, de raza Durango, fue desarrollada para adaptación a suelos bajos en fósforo en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (**CIAT**, Cali, Colombia) (Frahm et al., 2003, 2004). PMB-0287 es un genotipo de la raza Durango con resistencia a sequía seleccionado por el programa de mejora de la MSU. Posee hábito de crecimiento tipo II y una raíz profunda y vigorosa (Frahm et al., 2003).

PMB-0306 deriva de un doble cruzamiento entre Guanajuato-31 de la raza Durango y PMB-0309 de la raza Mesoamericana (Teran y Singh, 2002; Ishitani et al., 2004). PMB-0307 es una línea híbrida tolerante a la sequía seleccionada en el Programa Nacional de México, de una población interracial de raza Durango y Mesoamérica (BAT477/San Cristóbal 83//Guanajuato 31/Rio Tibagi). San Cristóbal 83 es una variedad tolerante a la sequía originaria de la República Dominicana (Terán y Singh, 2002^b).

PMB-0309 es un genotipo tolerante a la sequía desarrollado por el CIAT (White et al., 1994). PMB-0310 es una variedad rosa tolerante a sequía (Rennie y Kemp 1983; Shenkut, 2003; Singh, 2007). PMB-0312 fue seleccionada a partir del parental Common Red Mexican, que es muy utilizado como fuente de adaptación a ambientes semiáridos (Muñoz-Perea et al., 2006).

De las 10 cepas de *Rhizobium* utilizadas ocho son cepas locales aisladas de nódulos de judía recolectados en diferentes zonas de Galicia (EXIC, EXIB, EG, EF, EPOB, APAFI, LTMF, SLL2) y dos son cepas de referencia (CIAT899, *R. tropici* y CFN42, *R. etli*).

CIAT 899, *Rhizobium tropici*, originaria de Antioquía (Colombia) y con gran afinidad por el acervo Andino, incluso con genotipos silvestres de este acervo. En cambio se han descrito restricciones en la nodulación con algunas variedades del acervo Mesoamericano (Martínez-Romero et al., 1991; Kipe-Nolt y Giller, 1993). CFN42, *Rhizobium etli* bv. *phaseoli* es originaria de Cuernavaca (México), tiene buena nodulación y fijación efectiva de N. Esta cepa está más cercana genéticamente a las cepas de *R. etli*

españolas (Herrera-Cervera et al., 1999; Rodríguez-Navarro et al., 2000) que de las brasileñas, que presentan una escasa nodulación o si nodulan producen formas ineficientes de nódulos de color blanco (Grange et al., 2007).

2.3. Infraestructuras y equipamiento:

Experimento 1: Ensayo en campo de variedades de judías en condiciones de estrés hídrico y regadío.

- Maquinaria y aperos agrícolas.
- Balanzas y estufas.

Experimento 2: Ensayo factorial en invernadero de 10 variedades de judías inoculada con 10 cepas de *Rhizobium* en condiciones controladas de estrés hídrico y regadío.

- Invernadero de polietileno de 800 galgas de monotúnel de 200 m².
- Soporte de fibrocemento con capacidad de 10 cajas.
- Caja de polipropileno coarrugado de doble capa de 35x100x42 cm con 4 divisiones internas de polietileno negro de 200 µm, con sistema de drenaje de 20 orificios de 20 mm en la parte inferior cubierto con textil acrílico para evitar las pérdidas de sustrato. El sustrato utilizado fue una mezcla de fibra de coco y vermiculita 1:1.
- Sistema de riego compuesto por un autómata de riego Agronic 7000 (Sistemas Electrónicos Progres S.A.) con dos sondas de humedad ECH₂O conectadas por un transmisor con las que se controlan la humedad de los dos tratamientos (**Figura 2.6**). El agua se distribuye con tubería de polietileno y se localiza en cada una de las parcelas elementales con goteros de 4 l/h (**Figura 2.7**).
- Data logger HOBO U12- External Channel a los que se les conectaron a cada con 2 sondas de humedad ECH₂O para tener un registro de humedad en cada tratamiento y en cada una de las repeticiones.

2. Materiales



Figura 2.6: Autómata de riego Agronic 7000.



Figura 2.7: Detalle de la disposición de las cajas y de la división interior.

- Sonda HOBO 10 humedad y temperatura.
- Balanzas y estufas.

Experimento 3: Ensayo factorial de 10 variedades de judías inoculada con 10 cepas de *Rhizobium* en condiciones controladas de estrés hídrico y riego en campo.

- Maquinaria y aperos agrícolas.
- Equipo de digestión para proteína bruta Kjeldahl Bloc-Digest 12 (JPSelecta S.A.) con unidad de programación de tiempo y temperatura RAT-2 (JPSelecta S.A.). (**Figura 2.8**)
- Destilador para proteína bruta Kjeldahl Vapodest 6 (Gerhart). (**Figura 2.9**)
- Cabezal de riego con válvula volumétrica Dose-o-mat K1 de Arad, que permite fijar un volumen de riego.
- Canalización de riego de polietileno y sistema de riego con goteros de 4 l/h cada 30 cm.
- Data logger HOBO U12- External Channel a los que se les conectaron dos sondas de humedad ECH₂O para tener dos registros de humedad en cada tratamiento.

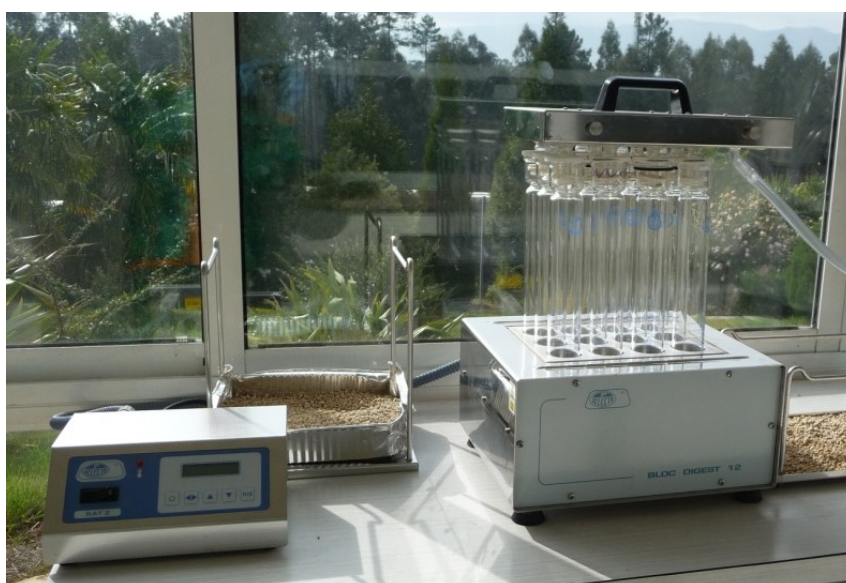


Figura 2.8: Equipo de digestión para proteína bruta Kjeldahl Bloc-Digest 12 (JPSelecta S.A.) y RAT-2 (JPSelecta S.A.).

2. Materiales

- Irrómetros (Irrrometer Company, Riverside, California) para medir la humedad del suelo (uno en cada tratamiento).
- Balanzas y estufas.



Figura 2.9: Destilador para proteína bruta Kjeldahl Vapodest 6 (Gerhart) e irrómetro (Irrrometer Company).

Phaseolus lunatus



Métodos

3. Métodos:

3.1. Diseño Experimental

3.1.1. Experimento 1 (2005 y 2006): Ensayo en campo de 47 variedades de judía en condiciones de estrés hídrico y regadío.

Se realizaron seis campos de ensayo de los que solo se eligieron dos para incluir en este trabajo: Salceda de Caselas (2006) y Salcedo (2006).

El diseño experimental elegido fue el de bloques completos al azar con dos repeticiones y dos tratamientos: regadío y estrés hídrico. La parcela experimental medía 1 m². La distancia entre surcos fue 0,50 m y entre plantas fue de 0,10 m, con una densidad de cultivo resultante de 200000 plantas ha⁻¹.

Para eliminar el efecto borde se sembraron dos surcos a ambos extremos de la parcela experimental con la misma variedad. A las plantas de regadío se les aplicó un único riego de 64 mm, que coincidía con el déficit hídrico del año anterior.

3.1.2. Experimento 2 (2008): Ensayo factorial en invernadero de 10 variedades de judía inoculadas con 10 cepas de *Rhizobium* en condiciones controladas de estrés hídrico y regadío en invernadero.

El diseño experimental elegido fue el de bloques completos al azar con cuatro repeticiones y dos tratamientos: regadío y estrés hídrico. En cada parcela elemental de 0,35 x 0,20 m se sembraron ocho semillas, dos semillas por golpe y se realizó un destrío en la fase de primer foliolo dejando cuatro plantas en cada parcela elemental.

Para este experimento se realizó un ensayo previo para analizar el comportamiento de las variedades en invernadero y fue muy útil para mejorar el diseño del sistema de regadío, la disposición de las plantas, así como la toma de datos. El hecho que más modificó el planteamiento inicial del experimento fue que dentro del invernadero las plantas experimentaron un crecimiento exuberante. Nueve de las variedades utilizadas tenían hábito de crecimiento de tipo I o

3. Métodos

determinado arbustivo y solo la variedad PHA-155 tenía hábito crecimiento de tipo II o crecimiento indeterminado erecto, con tallo y ramas erectas. En general todas las variedades se comportaron como si tuviesen un hábito de crecimiento de tipo III o indeterminado postrado, con tallos y ramas débiles y rastreros. En algunas ocasiones también llegaron a desarrollar hábitos de tipo IV o indeterminado trepador, con tallo y ramas débiles, largos y torcidos (**Figura 3.1**).

Dado el gran tamaño de las plantas se optó por bajar la cota de colocación de las macetas, para facilitar su manejo y mejorar la observación de los parámetros fenológicos. A partir del estadio de primer foliolo se colocó un entutorado, formado por una estructura de cuerda de rafia que colgaban de unos cables paralelos a las macetas (**Figura 3.1**). Dentro de cada maceta, las parcelas elementales se separaron por medio de una lámina de polietileno negra que llegaba hasta el fondo de la maceta (**Figura 3.2**). Así las variedades con potentes sistemas radiculares como la PMB-286 compitieron entre sí, pero no invadieron parcelas adyacentes. Para evitar interferencias entre cepas se le volvió adjudicar la misma cepa a las macetas utilizadas en la primera repetición. El hecho de repetir un cultivo inoculado supone la mejora de la nodulación en el segundo año (Mostasso et al., 2002). El sistema de riego, consistió en un gotero de 4 l/hora por cada parcela elemental (cinco goteros por maceta). De esta forma se aseguró una mayor uniformidad en el riego (**Figura 3.2**).

En el ensayo previo se utilizó como base de la disolución nutritiva propuesta por Baixauli y Aguilar (2002), pero a la que se suprimieron los 12 meq/l de nitrato cálcico y 0,5 meq/l de nitrato amónico. Para compensar la omisión del calcio de la fórmula nutritiva se añadieron 10 g de hidróxido cálcico a cada parcela elemental, como abonado de fondo.

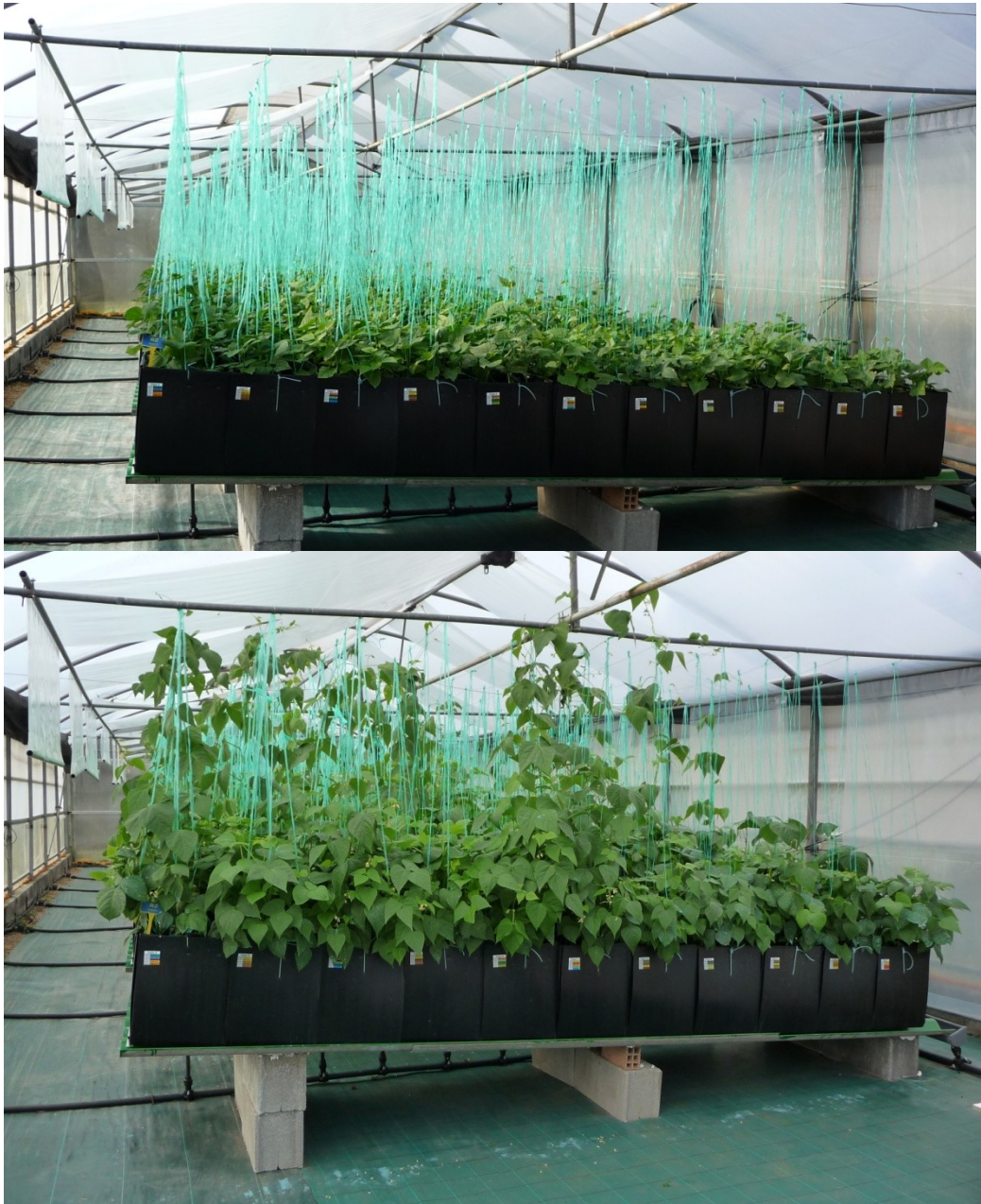


Figura 3.1 Vista general de la disposición del entutorado en una fase inicial y final del cultivo.

3. Métodos

Las plantas se desarrollaron perfectamente hasta la fase de primer foliolo donde se quedaron estancadas. Mahon y Child (1979) llegaron a la conclusión de que es necesaria una mínima aportación de N en situaciones extremas cuando no existe N disponible inmediatamente después de la germinación. La disolución nutritiva utilizada se modificó incluyendo un mínimo de N:

Nitrato amónico	0,50 meq/l
Nitrato cálcico	1,00 meq/l
Fosfato monopotásico	1,25 meq/l
Sulfato potásico	4,21 meq/l
Sulfato magnésico	2,38 meq/l

Una vez modificada la disolución nutritiva, las plantas empezaron a crecer de forma normal.

Además se utilizó un corrector de oligoelementos (Carrier Mix – Sapec Agro, SA, Tarragona), con una concentración de 0,01 g/l. Esta modificación de la disolución nutritiva fue la utilizada en el segundo experimento.



Figura 3.2. Detalle separación con láminas de polietileno entre parcelas elementales (izquierda). Posición central del gotero en cada parcela elemental (derecha).

3.1.3. Experimento 3 (2009): Ensayo factorial de 10 variedades de judías inoculada con 10 cepas de *Rhizobium* en condiciones controladas de estrés hídrico y regadío en campo.

El diseño experimental elegido fue el de bloques completos al azar con dos repeticiones y dos tratamientos: regadío y estrés hídrico. La parcela experimental medía 0,75 m², la distancia entre surcos fue 0,50 m y entre plantas 0,10 m. Se sembraron dos semillas por golpe.

Las dos repeticiones inoculadas con la misma cepa se sembraron de forma contigua, para evitar problemas de contaminación con otras cepas. Entre las parcelas con diferentes cepas se sembraron tres surcos de maíz para evitar posibles contaminaciones (**Figura 3.3**). También se sembró surcos de maíz en los perímetros de las parcelas exteriores de regadío y ambiente con estrés hídrico, con el fin de reducir el efecto borde.



Figura 3.3 Vista general de la disposición de las parcelas y particular. Se observa la fila de plantas de maíz que se utiliza a modo de barrera entre las parcelas elementales de plantas de judía inoculadas con cepas diferentes.

3. Métodos

Durante la preparación del terreno no se aplicó estiércol ni abonado de fondo para evitar cualquier interferencia con los niveles de N, salvo los controles con suplemento de N, que se utilizó una dosis de 40 Kg N ha⁻¹ con el fin de inhibir la nodulación temprana (Hungria et al., 2003).

Las variables utilizadas en el tercer experimento fueron: variedad (10 variedades), cepa (10 cepas y dos controles), tratamiento (secano y regadío) y repetición (dos repeticiones), que supuso un ensayo de 480 parcelas elementales.

La siembra se realizó el 14/05/2009 y se cosechó el 30/09/2009. En la parcela de regadío se instaló de forma permanente un irrómetro para medir la humedad del terreno. El rango de humedad se mantuvo entre el 80 y 100% de la capacidad de campo (CC) durante todo el ciclo del cultivo. Para ello en cuanto la humedad bajaba del 70 % CC se procedía a un riego por goteo de 2 m³ y en caso de no superar el 90 % CC se procedía a otro riego. En total se realizaron siete riegos de 2 m³. Para registrar la humedad durante todo el ciclo de cultivo se instaló un data logger HOBO U12 con dos sondas de humedad ECH₂O para tener dos registros de la humedad del terreno.

En la parcela con estrés hídrico también se instaló un irrómetro y se procuró que la humedad no bajara del 45% CC para asegurar la supervivencia de todas las plantas. En caso de bajar de este valor se procedía a un riego por aspersión de 1000 l, en caso de no alcanzar el 50% CC se procedía a otro riego. En total se realizaron dos riegos de 1m³ En esta parcela también se instaló un data logger HOBO U12 con dos sondas de humedad ECH₂O.

3.2. Procedimientos comunes

3.2.1. Caracteres fenológicos:

Los caracteres fenológicos se tomaron en los tres experimentos. Los caracteres fenológicos se tomaron en los surcos centrales para evitar el posible efecto borde. La descripción de caracteres sigue a continuación (CIAT, 1982).

Primera flor (DFF): días que transcurren desde la siembra hasta la aparición de la primera flor abierta.

Inicio de floración (DF): días transcurridos desde la siembra hasta la aparición de la flor abierta en al menos el 50% de las plantas presentes.

Fin de floración (DEF): días transcurridos desde la siembra hasta que el 50% de las planta no tengan ninguna flor abierta.

Días madurez vaina (DPM): días transcurridos desde la siembra hasta que el 50% de las planta presentes tienen alguna vaina que inicia su decoloración o secado.

Días primera vaina seca (DFPD): días que transcurren desde la siembra hasta la aparición de la primera vaina seca.

Con los datos anteriores se calculan los siguientes índices:

Días de floración (PF): se calcula como la diferencia entre el fin de floración menos el inicio de floración. (DEF-DF)

Días del período reproductivo (DSF): se calcula como la diferencia entre maduración e inicio floración. (DPM-DF)

Índice reproductivo (IR): es el porcentaje que supone la fase reproductiva comparada con el tiempo que emplea la planta hasta llegar a la madurez.

$$IR (\%) = (DPR/DMF)*100$$

3. Métodos

3.2.2. Caracteres morfológicos:

Hábito de crecimiento: se define como las distintas arquitecturas que puede presentar la planta (**Figura 3.4**) (CIAT, 1989):

Tipo I: crecimiento determinado arbustivo

Tipo II: crecimiento indeterminado erecto, con tallo y ramas erectas.

Tipo III: indeterminado postrado, con tallo y ramas débiles y rastreros.

Tipo IV: indeterminado trepador, con tallo y ramas débiles, largos y torcidos.

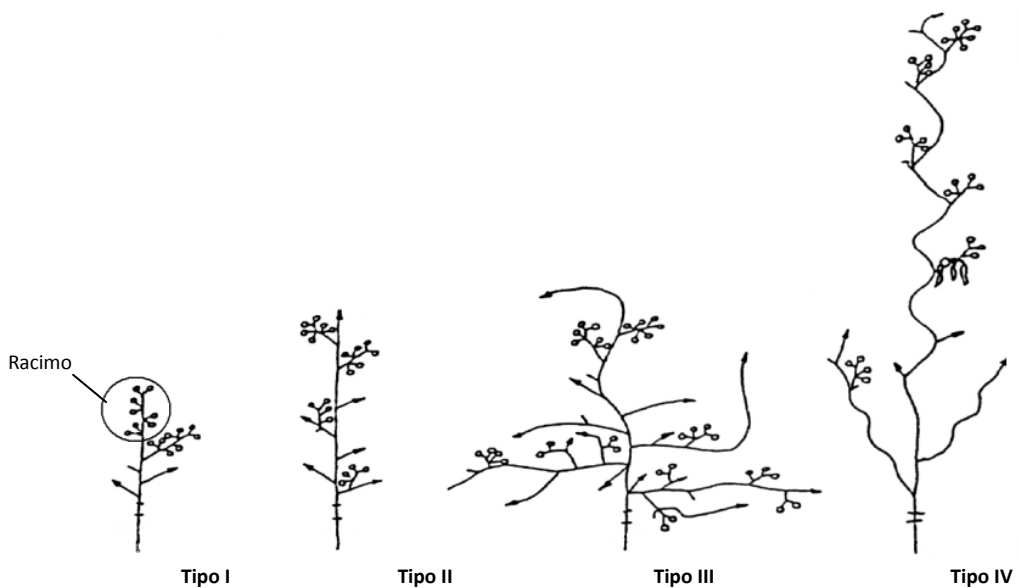


Figura 3.4: Tipos de hábitos de crecimiento en judía común.

3.2.3. Caracteres productivos:

Los caracteres productivos se toman cuando las vainas alcanzan la madurez fisiológica:

Número de granos por vaina (SPO): Se eligen cinco vainas al azar de cada parcela. Se cuentan los granos existentes en cada vaina, sin contabilizar los granos abortados, y se toma como valor de la parcela elemental la media de los cinco valores.

Número de vainas por planta (POP): Se cuentan las vainas existentes en cada parcela elemental que tengan al menos un grano y se divide por el número de plantas que al menos tuviese una vaina.

Área del foliolo (AF): De cada parcela elemental se toman aleatoriamente cinco foliolos de los que se mide el eje longitudinal y transversal para estimar su área en cm². La media de las cinco áreas se tomará como valor de la variable de la parcela elemental. Solo se determinó a inicio de floración en el experimento 1.

Porcentaje de materia seca foliolos (PMSF): Para determinar el porcentaje de materia seca de los foliolos (%) se cortaron aleatoriamente 5 foliolos de cada parcela elemental y se pesaron. Después de secarlos en una estufa a 60 °C durante 3 días, se pesaron nuevamente. Solo se determinó a inicio de floración en el experimento 1.

Materia seca aérea (MSA): Para la materia seca aérea por planta (g planta⁻¹) se corta la planta a ras de suelo y después de secarla a 60 °C durante 3 días. (Boutraa y Sanders, 2001a), se pesa nuevamente. En el experimento 1 se calculó cuando se cosechó la planta. En el experimento 2 y 3 se determinó a inicio de floración.

Producción de biomasa (BT): Es la producción de materia seca aérea expresada en kg ha⁻¹. Se calcula:

$$BT = MSA * 200$$

Porcentaje de nitrógeno en materia seca aérea (PNMSA): Se toma una muestra de la parte aérea de la planta seca y se determina el porcentaje de N utilizando el método Kjeldahl (apartado 3.2.4)

3. Métodos

Cantidad de nitrógeno en materia seca aérea (NMSA): Se expresa en g planta^{-1} y se calcula de la siguiente forma:

$$\text{NMSA} = (\text{MSA} * \text{PNMSA}) / 100$$

Materia seca radicular (MSR): Para calcular la materia seca radicular por planta (g planta^{-1}) una vez cortada la planta a ras de suelo, se extrae la raíz (con cuidado de no romperla o perder los nódulos). Después de extraer y contar los nódulos se secan a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 3 días y se pesa (Ehlers et al., 1991). Solo se determinó en el experimento 2.

Número de nódulos (nuN): Se extrae, los nódulos de la raíz y se cuentan. En el experimento 3, dado el gran número de muestras las raíces se cortaron y congelaron en el mismo día. A medida que se iban contando las muestras se iban descongelando.

Materia seca nodular (MSN): La materia seca nodular por planta (g planta^{-1}) se determina una vez contados los nódulos secados a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 2 días y pesados (Bouhmouch et al., 2005). Esta variable se determinó en los experimentos 2 y 3.

Materia seca nodular media (MSNM): Es la masa de un nódulo medio en miligramos, se calcula como sigue:

$$\text{MSNM} = \text{MSN} / \text{nuN}$$

Masa de 100 semillas (MCS): Calculada como $\text{g } 100 \text{ semillas}^{-1}$ con un 12% de humedad. Se pesan 100 semillas elegidas de forma aleatoria. Se secan a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 3 días y se vuelven a pesar. Se determina el porcentaje de humedad de las semillas (PHuS).

$$\text{MCS} = (\text{MCS}_{\text{húmeda}} * 12) / \text{PHuS}$$

Materia seca grano (MSS): Se pesa todo el grano producido en la parcela elemental y se divide por el número de plantas, lo que correspondería con producción de grano en fresco por planta, expresado como g planta^{-1} .

$$\text{MSS} = (\text{Producción de grano fresco por planta} * \text{PHuS}) / 100$$

Porcentaje de nitrógeno en materia seca en semilla (PNMSS): Se toma una muestra de semilla seca y se determina el porcentaje de N utilizando el método Kjeldahl (apartado 3.2.4)

Cantidad de nitrógeno en materia seca en semilla (NMSS): Se expresa en g planta⁻¹ y se calcula de la siguiente forma:

$$NMSA = (MSS * PNMSS) / 100$$

Producción de grano (Y): Es la producción de grano al 12% de humedad en kg ha⁻¹. Se calcula a partir de la MSS.

$$Y = (200 * MSS) / 0,88$$

Se nombrará la producción en condiciones de estrés **Y_d** y la producción en condiciones normales **Y_p**.

Índice de intensidad de sequía (DII) (Fisher 1978):

$$[1 - (Y_D / Y_P)]$$

Y_D: Producción media de todas las variedades en sequía

Y_P: Producción media de todas las variedades en condiciones normales.

Susceptibilidad a la sequía (S):

$$[1 - (Y_{Di} / Y_{Pi})] / [1 - (Y_D / Y_P)]$$

Y_{Di}: producción de grano en condiciones de sequía para la variedad i

Y_{Pi}: producción de grano en condiciones normales para la variedad i

Y_D: Producción media de todas las variedades en sequía

Y_P: Producción media de todas las variedades en condiciones normales.

Índice de Cosecha (HI): se define como el cociente de la producción de grano y la biomasa total aérea. (Y/TB)

Índice de Cosecha de N (NHI): se define como el cociente de NMSS y NMSA. (NMSS/NMSA)

3. Métodos

3.2.4. Preparación del inóculo e inoculación:

Las cepas puras se sembraron en placas Petri con medio YMA (Yeast Manitol Agar) y se incubaron a 25°C durante 3 días. Con un hisopo se extraen las colonias y disuelven en agua destilada a una concentración de 10^8 células/ ml. La concentración se determina midiendo la turbidez con un espectrofotómetro.

Antes de inocular las semillas, estas se lavan en una solución de lejía al 10% (5,25 % sodio hipoclorito) para evitar la contaminación. Las semillas, una vez inoculadas, se guardan en una bolsa de polietileno para que conserven la humedad. Cada bolsa está convenientemente etiquetada con su número de parcela. Las bolsas se guardan en un lugar fresco y evitando la radiación solar. Las semillas no inoculadas se sembraron en primer lugar para evitar la contaminación con las cepas de las demás parcelas. Después de sembrar cada parcela todas las herramientas, guantes y botas se limpiarán con lejía al 20%, para evitar contaminación entre las distintas cepas inoculadas (Chemining et al., 2006).

3.2.5. Determinación de la proteína bruta:

Como muestra para la determinación de PNMSS se molieron las 100 semillas secas utilizadas para determinar MCS. Y en la muestra para PNMSA se molió la planta seca utilizada en la MSA. A un tubo de digestión se añade 0,5 g de muestra, una tableta de catalizador Kjeldahl cobre (0,1 g de CuSO_4 + 5g de K_2SO_4) y 15 ml de H_2SO_4 (aq) al 37%. Se introduce en un digestor 15 min a 100 °C para que se evapore el agua, a continuación se realiza un precalentamiento a 300 °C durante 15 min y finalmente 2 h a 400°C. Una vez enfriado, se introduce el tubo de digestión en el destilador, se diluye con 60 ml de agua destilada, se le añade 105 ml de NaOH al 32%. Se destila durante 4 min. Como disolución receptora se utilizan 75 ml H_3BO_3 al 3%. Finalmente se valora con HCl (aq) 0,1 M.

En cada tanda de digestión se incluye un blanco y un control. Al blanco se le añade todos los reactivos menos la muestra y al control se le añade un patrón. El patrón consiste en una mezcla de 0,5 g de acetanilida y 0,5 g de sacarosa. Las tandas se validan cuando el porcentaje de recuperación del control se encuentra entre 97 y 102 del % de nitrógeno.

El porcentaje de recuperación se calcula de la siguiente forma:

$$\% \text{ de recuperación} = \frac{(\% \text{ de N obtenido del patrón})}{\left(\frac{14}{135,17}\right) * 100}$$

Donde 14 es el peso molecular del N y 135,17 es el peso molecular de la acetanilida. Finalmente, al porcentaje de N de cada muestra se le resta el porcentaje de N del blanco.

3.2.6. Análisis estadístico de los resultados:

Se ha realizado un análisis de varianza individual para los caracteres cuantitativos tomados en cada uno de los ensayos mediante el paquete estadístico SAS (SAS, 2000). Se realizó la prueba “F” de cociente de varianzas para poner de manifiesto la existencia de diferencias significativas entre los orígenes de variación estudiados (Steel et al., 1997). El procedimiento empleado fue el modelo lineal general “GLM” (General Linear Model), que utiliza el ajuste con el método de mínimos cuadrados. Para la comparación de medias se utilizó el mismo procedimiento “GLM” con la sentencia “means” mediante la cual se calcula la media aritmética, desviación estándar de todas las variables y la menor diferencia significativa de Fisher (Least Significant Difference, **LSD**).

3. Métodos

Para el análisis de componentes principales se utilizó el paquete estadístico XLSTAT (Addinsoft, 2008). Se calcularon los componentes principales utilizando los coeficientes de correlación de Pearson. Como salida gráfica se utilizó el biplot de correlación.

Phaseolus acutifolius



**Primer experimento:
Resultados y discusión**

4. Primer experimento: Resultados y discusión.

4.1. Campos de ensayo:

El experimento 1 consistió en aplicar a 47 variedades de judía dos tratamientos (regadío y estrés hídrico) en 6 campos de ensayo: Lalín (2005 y 2006), Pontevedra (2005 y 2006), Salceda (2006) y Xinzo de Limia (2005). Los campos de ensayo de Pontevedra 2006 y Salceda 2006, fueron los campos que experimentaron una sequía significativa, y por tanto los que se analizarán en este capítulo (**Anexo 2**).

4.2. Modelo para el análisis de resultados:

El primer modelo utilizado consta de dos ambientes (E): Pontevedra y Salceda, dos tratamientos (T) regadío (sin estrés hídrico) y sequía (con estrés hídrico), interacción ambiente-tratamiento (E*T), 47 genotipos (G), interacción genotipo y ambiente (E*G), interacción tratamiento-genotipo (T*G), interacción ambiente-tratamiento-genotipo (E*T*G), repetición (R) y el error del modelo (error).

$$Y = E + T + E*T + G + E*G + T*G + E*T*G + R(E*T) + \text{err}$$

donde Y es cualquiera de las variables estudiadas: primera flor, inicio floración, fin floración, madurez en vaina, primera vaina seca, días de floración, período reproductivo, índice reproductivo, vainas planta, masa vaina, semillas vaina, masa cien semilla, producción grano, materia seca de foliolo, área foliar, biomasa planta. Este modelo es significativo para un $P < 0,0001$. Para todos los caracteres estudiados de este modelo (**Tabla 4.1**) existen diferencias significativas entre los dos ambientes, Pontevedra y Salceda. La diferencia de los parámetros fenológicos se debió a que en Salceda las plantas han sufrido un adelanto de la floración debido a una exposición a temperaturas más altas (**Anexo 1**), adelanto también observado en otros trabajos (Muñoz-Perea et al., 2007; Porch et al., 2009, 2010).

4. Primer Experimento

Tabla 4.1: Variables analizadas con su nivel de significación de cada una de las fuentes de varianza.

		E	T	E*T	R(E*T)
Primera flor	(días)	***	ns	ns	ns
Inicio floración	(días)	***	ns	**	ns
fin floración	(días)	***	ns	***	ns
Madurez vaina	(días)	***	***	***	ns
Primera vaina seca	(días)	***	***	***	ns
Días de floración	(días)	***	ns	*	ns
Período reproductivo	(días)	***	***	***	ns
Índice reproductivo	%	***	**	***	ns
Vainas planta	nº	***	***	ns	ns
Masa vaina	g	***	***	ns	***
Semillas vaina	nº	***	***	***	***
Masa cien semilla	g	ns	***	**	ns
Producción grano	kg*ha ⁻¹	ns	***	ns	ns
Materia seca foliolo	%	***	***	***	ns
Área foliar	cm ²	***	***	***	***
Biomasa	kg*ha ⁻¹	***	***	***	-

		G	E*G	T*G	E*T*G
Primera flor	(días)	***	***	ns	ns
Inicio floración	(días)	***	***	*	**
fin floración	(días)	***	***	ns	ns
Madurez vaina	(días)	***	***	***	***
Primera vaina seca	(días)	***	***	ns	***
Días de floración	(días)	**	***	ns	ns
Período reproductivo	(días)	***	***	ns	ns
Índice reproductivo	%	***	***	ns	ns
Vainas planta	nº	***	**	ns	ns
Masa vaina	g	***	***	***	***
Semillas vaina	nº	***	ns	***	*
Masa cien semilla	g	***	***	***	***
Producción grano	kg*ha ⁻¹	***	***	***	ns
Materia seca foliolo	%	ns	ns	ns	ns
Área foliar	cm ²	***	***	ns	ns
Biomasa	kg*ha ⁻¹	***	***	***	***

E: Ambiente. T: tratamiento E*T: Interacción ambiente-tratamiento. R(E*T): Repetición. G: Genotipo. E*G: interacción ambiente-genotipo. T*G: Interacción tratamiento-genotipo. E*T*G: interacción ambiente-tratamiento-genotipo. *** P<0,0001; ** P<001; * P<0,01; ns: no significativo.

Entre tratamientos hay diferencias en todos los parámetros, salvo los fenológicos relacionados con la floración. En el **Anexo 2** se observa que los niveles hídricos durante la fase de inicio de floración son similares entre las parcelas en condiciones de déficit hídrico y las de regadío, y por tanto era esperable que no hubiese diferencias significativas para estos valores fenológicos. Situaciones similares se han descrito en otros ensayos (Urrea et al., 2009). Entre genotipos si existen diferencias significativas para todos los caracteres estudiados, excepto la materia seca del foliolo. Los genotipos responden de forma diferente en los dos ambientes, salvo para los caracteres de semillas por vainas y porcentaje de materia seca del foliolo, debido a la existencia de interacción genotipo*ambiente. La interacción tratamiento*genotipo es significativa para los caracteres relacionados con la producción de grano (masa vaina, semillas por vaina, masa de cien semillas y producción de grano), inicio floración, madurez vaina y producción de biomasa.

El estrés hídrico casi siempre supone una reducción en la producción de grano de la planta. El índice de intensidad de sequía (**DII**), (Fisher y Mauer, 1978), da idea de la intensidad del estrés hídrico y es ampliamente utilizado en todos los trabajos relacionados con el estrés hídrico (Ramírez-Vallejo y Kelly, 1998; Terán y Singh, 2002a; Szilagyi, 2003; Frahm et al., 2004; Rosales-Serna et al., 2004; Singh, 2007; Urrea et al., 2009; Porch et al., 2009). El DII de los campos de ensayo de Pontevedra (0,73) y Salceda (0,63) son elevados, lo que hace que las diferencias encontradas entre tratamientos y variedades sean mayores a los encontrados en ensayos previos publicados (Terán y Singh, 2002a; Muñoz-Perea et al., 2006; Singh, 2007; Urrea et al., 2009).

Cuando se diseña un experimento como el actual en el que se aplican dos tratamientos, sin estrés hídrico y con estrés hídrico, puede realizarse en la misma finca repitiéndose en el tiempo, (Muñoz-Perea et al., 2006, 2007; Brick et al., 2008) o hacerlo en dos localidades y repetirlo en el tiempo (Singh, 2007; Urrea et al., 2009).

4. Primer Experimento

En todos los trabajos antes citados han existido diferencias de producción entre ambientes, años y sobre todo, entre tratamientos, ofreciendo una amplia variabilidad en los índices de intensidad de sequía. Este resultado es paradójico, pues en la medida que el ensayo cubre un mayor rango de situaciones de estrés, resulta más difícil valorar genotipos y apreciar interacciones. Posiblemente sea debido a que el modelo solo contempla dos posibilidades en tratamientos: estrés o no estrés y por tanto el modelo intenta asignar a esta variable tratamiento la misma cantidad fija de variabilidad a situaciones de estrés severo con un DII=0,81 como a situaciones de estrés leve con un DII=0,30. En caso de estrés severo, el diferencial de variabilidad que se produce entre la cantidad fija antes citada y la observada, el modelo la transferirá a la interacción genotipo*ambiente o a aumentar la varianza de error, aunque esta variabilidad realmente ha sido producida por un mayor estrés en el tratamiento. Esto puede que explique los resultados de trabajos publicados, donde existe una mayor interacción genotipo*ambiente que genotipo*tratamiento.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, se propone utilizar un modelo cuantitativo en el que se tenga en cuenta el nivel de estrés sufrido por la planta. En el **Anexo 2** sobre balance hídrico en el experimento 1 se estimó el número de días que las plantas estuvieron sometidas a estrés hídrico (S). Con este parámetro S, se propone el siguiente modelo:

$$X = S + G + S*G + R + (er)$$

donde S es el número de días que la planta sufre estrés hídrico, G es genotipo, S*G la interacción genotipo*días-estrés, R repetición y (er) es el error del modelo. En la **Tabla 4.2** se observa un mejor ajuste y se observa una diferencia más significativa para todas las variables, salvo para la materia seca de foliolo, y una mayor interacción entre genotipo y estrés. Este mejor ajuste redundará en valores más elevados de los parámetros genéticos estudiados.

4. Primer Experimento

Tabla 4.2: Variables analizadas con su nivel de significación de cada una de las fuentes de varianza para el modelo que tiene en cuenta el estrés hídrico sufrido.

		S	G	S*G	R(S)
Primera flor	(días)	***	***	***	ns
Inicio floración	(días)	***	***	***	ns
fin floración	(días)	***	***	***	ns
Madurez vaina	(días)	***	***	***	ns
Primera vaina seca	(días)	***	***	***	ns
Días de floración	(días)	***	***	***	ns
Período reproductivo	(días)	***	***	***	ns
Índice reproductivo	%	***	***	***	ns
Vainas planta	nº	***	***	**	ns
Masa vaina	g	***	***	***	***
Semillas vaina	nº	***	***	***	***
Masa cien semilla	g	***	***	***	ns
Producción grano	kg*ha ⁻¹	***	***	***	ns
Materia seca foliolo	%	***	ns	ns	ns
Área foliar	cm ²	***	***	***	***
Biomasa	kg*ha ⁻¹	***	***	***	-

S: número de días de estrés hídrico. G: Genotipo. S*G: interacción estrés-genotipo.
 *** P<0,0001; ** P<001; * P<0,01; ns: no significativo.

La heredabilidad en sentido amplio (Escribano et al., 1994, 1997) se ha calculado utilizando los componentes de varianza para cada modelo, mediante el procedimiento VARCOMP de SAS/STAT® (SAS Institute Inc., Cary, USA) (Cubero, 2003; Kumar et al., 2008) que estima la contribución de cada efecto aleatorio a la varianza de la variable dependiente:

$$H = \frac{\sigma^2_G}{\sigma^2_G + \sigma^2_{GS} + (\sigma^2_e/r)}$$

Donde H es la heredabilidad en sentido amplio y σ^2_G , σ^2_{GS} y σ^2_e son la varianza genotípica, la varianza de la interacción entre genotipo-estrés y la varianza

4. Primer Experimento

residual, respectivamente, y r es el número de repeticiones. En la **Tabla 4.3** se observa que los valores de la heredabilidad en el segundo modelo son superiores para todas las variables dependientes. La heredabilidad calculada para la producción de grano según el segundo modelo es alta (0,51) si se compara con los valores determinados en trabajos anteriores, situado entre 0,19 y 0,59 (Schneider et al., 1997; Painawadee et al. 2009) y supone un aumento del 24%. Esto pone de manifiesto la importancia de la elección del modelo.

Tabla 4.3: Heredabilidades (H) para 11 variables utilizando la varianza del genotipo (σ^2_G) y varianza del error (σ^2_e) calculadas a partir de dos modelos.

		Modelo: E+T+E*T+G+E*G+T*G+E*T*G			Modelo: S+G+S*G			Mejora (*) %
		σ^2_G	σ^2_e	H	σ^2_G	σ^2_e	H	
Primera flor	(días)	15,789	8,260	0,79	18,390	8,702	0,81	2,0
Inicio floración	(días)	33,507	16,109	0,81	35,042	16,109	0,81	0,9
fin floración	(días)	26,269	43,181	0,55	35,839	43,181	0,62	13,7
Madurez vaina	(días)	52,452	87,870	0,54	71,303	87,870	0,62	13,7
Primera vaina seca	(días)	47,933	73,816	0,56	56,709	73,816	0,61	7,2
Vainas planta	nº	2,682	8,368	0,39	3,628	8,368	0,46	18,9
Masa vaina	g	0,326	0,593	0,52	0,442	0,593	0,60	14,2
Semillas vaina	nº	0,444	0,780	0,53	0,476	0,780	0,55	3,3
Masa cien semilla	g	33,406	17,584	0,79	41,380	17,584	0,82	4,2
Producción grano	kg*ha ⁻¹	49476	138243	0,42	72092	138243	0,51	22,4
Área foliar	cm ²	19,643	42,855	0,48	25,369	42,859	0,54	13,3

(*) Mejora (%): mejora expresada en porcentaje (%) de la estimación de la heredabilidad, al utilizar el modelo en el que se utiliza el campo: días de estrés hídrico

4.3. Comportamiento productivo de las variedades:

Ramírez-Vallejo (1998) estima que valores de DII superiores a 0,7 suponen un estrés severo para la planta y Muñoz-Perea (2006) afirma que un DII menor de 0,5 supone un estrés leve. El DII para Pontevedra es de 0,73 y de 0,69 para Salceda, y corresponderían a un estrés hídrico extremo. En la **Tabla 4.4**, si se comparan los datos de producción de grano en regadío y en condiciones de estrés hídrico, se observa que en Pontevedra el 87% de las variedades tiene una reducción significativa en su producción y en Salceda la reducción afectan al 79% de las variedades.

4. Primer Experimento

Tabla 4.4: Producción de semilla (kg ha^{-1}) en Pontevedra y Salceda.

Y	Pontevedra		Salceda		Y	Pontevedra		Salceda	
	kg ha^{-1}		kg ha^{-1}			kg ha^{-1}		kg ha^{-1}	
	reg	sec	reg	sec		reg	sec	reg	sec
PHA-0006	1079	236	733	205	CO-25	1372	345	1190	265
PHA-0118	1549	208	734	551	CO-37	1853	511	886	153
PHA-0122	711	245	359	302	PMB-0127	647	207	258	0
PHA-0124	1534	256	877	201	PMB-0220	1518	444	1397	529
PHA-0148	1067	323	571	307	PMB-0224	1776	401	1384	441
PHA-0155	875	0	436	0	PMB-0239	2317	423	1668	425
PHA-0179	726	313	536	507	PMB-0244	1778	543	2679	712
PHA-0246	1255	273	1644	150	PMB-0284	640	524	1260	0
PHA-0298	1174	288	1021	106	PMB-0285	1726	292	1465	668
PHA-0371	853	251	680	399	PMB-0286	883	268	1972	1412
PHA-0404	942	233	567	140	PMB-0287	1488	342	2383	736
PHA-0418	1252	444	1175	0	PMB-0288	1528	170	312	0
PHA-0432	1499	484	2484	1031	PMB-0292	977	150	100	0
PHA-0471	1643	636	3026	1030	PMB-0306	1327	439	3085	537
PHA-0483	819	304	1066	555	PMB-0307	1220	513	1183	798
PHA-0484	648	178	1860	488	PMB-0308	1506	404	1887	540
PHA-0492	1225	194	1916	299	PMB-0309	1455	310	2546	0
PHA-0493	397	176	792	0	PMB-0310	1176	418	1215	891
PHA-0543	1613	569	2622	550	PMB-0311	810	253	577	0
PHA-0553	1251	278	967	296	PMB-0312	1312	417	1830	979
PHA-0578	1554	388	1645	305					
PHA-0595	1379	494	1163	165					
PHA-0649	1176	339	1078	381					
PHA-0683	1461	204	1231	1060					
PHA-1842	607	213	639	0					
PHA-2074	905	367	1792	525					
PHA-2076	1247	240	185	0					

	Pontevedra		Salceda	
	reg	sec	reg	sec
Mínimo	640	150	100	0
Máximo	2.317	543	3085	1412
Media	1.365	369	1464	454
LSD	799	321	799	321

4. Primer Experimento

En la **Figura 4.1** se representa la producción de grano en regadío y condiciones de estrés hídrico, en las dos localidades. Todos los puntos se encuentran por debajo de la bisectriz ya que el estrés hídrico supone una disminución de la producción en todas las variedades. Los puntos sobre el eje de coordenadas representan aquellas variedades con producción nula. Se observa una mayor dispersión de los valores de Salceda, ya que existen tanto puntos muy cercanos a la bisectriz como puntos sobre el eje de coordenadas. En cambio los puntos de Pontevedra está más concentrados entre la franja de 500 a 1000 kg ha⁻¹, lo cual explica su mayor DII.

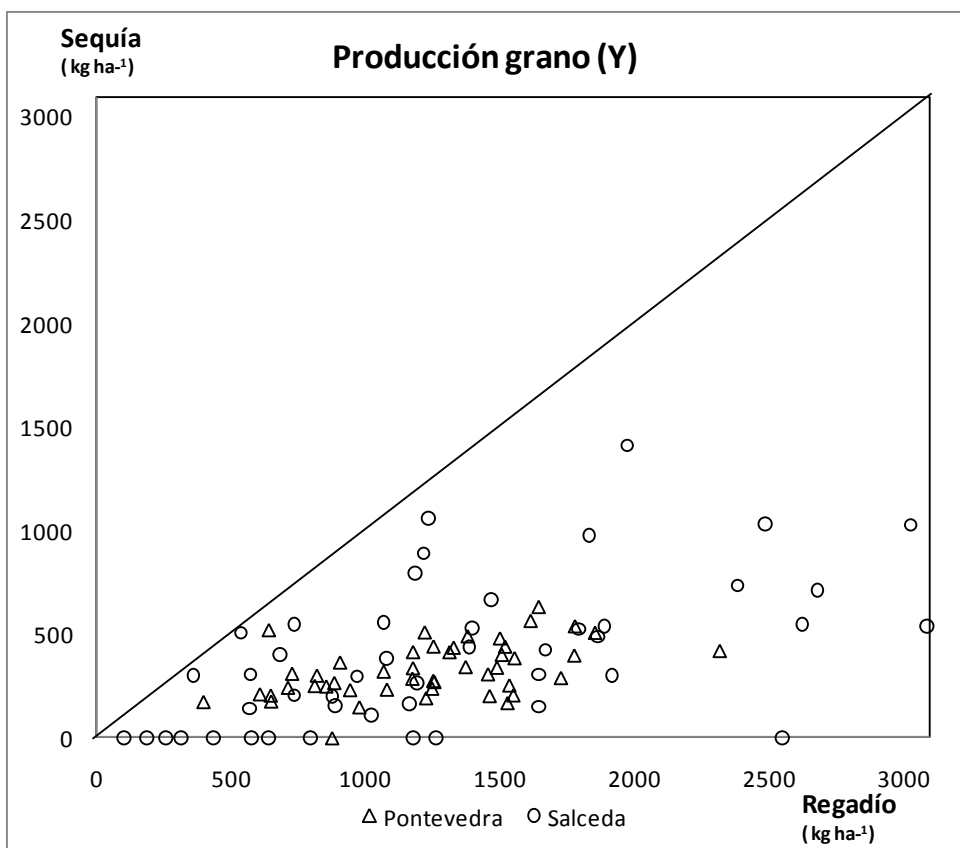


Figura 4.1: Producción de grano (kg ha⁻¹) de regadío vs ambiente con estrés hídrico.

En la **Figura 4.2** se representa la producción grano promedio de Pontevedra y Salceda en condiciones de regadío vs condiciones de estrés hídrico. Se han incluido dos líneas auxiliares, que corresponden a las medias de regadío y sequía, que dividen la gráfica en 4 cuadrantes. En el cuadrante inferior izquierdo estarían las variedades con menores rendimientos tanto en regadío como en condiciones de estrés hídrico, entre las que se encuentra PHA-0404 que es una variedad con buena aceptación en el mercado (Casquero et al., 2006). El cuadrante superior derecho corresponde a las variedades más productivas en regadío que también son productivas en condiciones de estrés hídrico como PHA-0471, PMB-0286, PHA-0432, PMB-0244, PHA-0307, PHA-0683. El cuadrante superior izquierdo corresponde a variedades con bajos rendimientos en regadío pero que ante un estrés hídrico severo mantiene su escaso rendimiento (PHA-0483 y PHA-0179). En el cuadrante inferior derecho estarían las variedades productivas en regadío que son sensibles al estrés hídrico, como la PMB-0309.

Las variedades con mejor comportamiento en sequía son PMB-0286, PHA-0471, PHA-0432, PMB-0307, PMB-0310, PHA-0683, PMB-0244, PMB-0312, PHA-0543 y PMB-0287. Estas variedades pertenecen a áreas geográficas dispares PHA-0471 (Pravia, Asturias), PHA-0432 (Tudela, Navarra), PHA-0683 (Monçao, Portugal) y PHA-0543 (La Bañeza, León), pero en ningún caso asociadas a zonas semidesérticas, lo cual pone de relieve que en el proceso de selección masal desarrollado por los agricultores a lo largo de los años, los genes de resistencia a la sequía se han mantenido posiblemente por estar ligados a los genes responsables de la producción de grano. De todas las líneas ensayadas, solo está caracterizada morfoagronómica y bioquímicamente PHA-0471, como raza mesoamericana (Santalla et al., 2002; Rodiño et al., 2003).

En Salceda llama la atención, que a pesar de tener un DII inferior al de Pontevedra, en condiciones de estrés hídrico existe un mayor número de variedades con producción de grano nula. Esto puede ser debido a un problema de adaptación de las variedades a las condiciones de las parcelas o al estrés térmico sufrido en Salceda. Un ejemplo de problema de adaptación, es el sufrido por PMB-0284 en el trabajo de Acosta-Gallegos y Adams (1991), en condiciones de estrés hídrico, el campo de ensayo con un DII=0,58 tenía el doble de producción que el campo con un DII=0,42. Acosta-Gallegos y Adams, ante estos datos contradictorios argumentaron que debe haber otras características para la adaptación de la plantas, además de las necesarias para la tolerancia al estrés hídrico.

Pero el factor que mejor explica esta diferencia sea el estrés térmico. Rainey y Griffiths (2005) llegaron a la conclusión de que la alta abscisión de los órganos reproductivos como respuesta al estrés térmico en judía, estaba regulado por un gen recesivo simple, a la vista de la segregación de la variedad Majestic, sensible al estrés térmico. Según Porch (2006) las temperaturas máximas excesivamente altas, a partir de 30°C, explican mejor que la humedad relativa baja la reducción en la producción. Pero Singh et al. (2001) indican que la temperatura mínima cuando es superior a 20°C, explica mejor las mermas en producción que los incrementos en la temperatura máxima.

PMB-0220 puede ser un ejemplo de sensibilidad al estrés térmico. Esta variedad obtuvo una producción entre 1400 y 1500 kg ha⁻¹ en condiciones de regadío, lo que supone la mitad de lo registrado en los trabajos anteriores (Muñoz-Perea et al., 2006; Singh, 2007; Urrea et al., 2009). Solo en uno de los campos de ensayo de regadío antes citados (Muñoz-Perea et al., 2006) obtuvieron valores similares a los este experimento, y que coincide con el único ensayo donde se registraron temperaturas muy altas, en concreto, 18 días con temperatura máxima superiores a 35°C. En Salceda y Pontevedra hubo 8 días con t_{\min} superiores a 35°C, y posiblemente

4. Primer Experimento

sea este factor el responsable de la baja productividad observada en esta variedad en regadío. PMB-0239, PMB-0224 y PMB-0312 registraron el mismo comportamiento, por lo que se deduce una cierta sensibilidad de estas variedades al estrés térmico (Muñoz-Perea et al., 2006).

Los valores de producción de PMB-0285 en condiciones de estrés hídrico, describen una secuencia de valores de producción lineal para los valores de DII registrados en los distintos campos de ensayos. Para un $DII=0,51$ sufre una reducción del 35% (Frahm, 2003, 2004), para un $DII=0,63$ (Salceda) disminuye un 54%, para un $DII=0,73$ (Pontevedra) disminuye un 83%, y finalmente para $DII=0,81$ disminuye un 97%. Similar linealidad se observaron en los datos publicados y en los obtenidos en otros ensayos (Abebe et al., 1998; Rosales-Serna et al., 2000; Frahm et al., 2002, 2003, 2004; Teran y Singh 2002a, 2002b; Dorcinvil et al., 2010; Singh, 2007; Muñoz-Perea et al., 2006, 2007; Porch et al., 2009).

En cambio existen variedades que al comparar los datos de producción de diferentes ensayos en condiciones de estrés hídrico, muestran un comportamiento bastante errático. Por ejemplo, PMB-0286 para un $DII=0,01$ la reducción es del 30% (Frahm, 2002), para un $DII=0,51$ la reducción es de del 50% (Frahm et al., 2003; 2004) y en cambio en Salceda con $DII=0,63$ la reducción es solo del 28% y con un $DII=0,83$ la reducción es de 67% (Frahm et al., 2003; 2004). Este comportamiento puede ser debido a problemas de adaptación no relacionados con el estrés hídrico, o sencillamente debido a la forma de calcular el DII en cada ensayo.

Al calcular el DII se utiliza la media del total de las producciones ensayadas en condiciones de regadío y la media del total de las producciones en condiciones de estrés hídrico. Si en el ensayo existen muchas variedades muy sensibles el índice tenderá a ser alto, aunque las condiciones de estrés hídrico no sean muy extremas. Y también puede darse el caso paradójico de ensayos en el que todas las variedades sean muy resistentes y con un DII muy bajo a pesar de que las plantas hayan estado

expuestas a un estrés hídrico importante. Un ejemplo de cómo se ve afectado el DII en función de las variedades elegidas, se puede observar si se analizan los datos de los trabajos de Muñoz-Perea et al. (2006, 2007) y Brick et al. (2008). Los tres trabajos utilizan los datos de un ensayo realizado en Kimberly, Michigan en los años 2003 y 2004. PMB-0224 aparece en los tres trabajos con la misma producción, tanto en regadío como en condiciones de estrés hídrico para los años 2003 y 2004. Sin embargo, como las variedades incluidas en cada uno de los trabajos fueron diferentes, el DII variaba en cada trabajo. El resultado es paradójico, se obtienen la misma producción en condiciones de estrés hídrico con un DII que varía de 0,34 a 0,62. Para evitar esta deriva en la valoración de estrés hídrico, podría incorporarse en cada ensayo una serie de variedades contrastadas, tanto por su sensibilidad como por su tolerancia, y calcular el DII solo con estas variedades control. De esta forma se eliminaría el efecto “elección de variedades” del índice DII, y sería más fácil la comparación de los efectos del estrés hídrico entre los diferentes trabajos.

4.4. Análisis de las diferentes estrategias de respuesta al estrés

Varios autores hacen hincapié en la importancia de la raza Durango como fuente de genes para la resistencia a la sequía (Teran y Singh, 2002a; Frahm et al., 2003, 2004; Ishitani et al., 2004). En algunos trabajos en los que se realizaron cruces interraciales con raza Durango, la mayoría la descendencia no superaban los valores de producción de grano de sus progenitores en dichas condiciones adversas. (Beaver y Kelly, 1994, Schneider et al., 1997; Kelly et al., 1998; Rosales-Serna et al., 2000; Kumar et al., 2008; Gonzalez et al., 2009). En el presente apartado se intentará analizar las distintas estrategias que utilizan las plantas para afrontar el estrés hídrico, valorando cuales han sido las más exitosas y si estas estrategias pueden ser compatibles entre sí. Para ello se estudiará la correlación que hay entre los distintos

4. Primer Experimento

caracteres fenológicos, morfológicos y productivos. Y finalmente se agruparán las distintas variedades en función de la respuesta que tienen ante el estrés hídrico.

En la **Figura 4.4** se representa el dendrograma de las variedades agrupadas por disimilitud por distancias euclídeas y por el método de Ward. Cada una de estas clases representaría un grupo de variedades que tienen parámetros comunes en condiciones de regadío y cuentan con una respuesta similar ante la sequía. En la **Tabla 4.5** aparecen los valores medios de cada clase para todas las variables.

En la **primera** clase se encontrarían: CO-25, PHA-0118, PHA-0124, PHA-0246, PHA-0578 y PHA-0595. Corresponde a variedades con parámetros fenológicos y productivos intermedios. Son plantas grandes de hojas y semillas grandes (32,26 g de media), de colores claros y lisas. Los valores de producción en regadío de biomasa y grano son intermedios. Ante un estrés hídrico sus parámetros fenológicos aumentan, se incrementan los días para madurez de vaina y primera vaina seca, así como los días de floración. Una estrategia de floración tardía que puede dar buen resultado en caso de que el estrés sea puntual y la planta sea capaz de generar nuevas hojas y flores (Boutraa y Sanders, 2001b; Singh, 2007), pero cuando el estrés es permanente, como en este ensayo, esta estrategia resulta ineficaz. El tamaño de semilla es bastante estable ante el estrés hídrico, solo sufre una reducción media del 14%. La producción de grano cae de forma importante en condiciones de estrés hídrico.

La **segunda** clase estaría compuesta por CO-37, PHA-0492, PHA-0683, PMB-0307, PMB-0310 y PMB-0312. Son variedades de ciclo corto son las más precoces y utilizan esta estrategia para aprovechar el máximo de humedad inicial del suelo y así asegurar una alta productividad. (Singh, 2007; Cattivelli et al., 2008). Estas variedades son de plantas grandes de hojas intermedias, con semillas de masa intermedio y de color rojo o crema con pintas rojas. La producción en regadío es alta pero debido al porte de la planta tiene un HI bajo. Sus parámetros fenológicos permanecen estables ante el estrés hídrico.

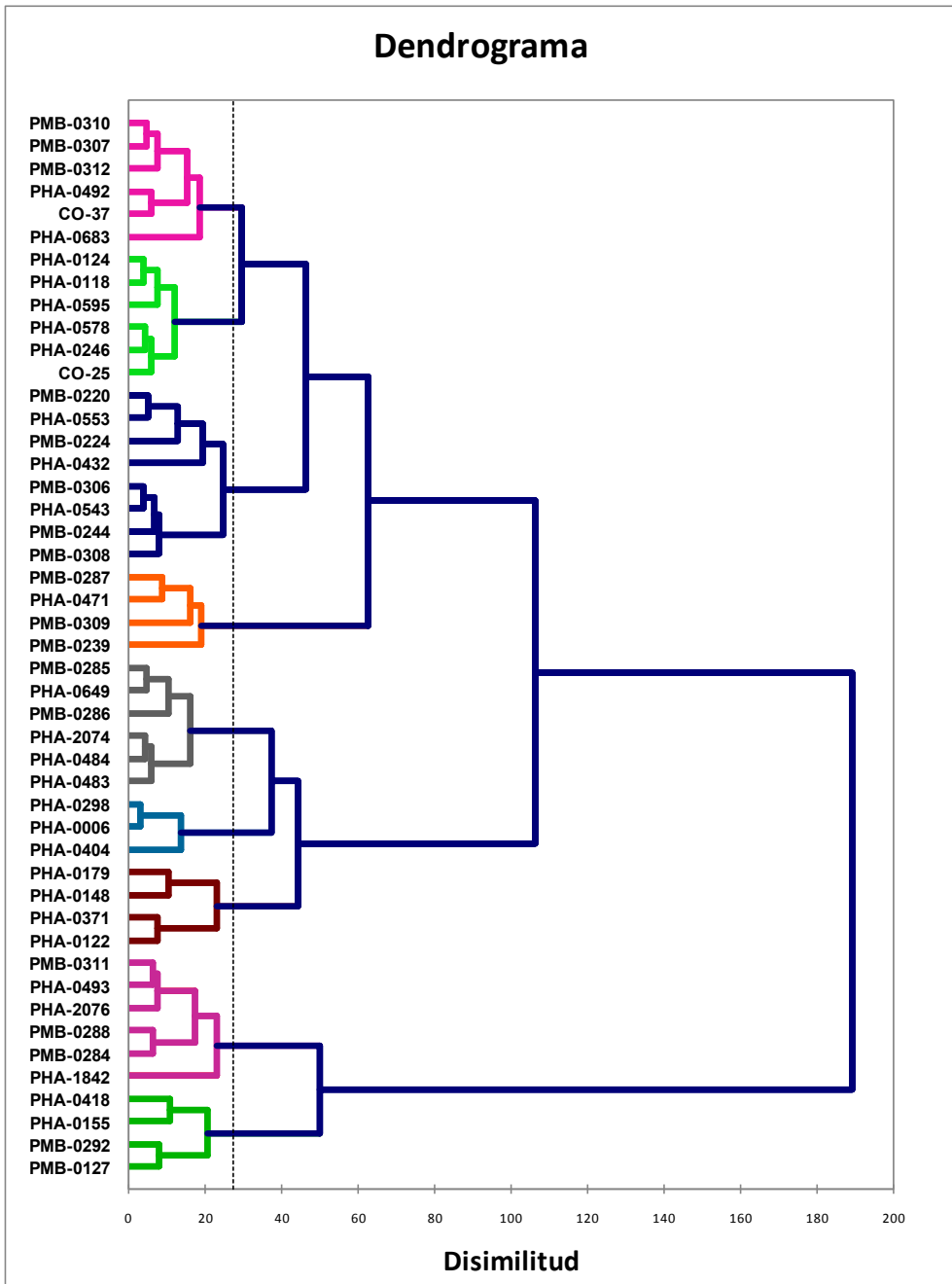


Figura 4.4: Dendrograma de las variedades agrupadas por disimilitud por distancias euclídeas. Relación de las variedades que pertenecen a cada clase.

4. Primer Experimento

Tabla 4.5: Valores medio de las distintas variables para cada clase.

	Clase 1	Clase 2	Clase 3	Clase 4	Clase 5	LSD
mdva	65	63	66	71	81	5
vasec	83	77	76	84	95	9
vapla	7,0	8,0	4,9	4,1	3,4	5,7
mC	32,3	25,6	33,5	33,8	32,4	7,2
Yreg	1325	1376	919	688	715	799
BT	2455	3455	947	1710	2645	1412
HI	0,62	0,46	1,04	0,51	0,39	0,57
colorp	2	4	2	3	2	0
colors	0	1	5	1	1	0
area	38,1	30,3	27,5	28,9	35,1	12,1
riflo	-1	0	1	0	-10	7
rmdva	-7	-3	-11	2	-17	20
rvasec	-4	-5	-13	5	-7	17
rdflo	0	0	-7	-1	9	10
rvapla	4,6	3,7	2,8	1,0	2,6	5,8
rseva	1,5	1,0	1,3	0,4	2,2	2,1
rmcse	13,6	19,3	10,1	20,5	78,9	7,3
rY	1025	839	718	357	615	746
Ysec	300	537	201	331	100	321
rBT	418	1887	-617	-75	1038	1230
rarea	12,8	7,8	4,8	1,8	9,3	11,7

mdva: días para la madurez de vaina; **vasec:** días primera vaina seca; **vapla:** número de vainas planta; **mC:** masa en gramos de cien semillas **Yreg:** producción grano regadío kg ha⁻¹; **BT:** producción biomasa kg ha⁻¹; **HI:** índice de cosecha; **colorp:** color principal semilla; **colors:** color secundario semilla; **area:** área foliar; **rinflo:** reducción en los días de inicio floración; **rmdva:** reducción días madurez vaina; **rvasec:** reducción días primera vaina seca; **rdflo:** reducción días floración; **rvapla:** reducción vainas por planta; **rseva:** reducción de semillas vaina; **rmC (%)**: porcentaje de reducción masa cien semillas; **rY:** reducción producción grano kg ha⁻¹; **Ysec:** producción en secano kg ha⁻¹; **rBT:** reducción producción biomasa; **rarea:** reducción área foliar.

Tabla 4.5 (Continuación).

	Clase 6	Clase 7	Clase 8	Clase 9	LSD
mdva	62	65	64	72	5
vasec	74	79	81	88	9
vapla	10,3	12,8	8,1	6,3	5,7
mC	30,3	19,6	21,3	23,6	7,2
Yreg	1799	2066	1283	750	799
BT	2329	4818	1610	1662	1412
HI	0,97	0,49	0,97	0,48	0,57
colorp	2	3	6	3	0
colors	1	0	1	2	0
area	33,7	35,3	27,9	26,1	12,1
riflo	1	1	0	-2	7
rmdva	2	-3	-7	-22	20
rvasec	2	-2	-5	-11	17
rdflo	4	-9	-3	-2	10
rvapla	6,2	8,8	3,9	5,2	5,8
rseva	0,9	2,0	1,2	2,7	2,1
rmcse	14,4	20,5	7,0	59,1	7,3
rY	1286	1578	801	618	746
Ysec	512	488	481	131	321
rBT	558	2733	-93	118	1230
rarea	5,9	8,3	4,1	3,6	11,7

mdva: días para la madurez de vaina; **vasec**: días primera vaina seca; **vapla**: número de vainas planta; **mC**: masa en gramos de cien semillas **Yreg**: producción grano regadío kg ha⁻¹; **BT**: producción biomasa kg ha⁻¹; **HI**: índice de cosecha; **colorp**: color principal semilla; **colors**: color secundario semilla; **area**: área foliar; **riflo**: reducción en los días de inicio floración; **rmdva**: reducción días madurez vaina; **rvasec**: reducción días primera vaina seca; **rdflo**: reducción días floración; **rvapla**: reducción vainas por planta; **rseva**: reducción de semillas vaina; **rmC (%)**: porcentaje de reducción masa cien semillas; **rY**: reducción producción grano kg ha⁻¹; **Ysec**: producción en secano kg ha⁻¹; **rBT**: reducción producción biomasa; **rarea**: reducción área foliar.

4. Primer Experimento

En contraposición, la superficie de hoja disminuye y también lo hace la producción de biomasa de forma considerable. El tamaño de la semilla se reduce casi un 20% y 3,7 vainas por planta. En consecuencia sufre una bajada en la producción de grano, que se atenúa debido a que el número de semillas por vaina se mantiene constante. En este grupo están las variedades con mayor producción de grano en condiciones de estrés hídrico. Este grupo es interesante ya que en los programas de selección para una mayor producción de semilla tiende a aumentar el HI hasta el punto de que la acumulación de biomasa durante el período de crecimiento se convierte en un factor limitante. Beebe et al. (2008) observó que las líneas seleccionadas para la tolerancia de estrés abiótico también posee altos HI e incrementa la producción de semilla en ambientes favorables. Wallace et al. (1993) recomienda que en la selección para el incremento de la producción de semilla se incluya la selección para la acumulación de biomasa, que permita un mayor incremento de la producción de semilla.

La **tercera** clase está compuesta por PHA-0006, PHA-0298 y PHA-0404. Son variedades de planta pequeña, con hojas de tamaño intermedio y de ciclo reproductivo corto. Las semillas de este grupo son grandes y claras con pintas rojas. En regadío producen pocas vainas por planta y por tanto la producción de grano es baja. A pesar de su baja productividad tiene un HI alto debido al pequeño tamaño de sus plantas. La respuesta fenológica ante el estrés hídrico consiste en adelantar el inicio de floración y alargar el período reproductivo. Sus parámetros productivos son estables, el tamaño de semilla, el número de vainas por planta y el número de semillas por vaina apenas se reducen en sequía. Pero a pesar de ello la producción de grano en condiciones de estrés hídrico es escasa.

La **cuarta** clase está formada por PHA-0122, PHA-0148, PHA-0179 y PHA-0371, son variedades con plantas pequeñas de hoja intermedia y de ciclo reproductivo largo. Las semillas de este grupo son muy grandes de color claro o rojo. En regadío producen pocas vainas por planta y por tanto la producción de grano es muy baja.

Debido a su escasa producción su HI es bajo. Sus parámetros fenológicos son estables ante el estrés hídrico. Sus parámetros productivos son estables, el número de vainas por planta y el número de semillas por vaina apenas se ven afectados por la sequía. Tampoco se aprecia modificación en el tamaño de la planta ni en la superficie del foliolo. A pesar todo lo anterior la producción de grano en condiciones de estrés hídrico es escasa.

La **quinta** clase está compuesta por PHA-0155, PHA-0418, PMB-0127 y PMB-0292, son variedades de planta grande, con hojas grandes y de ciclo reproductivo largo. Las semillas de este grupo son muy grandes y de color claro o rojo. En regadío producen pocas vainas por planta y por tanto la producción de grano es muy baja. Debido a su escasa producción y al gran porte de sus plantas su HI es muy bajo. La respuesta fenológica ante el estrés hídrico consiste en atrasar el inicio de floración y la fecha de la primera vaina seca, alargan al máximo su inicio de floración para favorecer el crecimiento vegetativo y la acumulación de fotoasimilados, que una vez florecido serán movilizados hacia las vainas. Algunos autores argumentan que esta estrategia fenológica supone un límite a la producción (Beebe et al., 2008). El número de vainas por planta apenas se ve afectado, pero la reducción de número semillas vaina y sobre todo la masa de la semillas es muy importante (79%). La producción de biomasa y la superficie foliar también experimenta una reducción importante. La producción de grano en condiciones de estrés hídrico es casi nula, por lo que se puede afirmar que estas variedades son muy sensibles al estrés hídrico.

La **sexta** clase es la más numerosa, está formada por: PHA-0432, PHA-0543, PHA-0553, PMB-0220, PMB-0224, PMB-0244, PMB-0306 y PMB-0308, variedades de plantas de porte intermedio con hojas grandes y de ciclo reproductivo corto. Las semillas de este grupo son grandes de color claro. En regadío producen muchas vainas por planta y por tanto la producción de grano es alta. Debido a su alta producción su HI esta cercano a la unidad. El inicio de floración, la madurez vaina y la primera vaina

4. Primer Experimento

seca se adelantan. Su ciclo se acorta en casi 4 días en términos generales. En sequía el parámetro productivos más afectado es el número de vainas por planta, que contrasta con la estabilidad en el número de semillas por vaina y tamaño de la semilla, que sólo sufre una reducción del 14%. Es importante la reducción en el tamaño de la planta y en la superficie del foliolo. A pesar sufrir una gran reducción en producción de grano, el rendimiento en condiciones de estrés hídrico son buenos.

La **séptima** clase está compuesta por PHA-0471, PMB-0239, PMB-0287 y PMB-0309 variedades de plantas muy grandes, con hojas grandes y de ciclo reproductivo intermedio. Las semillas de este grupo son pequeñas, de diversos colores. En regadío producen muchas vainas por planta y por tanto la producción de grano es de las más altas. A pesar de su alta productividad tiene un HI bajo debido al gran porte de sus plantas. Corresponden a variedades con un temprano y vigoroso crecimiento, con una importante biomasa al principio del proceso de llenado de las semillas, que permite esta movilización de fotoasimilados (Rosales-Serna et al., 2004, Acosta-Gallegos y Adams, 1991). Según Sambatti y Caylos (2007) estas serían las variedades a incluir en los planes de mejora para optimizar la producción de grano en ambientes con estrés hídrico. El inicio de floración no se ve afectado por el estrés hídrico, pero tanto la madurez de vaina como la primera vaina seca se atrasan, teniendo como resultado la dilatación del período reproductivo en 9 días. Tener un período corto de floración permite a la planta terminar su ciclo reproductivo sin que sufra los efectos negativos del estrés hídrico, pero siempre a costa de una menor producción de grano (Singh, 2007; Cattivelli et al., 2008; Al-Tawaha et al., 2010; Khan et al., 2010). Sus parámetros productivos se ven muy afectados por la sequía, el tamaño de semilla se reduce un 20%, el número de vainas por planta se reduce de forma importante y el número de semillas también se ve afectada. La producción de biomasa se ve reducida de forma muy significativa, y la superficie foliar también

decrece pero en menor medida. La reducción debida a la sequía es importante pero a pesar de ello la producción de grano en condiciones de estrés hídrico es alta.

La **octava** clase está formada por PHA-0483, PHA-0484, PHA-0649, PHA-2074, PMB-0285 y PMB-0286 son variedades de plantas pequeñas con hojas pequeñas y de ciclo reproductivo intermedio. Las semillas de este grupo son pequeñas de color oscuro (rojas, marrones y negras). En regadío la producción de vainas y de grano es intermedia. Debido a su baja producción de biomasa su HI está cercano a la unidad. El inicio de floración no se ve afectado por la sequía. La madurez de vaina y la primera vaina seca se atrasan. Su ciclo de floración se alarga en casi tres días en términos generales. En sequía tanto el número de vainas, como de semillas por planta, se ven muy afectados. Por el contrario el tamaño de la semilla apenas se modifica. La producción de biomasa así como el áreas de los foliolos no se ven afectados. A pesar de la reducción en producción de grano, los rendimientos en condiciones de estrés hídrico son buenos.

Y finalmente, la **novena** clase está compuesta por PHA-0493, PHA-1842, PHA-2076, PMB-0284, PMB-0288 y PMB-0311. Son variedades de planta pequeña, con hojas pequeñas y de ciclo reproductivo largo. Las semillas de este grupo son pequeñas, de diversos colores y presentan colores secundarios. En regadío producen pocas vainas por planta y por tanto la producción de grano es muy baja. A pesar del reducido del tamaño de sus plantas su HI es muy pequeño debido al escaso valor de producción de grano. La respuesta fenológica ante el estrés hídrico consiste en atrasar el inicio de floración, la madurez de vaina y la primera vaina seca. Su ciclo de floración se alarga casi 2 días. El número de vainas por planta disminuye, pero la mayor reducción se produce en el número de semillas por vaina y sobre todo en la masa de las semillas (59%). La producción de grano en condiciones de estrés hídrico es casi nula, por lo que se puede afirmar que estas variedades son muy sensibles al estrés hídrico.

4. Primer Experimento

Las variedades de las clases 2, 6, 7 y 8 son las que consiguen los mejores resultados a la hora de superar el estrés hídrico, en términos generales. Dentro de cada grupo existen variedades, que a pesar tener características comunes (tamaño planta, semilla, duración ciclo, etc.) y de compartir estrategias similares frente al estrés hídrico, no consiguen superar con éxito la sequía. En cambio, las variedades de las clases 5 y 9 son variedades con bajas producciones en regadío y con poca tolerancia a la sequía.

Un ejemplo de programa de mejora en judía para la tolerancia al estrés hídrico, donde las líneas recombinantes obtenidas tenían con peor adaptación al estrés hídrico que sus progenitores, fue el de Rosales-Serna et al. (2000). En este trabajo se utilizó como progenitores PMB-0288, PMB-0284 y AC1028. Mientras las combinaciones PMB-0288 y PMB-0284, se obtenían líneas recombinantes mejor adaptadas al estrés hídrico, las combinaciones de PMB-0288 con AC1028 fueron clasificadas como susceptibles. Schneider et al. (1997) ya había obtenido los mismos resultados con estas variedades, y comentaba que la susceptibilidad estas líneas recombinantes procedentes del cruce PMB-0288xAC1028 ponía de manifiesto la complejidad de caracteres cuantitativos, como la producción en condiciones de estrés hídrico y la posible existencia de epistasia.

En este apartado se ha puesto de manifiesto la existencia de distintas estrategias para enfrentarse al estrés hídrico. Las variedades PMB-0288 y PMB-0284 al pertenecer a misma clase (clase 9), es lógico suponer que utilizarán procesos fisiológicos similares, lo cual esta a favor de una cierta compatibilidad genética. Por lo que se puede concluir que para realizar un programa de mejora de basado en líneas recombinantes se debe comprobar previamente la compatibilidad de las estrategias de las variedades utilizadas como progenitores.

Phaseolus pluriflorus



**Segundo experimento:
Resultados y discusión**

5. Segundo experimento: Resultados y discusión.

5.1. Análisis de varianza:

En la **Tabla 5.1** se analiza el ajuste de varios modelos. Se comprueba que no siempre el modelo que asume mayor número de interacciones es el que tiene un mejor ajuste. El modelo con mejor ajuste consta de 10 genotipos (G), 10 cepas inoculadas (I), 2 tratamientos (T) regadío (sin estrés hídrico) y sequía (estrés hídrico), interacción genotipo tratamiento (G*T), interacción tratamiento-cepa inoculada (T*I), repetición anidada con interacción genotipo-tratamiento(R (G*T)), el error del modelo (error), donde Y es cualquiera de las variables estudiadas. Con este modelo todas las variables tienen un ajuste muy significativo.

$$Y = G + I + T + G*T + T*I + R (G*T) + \text{error}$$

En la **Tabla 5.2** se observa que entre los diferentes genotipos (G) existe diferencia significativa para todas las variables. El tratamiento (T) afecta también de forma muy significativa a todas las variables salvo la materia seca nodular (MSNod), para la que no son significativas las diferencias entre tratamientos. En la interacción entre genotipo y tratamiento (G*T), existen diferencias muy significativas en MSA y MSR. En número de nódulos hay diferencias significativas, pero de menor rango. Ebdon y Gauch (2002) y González et al. (2006), consideraron necesario incluir en el modelo la interacción genotipo-tratamiento (G*T) pues de lo contrario, la estimación de los valores de raíz y nódulos se vuelven menos predecibles, que si solo se calculan con las medias de los genotipos (G) y tratamiento (T). También, existe interacción entre genotipo (G) y cepa (I), para MSR ya que algunos genotipos al ser inoculados con determinadas cepas su MSR aumenta. Llama la atención que para las cepas utilizadas (I), interacción tratamiento-cepa (T*I) y interacción variedad-tratamiento-cepa (G*T*I) no existen diferencias significativas para las cuatro variables estudiadas.

5. Segundo Experimento

Tabla 5.1: Grado de significación de los distintos modelos analizados para las variables: materia seca aérea (**MSA**), materia seca radicular (**MSR**), número de nódulos (**nuNod**) y materia seca nodular (**MSNod**).

Modelo	MSA	MSR	nuNod	MSNod
	g	g		g
G I R(G)	***	***	***	*
G I T T* I R(G)	***	***	***	**
G I T G* T R(G)	***	***	***	**
G I T G* I R(G)	***	***	*	ns
G I T G* T T* I R(G)	***	***	***	**
G I T G* I T* I R(G)	***	***	*	ns
G I T G* I G* T R(G)	***	***	**	ns
G I T G* I G* T T* I R(G)	***	***	*	ns
G I T G* I G* T T* I G* T* I R(G)	***	***	ns	ns
G I T G* T T* I R(G* T)	***	***	***	**
G I T G* T T* I R(G* I)	***	***	ns	ns
G I T G* T T* I R(T* I)	***	***	***	**

G*I: Interacción Genotipo-cepa inoculada. G*T*I: Interacción genotipo-tratamiento-cepa. R(G): Repetición anidada con genotipo. R(G*I): repetición anidada con la interacción G*I. R(T*I): repetición anidada con la interacción T*I. *** P<0,0001; ** P<001; * P<0,01; ns: no significativo.

Si se analizan los datos de regadío de forma aislada el modelo con mejor ajuste es:

$$Y = G + I + R(G)$$

donde G es el genotipo, I es la cepa inoculada y R(G) es la repetición anidada con el genotipo. No existe interacción entre genotipo y cepa en el modelo, y si se incluye esta sale no significativa. En la **Tabla 5.3** aparecen el grado de significación de cada una de las fuentes de varianza de las cuatro variables estudiadas.

5. Segundo Experimento

Tabla 5.2: Variables analizadas con el grado de significación para cada una de las fuentes de varianza del modelo: materia seca aérea (**MSA**), materia seca radicular (**MSR**), número de nódulos (**nuNod**) y materia seca nodular (**MSNod**),.

Total	MSA	MSR	nuNod	MSNod
	g	g		g
G	***	***	**	**
I	ns	ns	ns	ns
T	***	***	**	ns
G*I	ns	*	ns	ns
G*T	***	***	*	ns
T*I	ns	ns	ns	ns
G*T*I	ns	ns	ns	ns
R(G*I)	ns	ns	ns	ns

G: Genotipo. I: cepa inoculada. T: tratamiento. G*I: interacción genotipo-cepa inoculada. G*T: interacción genotipo-tratamiento. T*I: interacción tratamiento-cepa inoculada. G*T*I: Interacción genotipo-tratamiento-cepa. R(G*I): repetición anidada con la interacción G*I. *** P<0,0001; ** P<001; * P<0,01; ns: no significativo.

Tabla 5.3: Variables analizadas en regadío con su nivel de significación para cada una de las fuentes de varianza del modelo elegido.

Regadío	MSA	MSR	nuNod	MSNod
	g	g		g
G	***	***	**	**
I	ns	ns	ns	ns
G*I	ns	*	ns	ns
R(G)	ns	ns	ns	ns

G: Genotipo. I: cepa inoculada. G*I: interacción genotipo-cepa inoculada. R(G): repetición anidada con genotipo. *** P<0,0001; ** P<001; * P<0,01; ns: no significativo.

5. Segundo Experimento

Entre los distintos genotipos (G) hay diferencias significativas en todas las variables. Entre cepas (I) no existen diferencias, a pesar de estar incluida en el modelo. Y solo existe interacción entre variedad-cepa (G*I) para la MSR aunque esta es de menor rango. En los trabajos de Laguerre et al. (2007) hay diferencias significativas entre cepas para todos los parámetros. En este ensayo se utilizaron 10 cultivares y 10 cepas en este ensayo, frente a los dos cultivares de guisantes y 42 cepas de *Rhizobium* del trabajo de Laguerre et al. (2007) en regadío, donde es lógico que la mayor fuente de varianza fuesen las cepas.

Para los datos de ambiente con estrés hídrico el modelo con mejor ajuste es:

$$Y = G + I + G*I + R$$

En la **Tabla 5.4** se puede apreciar el grado de significación de cada una de las fuentes de varianza del modelo para cada una de las variables. Entre genotipos los distintos genotipos (G) existen diferencias significativas en todas las variables, aunque la MSN es de menor rango. También son significativas las diferencias entre las distintas cepas (I) para todas las variables relacionadas con la parte radicular de la planta. En ambiente con estrés hídrico sí existe interacción entre cepa y variedad (G*I) en MSR y número de nódulos planta⁻¹. Esta interacción pone de relieve la especificidad de la unión planta-*Rhizobium* y de la existencia de cepas óptimas para cada variedad.

La no coincidencia en el modelo en ambos tratamientos puede ser debida al crecimiento desmesurado de algunos genotipos en regadío. La competencia por la luz puede influir de forma negativa a los genotipos de menor porte. La distribución de las parcelas es aleatoria y por tanto esta merma también se producirá de forma aleatoria. En consecuencia, esta competencia entre genotipos contribuirá al aumento de la varianza de error y consecuentemente será más difícil aplicar modelos complejos que

necesitan consumir mayor número de grados de libertad. Para solventar este problema habría que aumentar el número de repeticiones.

Tabla 5.4: Variables analizadas en ambiente con estrés hídrico con su nivel de significación de cada una de las fuentes de varianza del modelo elegido.

Sequía	MSA	MSR	nuNod	MSNod
	g	g		g
G	***	***	***	*
I	ns	***	***	**
G*I	*	***	**	ns
R(G)	ns	ns	ns	ns

G: Genotipo. I: cepa inoculada. G*I: interacción genotipo-cepa inoculada. R(G): repetición anidada con genotipo. *** P<0,0001; ** P<001; * P<0,01; ns: no significativo.

En trabajos previos ha quedado constancia de la especificidad en la unión cepa-variedad y como cepas que incrementan la productividad de determinados genotipos, no tienen el mismo efecto en otros (Kessel y Hartley, 2000; Rengel, 2002; Martinez-Romero, 2003; Hungria et al., 2006; Rodiño et al., 2011). Debido a esta especificidad se realiza el presente análisis donde se toma como variable principal la comunidad cepa- variedad (GI).

$$X = GI + T + GI*T + R + Error$$

donde GI: variable genotipo-inóculo ó cepa-variedad. T: tratamiento. GI*T: interacción entre variable cepa-variedad y tratamiento. R: repetición. Este modelo explica perfectamente el comportamiento de las distintas combinaciones cepa-variedad en los dos ambientes ensayados (**Tabla 5.5**).

5. Segundo Experimento

Tabla 5.5: Modelo con genotipo-cepa: variables analizadas con su grado de significación de cada una de las fuentes de varianza

Total	MSA	MSR	nuNod	MSNod
	g	g		g
Modelo	***	***	***	***
GI	***	***	***	***
T	***	***	***	ns
GI*T	***	***	***	***
R(GI)	ns	ns	ns	ns

GI: Genotipo-cepa. T: tratamiento. GI*T: Interacción genotipo-cepa y tratamiento. R(GI): repetición anidada con genotipo-cepa. *** P<0,0001; ** P<001; * P<0,01; ns: no significativo.

5.2. Análisis de medias:

Las variedades con mayor producción media de materia seca aérea (MSA) en regadío fueron las PHA-0155, PMB-0222 y PHA-0483 (Tabla 5.6). Dentro de cada variedad los valores de producción de MSA varían de forma importante entre las distintas cepas utilizadas, hecho también observado en el trabajo de Rodiño et al. (2011) donde aparecían grandes diferencia en el desarrollo de la planta dependiendo de la cepa de *Rhizobium* inoculada. La cepa con mayor producción media de MSA en regadío es APAFI, pero esta cepa no obtiene una producción máxima de MSA para todas las variedades. Por ejemplo, en el ensayo de regadío las variedades PHA-0483 y PMB-0285 alcanzan su mayor producción con la cepa CFN42 y PMB-0220 con la cepa EXIC. Por lo tanto, para cada variedad existirá una cepa en la que su producción es óptima. Esta gran especificidad en la unión cepa-variedad, hace necesario que en los planes de mejora genética, de forma paralela, haya que encontrar la cepa que optimice la producción de la variedad mejorada (Kessel y Hartley, 2000; Rengel, 2002; Martinez-Romero, 2003; Hungria et al., 2006; Rodiño et al., 2011).

5. Segundo Experimento

Tabla 5.6. Medias de la materia seca aérea (MSA) (g planta⁻¹) de las variedades y cepas, en la parcela de regadío. En cada tabla aparece la menor diferencia significativa (LSD) para las variedades y las cepas.

MSA (g planta ⁻¹) Regadío	Cepa					Ȳ
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	
PHA-0155	25,44	15,23	17,33	20,76	18,46	18,91
PHA-0432	10,15	8,71	6,41	8,47	5,13	8,33
PHA-0471	8,45	9,85	7,96	8,95	3,57	8,63
PHA-0483	18,10	17,23	21,30	20,19	12,78	15,55
PHA-0683	17,46	14,04	9,74	14,31	8,81	12,31
PMB-0220	3,07	8,22	8,29	11,73	7,29	7,65
PMB-0222	11,43	17,61	15,98	14,85	27,04	18,63
PMB-0244	14,16	6,87	8,35	9,07	13,33	10,01
PMB-0285	14,83	13,61	19,42	10,42	13,56	13,51
PMB-0286	6,93	13,61	9,29	11,98	10,58	11,60
Ȳ	13,00	12,50	12,41	13,07	12,05	12,51

MSA (g planta ⁻¹) Regadío	Cepa					Ȳ
	EG	EF	EPOB	APAFI	LTMF	
PHA-0155	12,06	13,93	17,77	19,96	28,16	18,91
PHA-0432	9,28	6,03	10,68	9,94	8,55	8,33
PHA-0471	4,19	9,53	8,48	13,33	11,97	8,63
PHA-0483	13,62	14,05	9,76	19,00	9,51	15,55
PHA-0683	9,72	10,46	10,23	14,04	14,32	12,31
PMB-0220	5,44	6,85	8,73	8,64	8,28	7,65
PMB-0222	15,16	14,13	28,19	21,87	20,02	18,63
PMB-0244	12,78	8,95	9,19	10,43	6,96	10,01
PMB-0285	12,92	10,96	14,09	14,29	10,98	13,51
PMB-0286	17,13	8,81	12,75	13,22	11,71	11,60
Ȳ	11,23	10,37	12,99	14,47	13,04	12,51

LSD var=4,10

LSD cepa=4,30

α=0,05

5. Segundo Experimento

Los valores de MSR son similares a trabajos anteriores (Rodiño et al., 2011), con un rango de 0,26 g planta⁻¹ a 4,24 g planta⁻¹ (**Tabla 5.7**). Las variedades con mayor biomasa radicular en regadío son PMB-0285 y PMB-0286, con una MSR de 1,86 g planta⁻¹ y 1,74 g planta⁻¹, respectivamente. Estas variedades corresponden a plantas con raíces superficiales y con muchas raíces adventicias. Dorcinvil et al. (2010) las relaciona con plantas con una mejor eficacia en la adsorción de nutrientes como el fósforo. Las cepas con mayor MSR media son EPOB y EXIC, aunque estas cepas no obtienen los máximos valores para todas las variedades. Los valores de la cepa EPOB son los más altos para cuatro de las 10 variedades, mientras que en el valor medio EXIC está muy influenciado por el valor de extremo de crecimiento, de PMB-0286 cuando se inocula con esta cepa (**Figura 5.1**)

Tabla 5.7. Medias de la materia seca radicular (**MSR**) (g planta⁻¹) de las variedades y cepas, en la parcela de regadío. En cada tabla aparece la menor diferencia significativa (LSD) para las variedades y las cepas.

MSR (g planta ⁻¹) Regadío	Cepa					ȳ
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	
PHA-0155	0,98	0,92	0,68	0,88	0,58	0,75
PHA-0432	0,56	1,11	0,48	0,50	0,40	0,59
PHA-0471	0,62	0,94	0,60	0,48	0,30	0,92
PHA-0483	0,59	0,47	0,58	0,79	0,37	0,53
PHA-0683	0,98	0,88	0,73	0,90	0,59	0,73
PMB-0220	0,30	0,70	0,83	1,03	0,79	0,77
PMB-0222	0,43	0,56	1,26	0,54	0,82	0,79
PMB-0244	0,66	0,29	0,38	0,36	0,86	0,47
PMB-0285	2,07	1,06	2,25	1,26	2,29	1,86
PMB-0286	0,75	2,09	1,07	4,24	1,10	1,74
ȳ	0,79	0,90	0,89	1,10	0,81	0,91

LSD var=0,43

LSD cepa=0,45

α=0,05

Tabla 5.7. Continuación.

MSR (g planta ⁻¹) Regadío	Cepa					\bar{Y}
	EG	EF	EPOB	APAFI	LTMF	
PHA-0155	0,50	0,54	0,66	0,68	1,09	0,75
PHA-0432	0,71	0,44	0,55	0,55	0,63	0,59
PHA-0471	0,26	1,54	1,24	1,41	1,85	0,92
PHA-0483	0,64	0,71	0,30	0,60	0,26	0,53
PHA-0683	0,64	0,66	0,53	0,71	0,69	0,73
PMB-0220	0,69	0,52	1,65	0,64	0,54	0,77
PMB-0222	0,55	0,47	1,83	0,87	0,57	0,79
PMB-0244	0,50	0,41	0,50	0,43	0,31	0,47
PMB-0285	2,16	2,06	2,07	2,11	1,26	1,86
PMB-0286	2,60	0,99	1,79	1,29	1,53	1,74
\bar{Y}	0,92	0,83	1,11	0,93	0,87	0,91
LSD var=0,43	LSD cepa=0,45		$\alpha=0,05$			



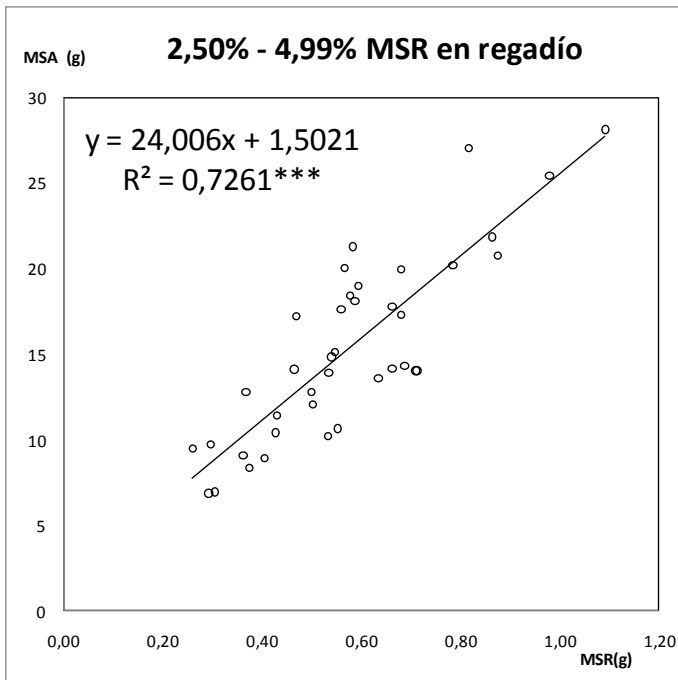
Figura 5.1. Sistema radicular de la variedad PMB-0286 en plantas en regadío. La planta inoculada con la cepa EXIC presenta un crecimiento excesivo, como se observa en la fotografía de la izquierda. La fotografía de la derecha muestra un sistema radicular con crecimiento normal, de la misma variedad inoculado con la cepa EF.

5. Segundo Experimento

La raíz en judía supone un 7% de la MS total de la planta, valor similar al del trigo y altramuz con un 10% (Hamblin et al., 1990), pero pequeño si se lo compara con el 30-34 % del garbanzo (Khan et al., 2010). El porcentaje que supone la MSR con respecto a total de la biomasa de la planta, varió entre variedades y también dentro de la misma variedad, debido a la existencia de la interacción inóculo-genotipo, mencionada en el apartado anterior. Las combinaciones variedad-cepa se pueden agrupar en tres grupos según el porcentaje de MSR respecto al total de MS de la planta: las que la MSR supone un porcentaje pequeño de la planta (2,5-4,99%), las que tienen un porcentaje intermedio (5,00-9,99 %) y las que tienen un porcentaje alto (10,00-16,00%). Esta división agrupa a las combinaciones variedad-inóculo en tres grupos homogéneos en los que la MSA y la MSR están correlacionados de una forma lineal. En la primera gráfica de la **Figura 5.2.** están representados 44 combinaciones variedad-cepa que tiene un porcentaje de MSR bajo (2,50-4,99%) y corresponden a variedades una alta MSA (PHA-0155 y PHA-0483) o variedades con MSR muy baja (PMB-0224). En la segunda gráfica están representadas 38 combinaciones con porcentajes de MSR intermedios (5-9,99%). Y en la tercera gráfica se representarían combinaciones con porcentajes de MSR altos (10-16%) que corresponden a variedades de MSA intermedia y MSR alta como PMB-0285 (7 combinaciones) y PMB-0286 (4 combinaciones), variedades seleccionadas con un buen sistema radicular adaptadas a suelos con déficit de fósforo (Frahm et al., 2003). EPOB (4 combinaciones) y EG (3 combinaciones) serían las cepas que inducen un mayor crecimiento radicular.

Normalmente las raíces suponen un sumidero de carbono para la planta (Hamblin et al., 1990, Schultze y Kondorosi, 1998) y en la medida en que el porcentaje MSR aumenta, el crecimiento de la parte aérea de planta se ve comprometido. En la primera y segunda gráfica los valores máximos de MSA rondan los 28 g, mientras que en la tercera gráfica, cuando el porcentaje de MSR es superior al 10%, el valor

A



B

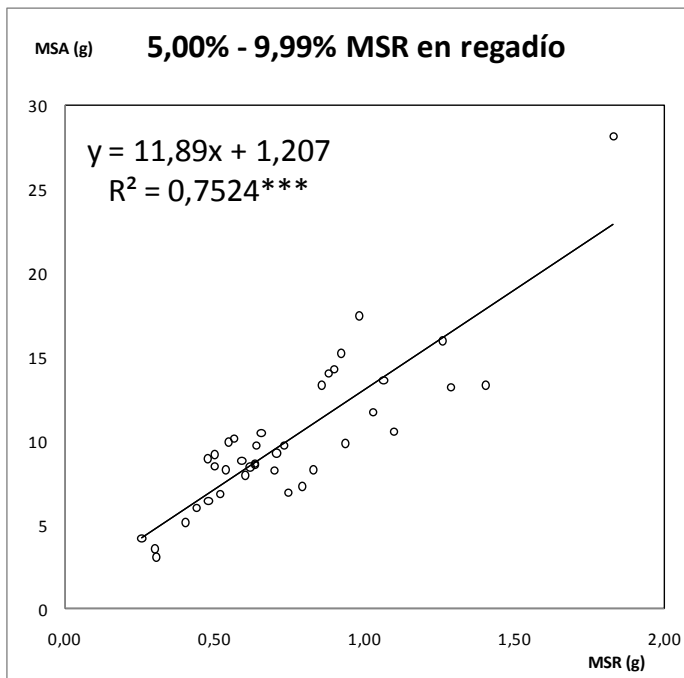


Figura 5.2. MSR frente a MSA para plantas A)entre 2,5 y 4,99% de MSR, B)entre 5,00 y 9,99% de MSR y C) entre 11 y 16% de MSR. *** $P < 0,0001$.

5. Segundo Experimento

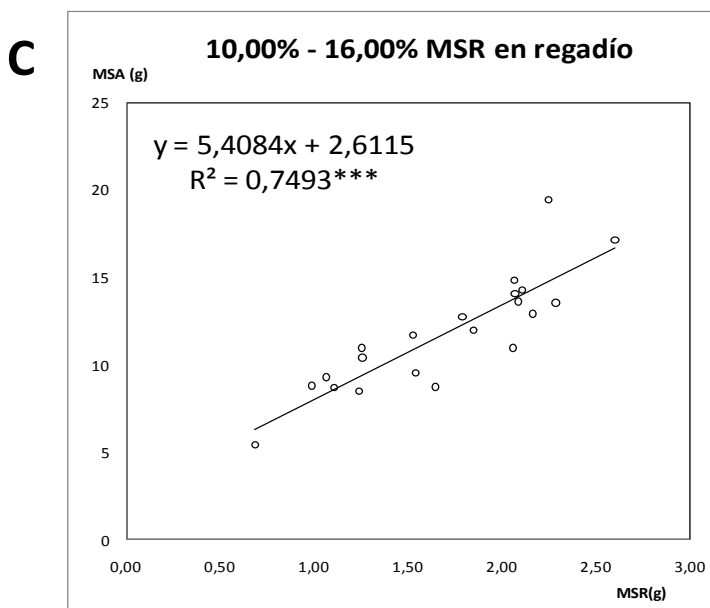


Figura 5.2. (Continuación).

máximo de MSA alcanzado es 17 g. Sin embargo, las variedades con gran sistema radicular, a pesar de penalizar la producción suponen una garantía a la hora de superar un eventual estrés hídrico (Hamblin et al., 1990).

En la **Tabla 5.8** se muestra el número de nódulos planta⁻¹ en regadío. La formación de nódulos es un proceso controlado por la planta de manera que la formación de los nuevos nódulos en los tejidos de las raíces más jóvenes está inhibida por los nódulos existentes a través de señales del N sistémico (Duc y Messenger 1989; Sagan y Duc 1996; Oka-Kira y Kawaguchi 2006; Bourion et al., 2007; Rodiño et al., 2011). Existe una correulación entre masa nodular y número de nódulos a nivel de planta, que concuerda con la localización por Bourion et al. (2010) de QTLs para número de nódulos y masa nódulos.

El número de nódulos planta⁻¹ es un parámetro con mucha variabilidad dentro de cada parcela elemental, su diferencia menos significativa (LSD) es de 133 nódulos, valores altos pero similares a los obtenidos por Mostasso et al. (2002).

5. Segundo Experimento

Tabla 5.8. Medias del número de nódulos (**nuNod**) por planta de las variedades y cepas, en la parcela de regadío. En cada tabla aparece la menor diferencia significativa (LSD) para las variedades y las cepas.

nuNod	Cepa					ȳ	
	Regadío	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC		EXIB
PHA-0155		17,75	13,00	21,75	25,00	12,25	16,65
PHA-0432		34,25	37,75	7,25	19,25	0,75	21,85
PHA-0471		23,75	56,00	34,75	28,50	17,50	90,00
PHA-0483		63,00	37,25	49,75	109,50	3,75	42,85
PHA-0683		42,25	64,75	25,25	47,50	25,00	34,98
PMB-0220		2,50	12,25	30,75	27,25	4,75	13,23
PMB-0222		5,75	21,25	409,25	5,00	38,50	62,03
PMB-0244		21,25	9,75	7,00	15,75	234,88	36,74
PMB-0285		97,75	69,00	369,75	67,25	1097,75	241,63
PMB-0286		22,00	132,00	173,25	206,50	38,50	139,98
ȳ		33,03	45,30	112,88	55,15	147,36	69,99

nuNod	Cepa					ȳ	
	Regadío	EG	EF	EPOB	APAFI		LTMF
PHA-0155		0,75	26,25	11,00	19,75	19,00	16,65
PHA-0432		27,75	15,25	26,50	29,25	20,50	21,85
PHA-0471		12,00	52,50	86,00	64,50	524,50	90,00
PHA-0483		37,50	79,75	7,25	35,25	5,50	42,85
PHA-0683		33,25	32,25	23,50	48,25	7,75	34,98
PMB-0220		7,00	13,75	27,25	2,50	4,25	13,23
PMB-0222		6,00	12,75	77,50	37,00	7,25	62,03
PMB-0244		9,50	25,25	16,25	17,50	10,25	36,74
PMB-0285		260,00	286,00	97,25	48,25	23,25	241,63
PMB-0286		373,75	27,25	67,75	89,25	269,50	139,98
ȳ		76,75	57,10	44,03	39,15	89,18	69,99

LSD var=133,73 LSD cepa=140,26 $\alpha=0,05$

5. Segundo Experimento

Una posible explicación a esta variabilidad la ha dado Boiron et al. (2007) en guisante, donde observó que la masa nodular varía según la fase de desarrollo en la que se encuentra la planta, donde existe una primera fase de crecimiento hasta llegar a un pico a partir del cual la masa nodular empieza a decrecer. Como existe una diferencia entre los ciclos de las plantas, a la hora de recolectar las plantas es difícil hacer coincidir la recolección con la misma fase de crecimiento nodular y por tanto esto puede generar variabilidad en los datos.

En regadío las variedades con mayor nodulación son PMB-0285 y PMB-0286, con un número medio de nódulos planta⁻¹ de 242 y 140 respectivamente. Al ser genotipos con gran biomasa radicular, se podía interpretar que este mayor sistema radicular es la causa del mayor número de nódulos. Si se calcula el número de nódulos por gramo de materia seca radicular (MSR) de las variedades PMB-0286 y PMB-0285 siguen siendo las variedades con mayor número de nódulos por gramo de materia seca radicular. En concreto PMB-0285 tiene 116 nódulos g⁻¹ MSR y PMB-0286 tiene 79 nódulos g⁻¹ MSR. En regadío, existen combinaciones variedad-cepa que presentan un número increíblemente alto de nódulos que a veces multiplican por seis los valores medios de la variedad. Por ejemplo, la combinación de EXIB con la variedad PMB-0285 tiene de promedio 1098 nódulos planta⁻¹, y la media de todas las cepas con esta variedad es de 242 nódulos. La existencia de dos repeticiones con valores similares, descarta la hipótesis de una mutación de la planta que bloquee el mecanismo de autolimitación del crecimiento nodular (Boiron et al., 2007), por lo cual esta excesiva nodulación habrá que atribuirle a una interacción de esta cepa con la variedad PMB-0285.

En la **Tabla 5.9** se muestran los valores de materia seca nodular (**MSNod**). Esta tiene un valor medio en regadío de 43,18 mg planta⁻¹. Las variedades con mayor MSNod son PMB-0285 y PMB-0286, con 183 y 81,86 mg planta⁻¹, respectivamente. La cepa EXIB destaca con una MSNod de 109,50 mg planta⁻¹, debido principalmente a

5. Segundo Experimento

Tabla 5.9. Medias de la materia seca nodular (**MSNod**) (mg planta^{-1}) de las variedades y cepas, en la parcela de regadío. En cada tabla aparece la menor diferencia significativa (LSD) para las variedades y las cepas.

MSNod (mg planta^{-1})	Cepa					\bar{Y}	
	Regadío	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC		EXIB
PHA-0155		9,48	1,57	12,96	18,33	2,81	8,89
PHA-0432		21,37	6,85	0,92	1,94	0,00	6,01
PHA-0471		24,00	16,41	11,66	6,75	15,14	33,71
PHA-0483		14,18	8,14	13,08	29,60	0,51	15,92
PHA-0683		20,95	123,93	6,25	10,74	14,92	25,97
PMB-0220		0,96	2,28	10,25	17,05	4,09	7,32
PMB-0222		4,84	8,91	154,74	2,65	40,79	57,32
PMB-0244		9,29	2,49	3,20	7,60	64,01	11,76
PMB-0285		64,51	23,38	124,27	41,73	937,78	183,01
PMB-0286		3,93	77,81	97,51	203,75	14,97	81,86
\bar{Y}		17,35	27,18	43,48	34,01	109,50	43,18

MSNod (mg planta^{-1})	Cepa					\bar{Y}	
	Regadío	EG	EF	EPOB	APAFI		LTMF
PHA-0155		0,00	14,57	4,54	10,02	14,66	8,89
PHA-0432		4,11	1,16	5,26	4,84	13,69	6,01
PHA-0471		5,03	10,03	46,23	24,39	177,44	33,71
PHA-0483		6,01	61,76	0,50	23,99	1,41	15,92
PHA-0683		9,97	12,57	7,71	49,01	3,67	25,97
PMB-0220		0,00	7,70	29,33	0,59	0,97	7,32
PMB-0222		2,41	35,31	301,83	21,15	0,57	57,32
PMB-0244		6,47	13,13	4,49	3,80	3,08	11,76
PMB-0285		132,55	326,10	53,60	92,22	34,00	183,01
PMB-0286		213,88	4,47	41,42	33,90	126,99	81,86
\bar{Y}		38,04	48,68	49,49	26,39	37,65	43,18

LSD var=63,71

LSD cepa=65,91

$\alpha=0,05$

5. Segundo Experimento

crecimiento desproporcionado de la variedad PMB-0285 que llega a 937,78 mg de MSNod. El porcentaje medio que supone MSNod respecto al total de la materia seca radicular se encuentra entre 0 al 29%, inferior al rango de 7,9 al 65% obtenido por Rodiño et al. (2011). Existe una relación significativa ($P < 0,0001$) entre MSR y MSNod, que se ajusta al 85% de las combinaciones variedad-cepa del ensayo. Esta relación lineal se puede observar en la recta de regresión de la **Figura 5.3**. Este comportamiento lineal puede responder a que una mayor MSR supone una mayor superficie (pelos absorbentes) que puede ser infectada por *Rhizobium* que

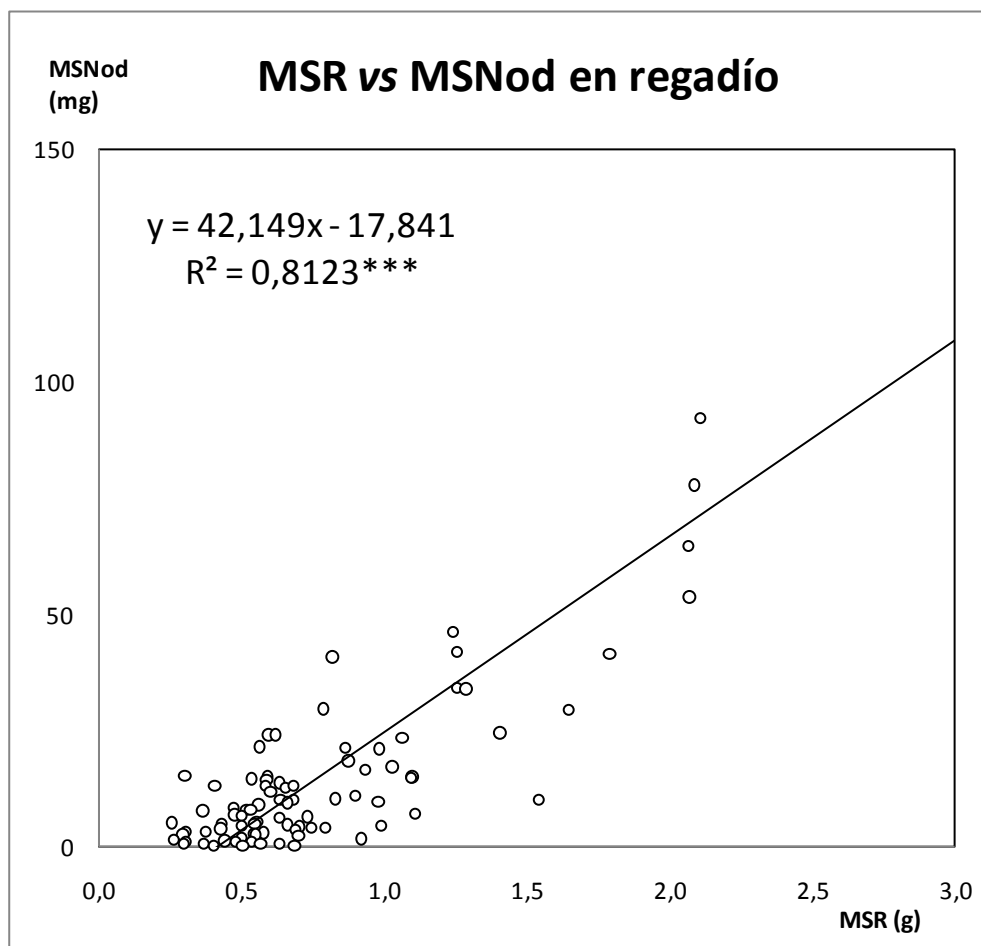


Figura 5.3. MSR en g vs MSNod en mg en regadío. *** $P < 0,0001$.

generará una mayor cantidad de nódulos. Las combinaciones variedad-cepa que no se ajustan a este comportamiento lineal son aquellas en las que la MSNod supone más del 5% de la materia seca radicular. Este mayor porcentaje de la MSNod en el conjunto de la biomasa subterránea puede ser debida a una sobrenodulación. En el caso de PMB-0285 y PMB-0286, que forman parte de la mitad de las combinaciones excluidas, su masa nodular se encuentra muy localizada en la zona del cuello pero los grandes desarrollos radiculares de estas variedades hacen que sea difícil su total extracción. Posiblemente una extracción parcial del sistema radicular, sea la causa del mayor porcentaje de MSNod encontrada en estas combinaciones.

Los rendimientos de la masa nodular varían en función del genotipo, la cepa inoculada y del ambiente (Jebara y Drevon, 2001; Hungría et al., 2006; Voisin et al., 2010; Rodiño et al., 2011) y por tanto sería lógico estudiar los resultados obtenidos por tramos de rendimientos. En la **Figura 5.4.** se puede observar que en la medida que la MSNod aumenta, el rendimiento o la cantidad de MSA por mg de MSNod decrece. También se representan los valores obtenidos agrupados por rendimiento. El primer grupo correspondería a combinaciones variedad-cepa con rendimiento entre 0,01 y 0,49 g MSA/mg MSNod. Corresponden a plantas con grandes nodulaciones donde la producción de MSA no guarda ninguna correlación con MSNod. En este grupo para algunas plantas los nódulos suponen un sumidero de carbono (Galvez et al., 2005; Boirion et al., 2007; Araya et al., 2010). El segundo y tercer grupo lo forman aquellas combinaciones que tienen unos rendimientos de 0,50 a 0,99 g MSA/mg MSNod y de 1,00 a 1,99 g MSA/mg MSNod, respectivamente, donde la que la relación es significativa ($P < 0,0001$). En la **Figura 5.5** se puede observar que en estos grupos MSNod y MSA están correlacionados de forma lineal aunque la pendiente del grupo 3 es superior. En el grupo cuarto no existe correlación entre MSA y MSNod. Está formado por plantas con muy baja nodulación, pero a pesar de ello este grupo obtiene los mejores rendimientos. En la disolución nutritiva se aportó una cantidad

5. Segundo Experimento

mínima de N, que ha permitido sobrevivir a las plantas que no han nodulado, y por tanto la MSA de este grupo es más consecuencia de este aporte de N que de la MSNod.

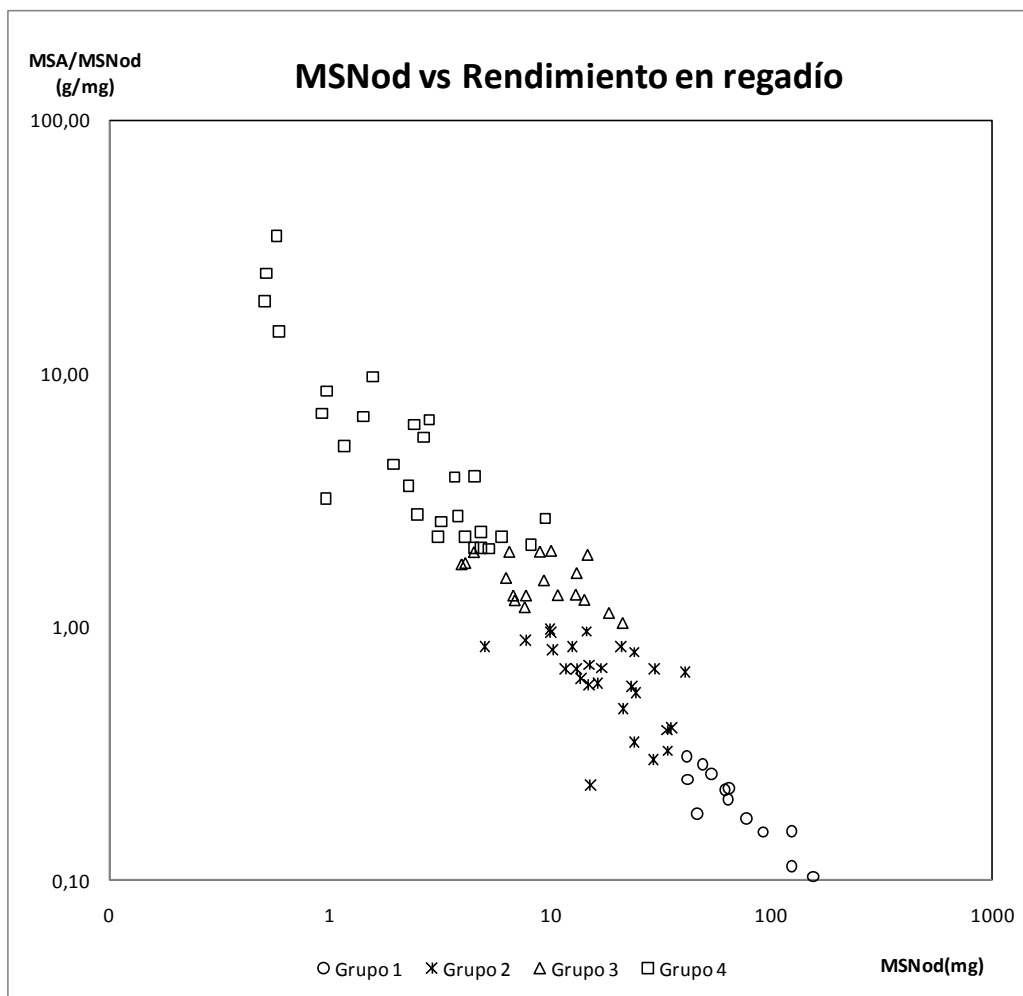


Figura 5.4. Gráfica de MSNod vs rendimiento de MSA/MSNod en escala logarítmica. Grupo 1 corresponde a las rendimientos 0–0,49 g mg⁻¹. Grupo 2 corresponde a las rendimientos 0,50–0,99 g mg⁻¹. Grupo 3 corresponde a las rendimientos 1,00–1,99 g mg⁻¹. Grupo 4 corresponde a las rendimientos 2,00–35,00 g mg⁻¹.

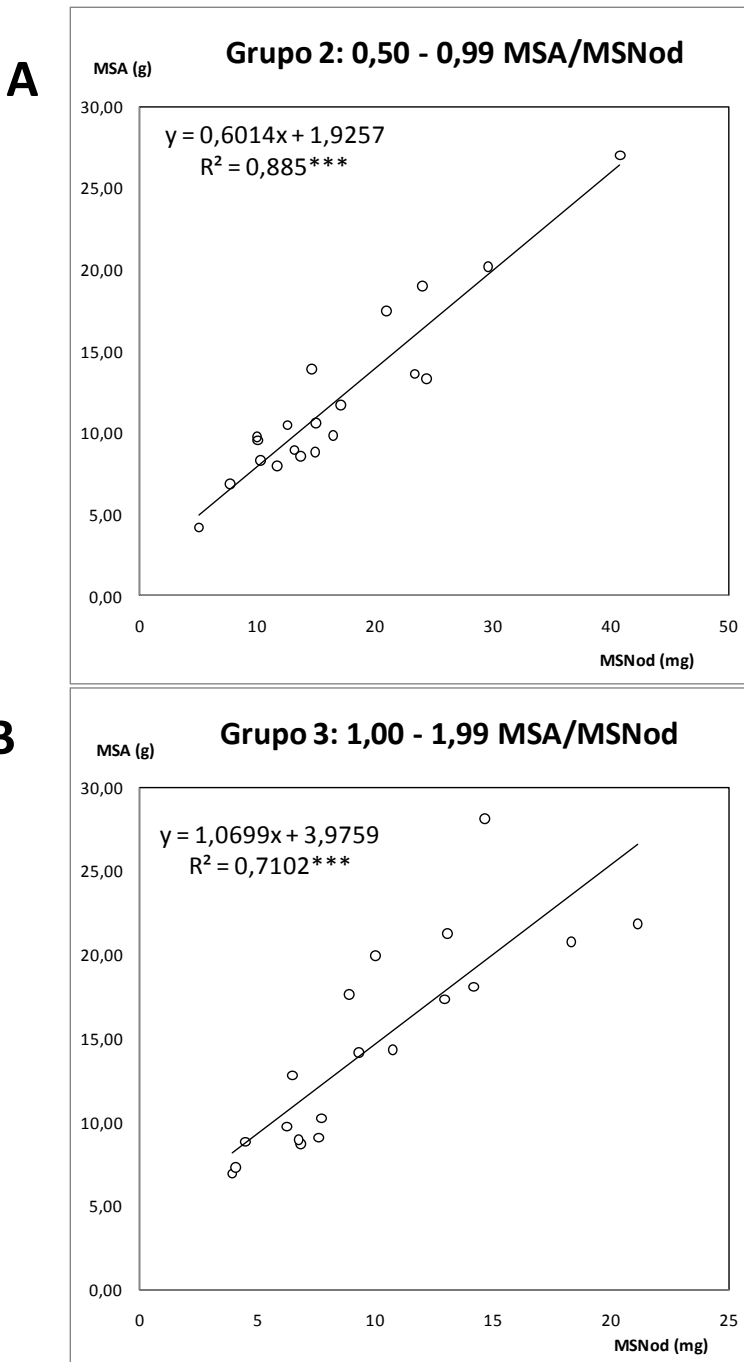


Figura 5.5. MSNod vs MSA: A) Grupo 2 corresponde a las rendimientos 0,5 – 0,99 g mg⁻¹. B) Grupo 3 corresponde a las rendimientos 1,00 – 1,99 g mg⁻¹. *** P<0,0001.

5. Segundo Experimento

En la **Tabla 5.10** se observa los valores de la materia seca nodular media (**MSNodM**) mg nódulo⁻¹. El rango observado de la MSNodM se encuentra entre 0,07 y 3,89 mg, similar al observado por Rodiño et al. (2011). En regadío las variedades con valores medios más altos de MSNodM son las PMB-0222 y PMB-0285 con 1,09 mg y 0,84 mg, y para las cepas EPOB y EF con 0,80 mg y 0,71 mg, respectivamente. En regadío las combinaciones con nódulos más grandes son PMB-0222 con EPOB y EF con una masa promedio de 2,77 y 3,89 mg, respectivamente.

En regadío, las plantas mostraban de media nódulos de calibres muy pequeños, el 90% de las plantas tenían un valor de MSNodM inferior a 1,00 mg. (**Figura 5.6.**)

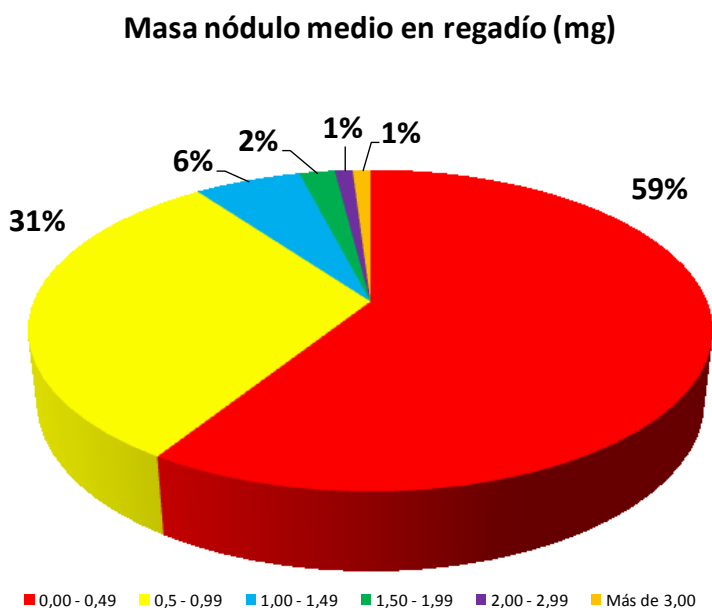


Figura 5.6: Frecuencias de la masa media nódulo por planta para regadío.

Tabla 5.10. Medias de la materia seca nodular media (**MSNodM**) ($\text{mg n\u00f3dulo}^{-1}$) de las variedades y cepas, en la parcela de regad\u00edo.

MSNodM ($\text{mg n\u00f3dulo}^{-1}$)	Cepa					\bar{Y}
	Regad\u00edo	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	
PHA-0155	0,53	0,12	0,60	0,73	0,23	0,45
PHA-0432	0,62	0,18	0,13	0,10	0,01	0,23
PHA-0471	1,01	0,29	0,34	0,24	0,87	0,46
PHA-0483	0,23	0,22	0,26	0,27	0,14	0,31
PHA-0683	0,50	1,91	0,25	0,23	0,60	0,60
PMB-0220	0,38	0,19	0,33	0,63	0,86	0,45
PMB-0222	0,84	0,42	0,38	0,53	1,06	1,09
PMB-0244	0,44	0,25	0,46	0,48	0,27	0,39
PMB-0285	0,66	0,34	0,34	0,62	0,85	0,84
PMB-0286	0,18	0,59	0,56	0,99	0,39	0,49
\bar{Y}	0,54	0,45	0,36	0,48	0,53	0,53

MSNodM ($\text{mg n\u00f3dulo}^{-1}$)	Cepa					\bar{Y}
	Regad\u00edo	EG	EF	EPOB	APAFI	
PHA-0155	0,01	0,56	0,41	0,51	0,77	0,45
PHA-0432	0,15	0,08	0,20	0,17	0,67	0,23
PHA-0471	0,42	0,19	0,54	0,38	0,34	0,46
PHA-0483	0,16	0,77	0,07	0,68	0,26	0,31
PHA-0683	0,30	0,39	0,33	1,02	0,47	0,60
PMB-0220	0,01	0,56	1,08	0,24	0,23	0,45
PMB-0222	0,40	2,77	3,89	0,57	0,08	1,09
PMB-0244	0,68	0,52	0,28	0,22	0,30	0,39
PMB-0285	0,51	1,14	0,55	1,91	1,46	0,84
PMB-0286	0,57	0,16	0,61	0,38	0,47	0,49
\bar{Y}	0,32	0,71	0,80	0,61	0,50	0,53

5. Segundo Experimento

Ante un estrés hídrico la planta tiende a cerrar sus estomas para reducir la transpiración, lo que limita el intercambio gaseoso, y por tanto la producción de carbohidratos cesa. Esta cese de producción de carbohidratos afecta de forma directa a la biomasa total, pero también lo hace de forma indirecta limitando la fijación de nitrógeno (Lodeiro et al., 2000; Jiménez et al., 2004; Muñoz-Perea et al., 2006; Sinclair et al., 2007; Naya et al., 2007). Debido a la fuerte relación C/N que existen en los nódulos, cuando el flujo de carbono hacia la raíz cesa también lo hace la fijación de nitrógeno (Gálvez et al., 2005), lo que implicaría una reducción de la concentración de N en las hojas, provocando una acumulación de carbohidratos en las hojas y una reducción de proteínas fotosintéticas, incluida la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (RuBisCO), lo que provoca la senescencia de las hojas (Araya et al., 2010) y una reducción de la MSA.

El estrés hídrico en este experimento supone una reducción media del 32,6% en MSA. Las variedades de mayor producción media de MSA por planta fueron PHA-0155, PHA-0471 y PMB-0220 en condiciones de estrés hídrico (**Tabla 5.11**). Esta última variedad en otros trabajos tuvo una producción de 27,13 g de MS planta⁻¹, superior a los 20,91 g de MS planta⁻¹ obtenidos en el presente ensayo (Muñoz-Perea et al., 2006). La variedad PHA-0155 tiene la mayor MSA en condiciones de estrés hídrico, lo cual no indica una tolerancia ante este estrés, sino que es una planta de gran tamaño y a pesar de sufrir una reducción del 48,3%, sigue teniendo una producción MSA superior al resto. Las variedades que se pueden considerar tolerantes a la sequía son PHA-0471 y PMB-0220 ya que producen en torno a un 15% más de MSA en ambiente con estrés hídrico.

Rhizobium es bastante sensible tanto a la fertilidad del suelo como a los estreses ambientales que provocan una baja eficiencia de la fijación de N₂ (Graham 1981; Thies et al. 1991; Andrade y Hungria 2002). Boudoin et al. (2007) observaron

5. Segundo Experimento

Tabla 5.11. Medias de la materia seca aérea (MSA) (g planta^{-1}) de las variedades y cepas, en la parcela de sequía. En cada tabla aparece la mínima diferencia significativa (LSD) para las variedades y las cepas.

MSA (g planta^{-1}) Sequía	Cepa					\bar{Y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	
PHA-0155	20,00	10,72	7,12	3,34	15,81	9,77
PHA-0432	3,19	7,52	6,84	4,06	9,09	7,54
PHA-0471	6,32	12,52	11,58	5,04	10,91	9,58
PHA-0483	5,36	14,46	7,76	4,12	8,51	7,66
PHA-0683	4,38	13,10	4,78	5,76	7,18	8,40
PMB-0220	5,44	20,91	6,79	6,62	12,27	9,07
PMB-0222	5,87	10,54	8,84	4,15	10,19	8,10
PMB-0244	4,73	9,88	5,78	7,54	10,37	8,08
PMB-0285	3,78	11,20	7,82	6,16	10,80	8,16
PMB-0286	4,13	10,21	6,75	6,83	10,79	8,01
\bar{Y}	6,32	12,11	7,41	5,36	10,59	8,44

MSA (g planta^{-1}) Sequía	Cepa					\bar{Y}
	EG	EF	EPOB	APAFI	LTMF	
PHA-0155	10,00	6,02	8,01	13,24	3,48	9,77
PHA-0432	8,04	8,67	9,25	11,23	7,50	7,54
PHA-0471	6,96	7,33	10,71	20,01	4,44	9,58
PHA-0483	8,13	5,73	7,68	10,05	4,75	7,66
PHA-0683	13,00	11,96	10,37	9,65	3,80	8,40
PMB-0220	12,61	5,87	7,29	9,36	3,50	9,07
PMB-0222	11,55	6,67	11,12	7,14	4,89	8,10
PMB-0244	8,63	4,48	9,24	8,72	11,41	8,08
PMB-0285	6,76	7,10	11,50	11,95	4,53	8,16
PMB-0286	12,80	7,35	7,65	8,85	4,77	8,01
\bar{Y}	9,85	7,12	9,28	11,02	5,31	8,44

LSD var=2,68

LSD cepa=2,81

$\alpha=0,05$

5. Segundo Experimento

que la variación de la composición los rhizodepositos a lo largo de la raíz de maíz coincidía con una variación de las poblaciones de la rizosfera, tanto en cantidad como en la composición de las poblaciones de microorganismos. Marschner (2004) en sorgo llegó a conclusiones similares. Ya que el estrés hídrico supone en la planta un cambio en los flujos de carbohidratos hacia las raíces, es lógico esperar que las cepas de *Rhizobium* también se vean afectadas por el estrés hídrico. De hecho en el ensayo de sequía, las plantas inoculadas con la cepa *R. tropici* CIAT899 son las que mayor producción media de MSA alcanzan, por ser las que menor reducción de MSA sufren por el estrés hídrico. Posiblemente el incremento de producción en sequía de las variedades PHA-0471 y PMB-0220 sea debido a esta mejor adaptación a la sequía de la cepa de *R. tropici* CIAT899, que induce en estas variedades un incremento de la producción de la biomasa considerable. Las cepas LTMF, EXIC y SLL2 se pueden definir como cepas sensibles ya que las plantas inoculadas con estas cepas presentan producciones en sequía significativamente peores al resto. De las combinaciones más eficaces en la producción de MSA solo repiten dos, la variedad PMB-0286 con la cepa EG y la PHA-0471 con la cepa APAFI. Las variedades PHA-0483, PHA-0683 y PMB-0220 tienen las mayores producciones de MSA con la cepa CIAT899.

En términos generales existe una importante reducción de la producción de materia seca radicular (**MSR**) en las plantas sometidas a estrés hídrico. Esta reducción es debida a que las raíces representan un importante sumidero de carbono para la planta y cuando se produce un estrés hídrico, el aporte de carbono resulta crítico, y las raíces sufren una disminución mayor (Schultze y Kondorosi, 1998). Aunque a primera vista resulte chocante una reducción del sistema radicular en condiciones de estrés hídrico, si se analiza en términos relativos esta variación, el porcentaje de MSR respecto a la MS total de la planta aumenta de 7,0% a 7,5%. Tampoco hay que olvidar que el agua potencialmente utilizable por la planta no dependerá solo de MSR sino también de la profundidad máxima del sistema radicular (Ehlers et al, 1991; Henry

5. Segundo Experimento

Tabla 5.12. Medias de la materia seca radicular (**MSR**) (g planta^{-1}) de las variedades y cepas, en la parcela de sequía. En cada tabla aparece la mínima diferencia significativa (LSD) para las variedades y las cepas.

MSR (g planta^{-1})	Cepa					\bar{Y}
	Sequía	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	
PHA-0155	0,80	0,70	0,77	0,35	0,51	0,57
PHA-0432	0,36	0,44	0,68	0,40	0,37	0,51
PHA-0471	0,71	0,81	0,82	0,42	0,43	0,69
PHA-0483	0,62	0,78	0,89	0,71	0,33	0,61
PHA-0683	0,46	1,21	0,88	0,49	0,41	0,71
PMB-0220	0,62	0,78	0,68	1,20	0,47	0,63
PMB-0222	0,62	0,89	0,66	0,22	0,52	0,63
PMB-0244	0,56	0,56	0,55	0,45	0,50	0,56
PMB-0285	0,78	0,71	0,37	0,56	0,45	0,60
PMB-0286	0,46	0,69	0,66	0,48	0,44	0,62
\bar{Y}	0,60	0,76	0,69	0,53	0,44	0,61

MSR (g planta^{-1})	Cepa					\bar{Y}
	Sequía	EG	EF	EPOB	APAFI	
PHA-0155	0,70	0,40	0,56	0,52	0,39	0,57
PHA-0432	0,57	0,50	0,47	0,48	0,78	0,51
PHA-0471	0,62	0,71	0,77	0,66	0,98	0,69
PHA-0483	0,57	0,89	0,26	0,44	0,64	0,61
PHA-0683	1,04	0,72	1,02	0,30	0,59	0,71
PMB-0220	0,58	0,68	0,39	0,40	0,55	0,63
PMB-0222	0,67	1,02	1,01	0,25	0,48	0,63
PMB-0244	0,71	0,29	0,43	0,38	1,24	0,56
PMB-0285	0,63	0,59	0,91	0,45	0,53	0,60
PMB-0286	0,95	0,74	0,51	0,40	0,84	0,62
\bar{Y}	0,70	0,65	0,63	0,43	0,70	0,61

LSD var=0,11

LSD cepa=0,12

$\alpha=0,05$

5. Segundo Experimento

2010a), extremo que no se ha podido comprobar porque este parámetro no ha sido tomado en este ensayo. Las plantas sometidas a estrés hídrico sufrieron una reducción media de MSR del 33,0%, valor similar al sufrido por la MSA. En la **Tabla 5.12** se observa que las variedades con mayor MSR en condiciones de estrés hídrico fueron PHA-0683 y PHA-0471. Las plantas inoculadas con las cepas CIAT899, LTMF y EG son las que presentaron mayor MSR en sequía, principalmente por haber sido las que menor porcentaje de reducción de la MS han sufrido. Las combinaciones cepa-variedad con mayor MSR fueron LTMF-PMB-0244 y CIAT899-PHA-0683, con valores superiores a 1,20 g planta⁻¹. El estrés hídrico modifica la relación existente entre MSA y MSR, como se puede observar en la **Figura 5.7**. En el grupo de plantas con MSR respecto al total 2,50-4,99% de MSR existe además de una correlación alta y significativa ($P < 0,0001$) entre MSR y MSA, un incremento alto de MSA por cada MSR que aumenta (26,051 g MSA g⁻¹ MSR). En este grupo se encuentran las plantas con mayor MSA. El más numeroso es el que tiene un porcentaje MSR de 5,00-9,99%, tiene una correlación entre MSA y MSR más baja y significativa ($P < 0,0001$) la respuesta es intermedia. Finalmente, el grupo 10,00-18,00% corresponderían a plantas que ante un estrés hídrico tienen un crecimiento escaso y poseen un sistema radicular importante en términos relativos pero ineficaz. El ajuste lineal entre MSR y MSA es significativo ($P < 0,01$) pero bajo ($R^2 = 0,42$) y el aumento de MSR apenas supone un aumento de MSA.

El estrés hídrico provoca en la planta una reducción en el número de pelos absorbentes, por lo que al reducirse los puntos donde se produce la infección primaria, es lógica una disminución en el número de nódulos planta⁻¹ (Boutraa y Sanders, 2001a). En ambiente con estrés hídrico existe una disminución importante de la nodulación, así como de la reducción del rango de variación dentro de cada variedad de los valores de nódulos planta⁻¹ de cada variedad-cepa. Las plantas inoculadas con la cepa EPOB fueron las que obtuvieron el mayor número de nódulos

planta⁻¹ en 4 variedades. Al igual que el sistema radicular, los nódulos suponen un sumidero de carbono para la planta. Cuando se produce un estrés hídrico, se reduce la cantidad total de carbono disponible para la planta, con una importante reducción de la nodulación (Mnasri, 2007). En este ensayo el estrés hídrico supone una reducción media del 57,2% en el número de nódulos planta⁻¹. Esta reducción en el número de nódulos es similar a la reducción sufrida por MSR. Prueba de ello es que el número de nódulos por MSR apenas varía, pasa de 75 nódulos g⁻¹ MSR de regadío a 71 nódulos g⁻¹ MSR en condiciones de estrés hídrico.

Las variedades que tienen mayor número medio de nódulos planta⁻¹ en condiciones de estrés hídrico son PHA-0471 y PHA-0683, con 48 y 44 nódulos planta⁻¹, respectivamente (**Tabla 5.13**). La variedad PHA-0471 es una variedad que nodula bien en regadío, pero en condiciones de estrés hídrico no sufre una reducción tan importante como la observada en las variedades PMB-0285 y PMB-0286. Esta estabilidad en el número de nódulo que presenta este grupo ante el estrés hídrico también se da en algunas variedades de soja, y supone una ventaja competitiva, ya que si el estrés remite la planta puede recuperar rápidamente la capacidad de fijación de nitrógeno (Sinclair et al., 2007).

Las plantas con mayor nodulación media son las inoculadas con la cepa LTMF con 49,98 nódulos planta⁻¹. La cepa EPOB con PHA-0471 alcanza la nodulación máxima con 84,25 nódulos planta⁻¹. Las variedades inoculadas con la cepa CIAT 899 tienen una nodulación escasa, 22 nódulos planta⁻¹, sobre todo si se compara con otros trabajos realizados en las mismas condiciones que llegan a 361 nódulos planta⁻¹ (Ramos et al., 1999).

En ambiente con estrés hídrico la variedad de mayor MSNod es la PHA-0683 con 124,41 mg planta⁻¹ (**Tabla 5.14**), debido a los valores excepcionales de 428 y 327 mg obtenidos con las cepas EG y EPOB respectivamente. Por esta misma razón las plantas inoculadas con las cepas EPOB y EG son las que tienen mayor MSNod con

5. Segundo Experimento

106,96 y 80,54 mg planta⁻¹ respectivamente. En condiciones de estrés hídrico la media de MSNod se mantiene en torno a 45,00 mg planta⁻¹. Esta respuesta de la judía a las condiciones de estrés hídrico contrasta con la observada en el guisante en trabajos previos, donde las plantas reducían su MSNod un 62% ante un estrés hídrico o un 68,8% cuando se limitaba los niveles de carbono mediante una malla de sombreo (Mahieu et al., 2008; Voisin et al., 2010), lo cual pone de manifiesto que la de partición de carbono ante situaciones de estrés es diferente en ambas especies.

Bajo condiciones de estrés hídrico la relación entre MSR y MSNod es significativas ($P < 0,0014$), aunque debido a la dispersión que se puede observar en la **Figura 5.8**, se pierde la relación de linealidad que había entre ambas variables. Esto puede ser debido a una peor adaptación de las cepas, lo cual implicaría unos niveles más bajos de infección o una senescencia precoz de los nódulos a causa del estrés (Mergaert et al., 2006; Voisin et al., 2007; Graham, 2008; Muchero et al., 2009, 2010).

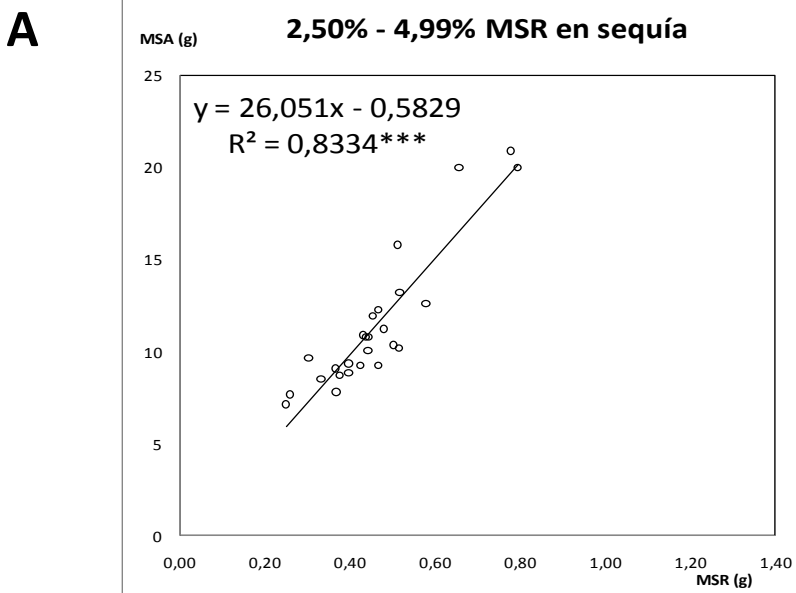
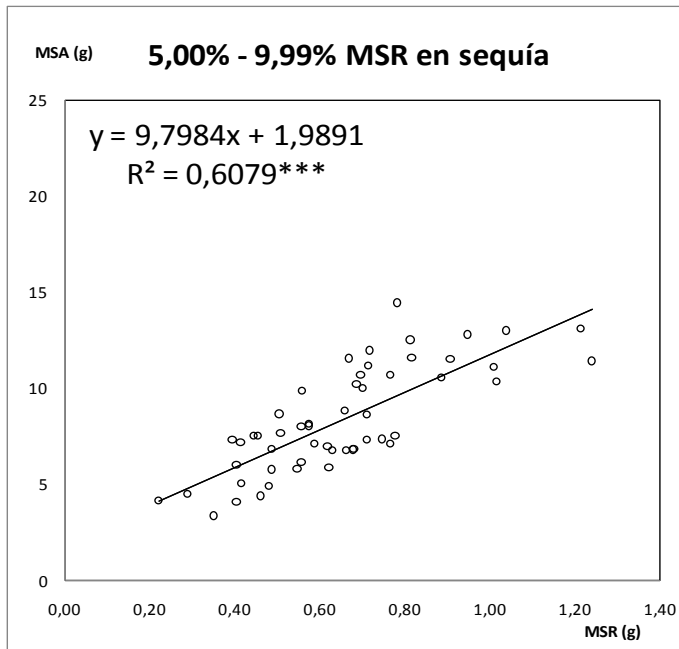


Figura 5.7. MSR frente a MSA para plantas entre A) 2,5 y 4,99%, B) 5,00-9,99% y C) 10,00-16,00% de MSR respecto al total de MS de la planta. *** $P < 0,0001$; ** $P < 0,01$.

B



C

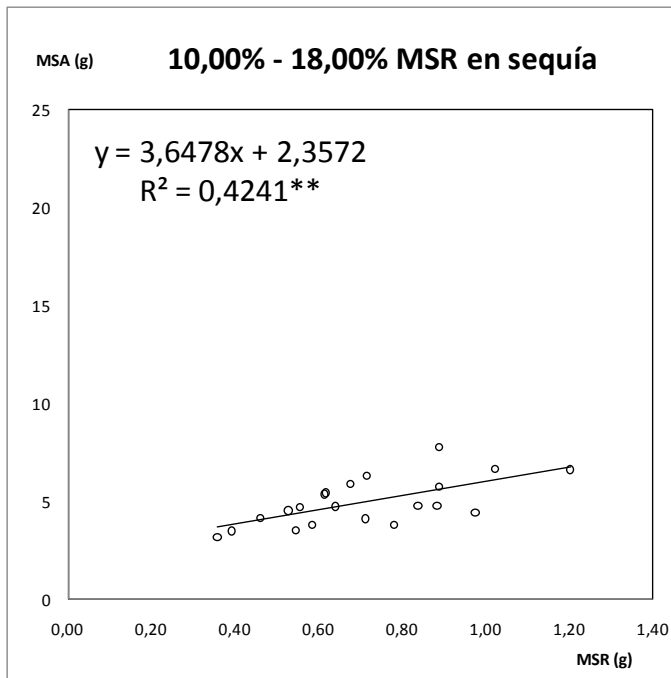


Figura 5.7. (Continuación)

5. Segundo Experimento

Tabla 5.13. Medias del número de nódulos (**nuNod**) por planta de las variedades y cepas, en la parcela de sequía. En cada tabla aparece la menor diferencia significativa (LSD) para las variedades y las cepas.

nuNod	Cepa					Ȳ
	Sequía	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	
PHA-0155	52,25	18,50	11,25	11,25	20,50	27,65
PHA-0432	16,50	40,25	5,75	0,50	25,50	20,43
PHA-0471	53,50	31,50	30,25	37,75	45,00	47,50
PHA-0483	33,25	14,75	19,50	19,00	9,50	22,78
PHA-0683	47,50	32,00	50,25	33,50	41,00	43,60
PMB-0220	32,75	6,75	8,50	44,75	19,50	24,85
PMB-0222	37,00	50,75	27,50	11,00	23,25	26,15
PMB-0244	32,25	5,00	10,75	19,00	25,50	23,50
PMB-0285	65,25	3,50	43,00	27,50	21,50	30,95
PMB-0286	23,75	15,25	70,00	33,00	18,25	32,40
Ȳ	39,40	21,83	27,68	23,73	24,95	29,98

nuNod	Cepa					Ȳ
	Sequía	EG	EF	EPOB	APAFI	
PHA-0155	31,75	12,50	69,00	21,50	28,00	27,65
PHA-0432	24,50	13,25	48,25	12,25	17,50	20,43
PHA-0471	37,25	35,50	84,25	36,75	83,25	47,50
PHA-0483	45,50	10,25	24,50	13,75	37,75	22,78
PHA-0683	80,00	26,00	53,50	21,75	50,50	43,60
PMB-0220	17,25	14,25	27,75	11,75	65,25	24,85
PMB-0222	36,75	17,00	13,50	5,75	39,00	26,15
PMB-0244	26,75	6,00	52,50	7,75	49,50	23,50
PMB-0285	31,75	36,25	28,50	5,25	47,00	30,95
PMB-0286	40,25	17,75	18,00	5,75	82,00	32,40
Ȳ	37,18	18,88	41,98	14,23	49,98	29,98

LSD var=11,87

LSD cepa=12,45

$\alpha=0,05$

5. Segundo Experimento

Tabla 5.14. Medias de la materia seca nodular (**MSNod**) (mg planta^{-1}) de las variedades y cepas, en la parcela de sequía. En cada tabla aparece la menor diferencia significativa (LSD) para las variedades y las cepas.

MSNod (mg planta^{-1})	Cepa					\bar{Y}
	Sequía	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	
PHA-0155	28,95	8,37	8,31	2,90	5,18	24,65
PHA-0432	4,88	23,93	0,00	0,00	38,77	36,67
PHA-0471	11,52	4,78	12,38	6,21	40,87	34,89
PHA-0483	63,97	106,91	4,89	92,40	0,00	41,33
PHA-0683	18,40	33,31	56,02	6,27	118,01	124,41
PMB-0220	30,13	4,15	7,03	165,62	5,05	29,78
PMB-0222	33,86	118,64	18,46	6,62	36,46	33,41
PMB-0244	11,01	2,03	0,00	3,39	4,22	21,25
PMB-0285	54,55	0,89	115,90	3,17	10,12	56,54
PMB-0286	8,42	5,99	103,01	71,89	5,17	47,05
\bar{Y}	26,57	30,90	32,60	35,85	26,38	45,00

MSNod (mg planta^{-1})	Cepa					\bar{Y}
	Sequía	EG	EF	EPOB	APAFI	
PHA-0155	77,65	9,47	67,70	29,66	8,30	24,65
PHA-0432	11,33	5,22	278,24	4,34	0,00	36,67
PHA-0471	12,41	39,44	146,17	32,37	42,71	34,89
PHA-0483	60,31	36,54	5,53	5,07	37,71	41,33
PHA-0683	428,03	19,59	327,56	20,67	216,24	124,41
PMB-0220	9,04	28,54	6,54	20,38	21,36	29,78
PMB-0222	35,67	48,34	16,48	2,24	17,35	33,41
PMB-0244	37,27	4,60	78,83	2,53	68,64	21,25
PMB-0285	92,26	176,53	96,15	2,78	13,04	56,54
PMB-0286	41,40	124,98	46,38	5,15	58,16	47,05
\bar{Y}	80,54	49,33	106,96	12,52	48,35	45,00

LSD var=60,4

LSD cepa=63,4

$\alpha=0,05$

5. Segundo Experimento

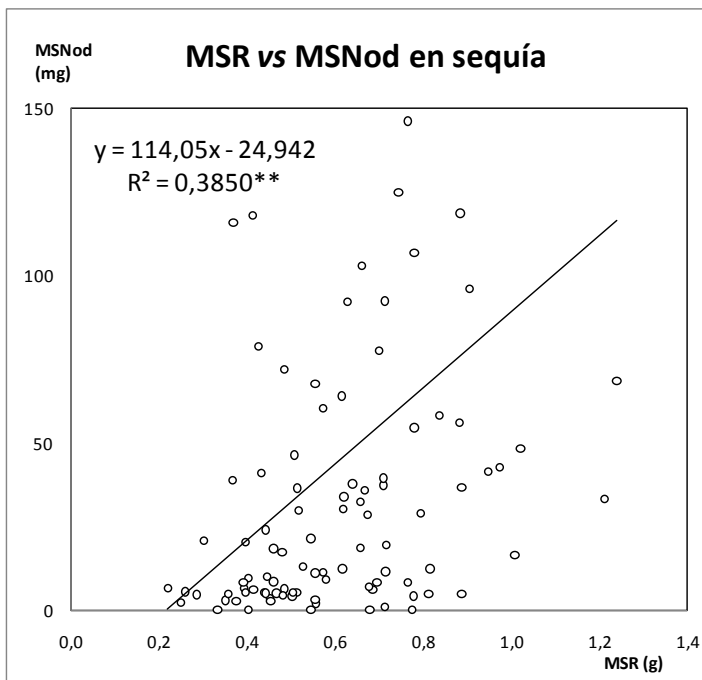


Figura 5.8. MSR en g vs MSNod en mg en sequía. ****** $P < 0,001$.

En la **Figura 5.9** se observa la misma tendencia de las plantas de regadío, al aumentar MSNod la eficiencia de la MSNod disminuye. El estrés hídrico supone una disminución en el rendimiento de la MSNod, y esto se refleja en el aumento del número de combinaciones que pertenece al grupo con rendimientos más bajos, el grupo 1 (de 0,00 a 0,49 g MSA mg MSNod⁻¹), que pasa de estar formado de 25 a 61 combinaciones.

La variabilidad observada en la producción de la planta de materia seca en cada una de las variedades, no es lineal a la MSN, lo que hace suponer que la eficacia de los nódulos es variable. En la **Tabla 5.15** se observa que MSNodM en condiciones de estrés hídrico, duplica los valores de regadío. La respuesta no es uniforme en todas las variedades, hay variedades que quintuplica el valor de regadío como la PHA-0483 y otras como PMB-0222 solo aumenta un 10%. Las variedades con mayor MSNodM son

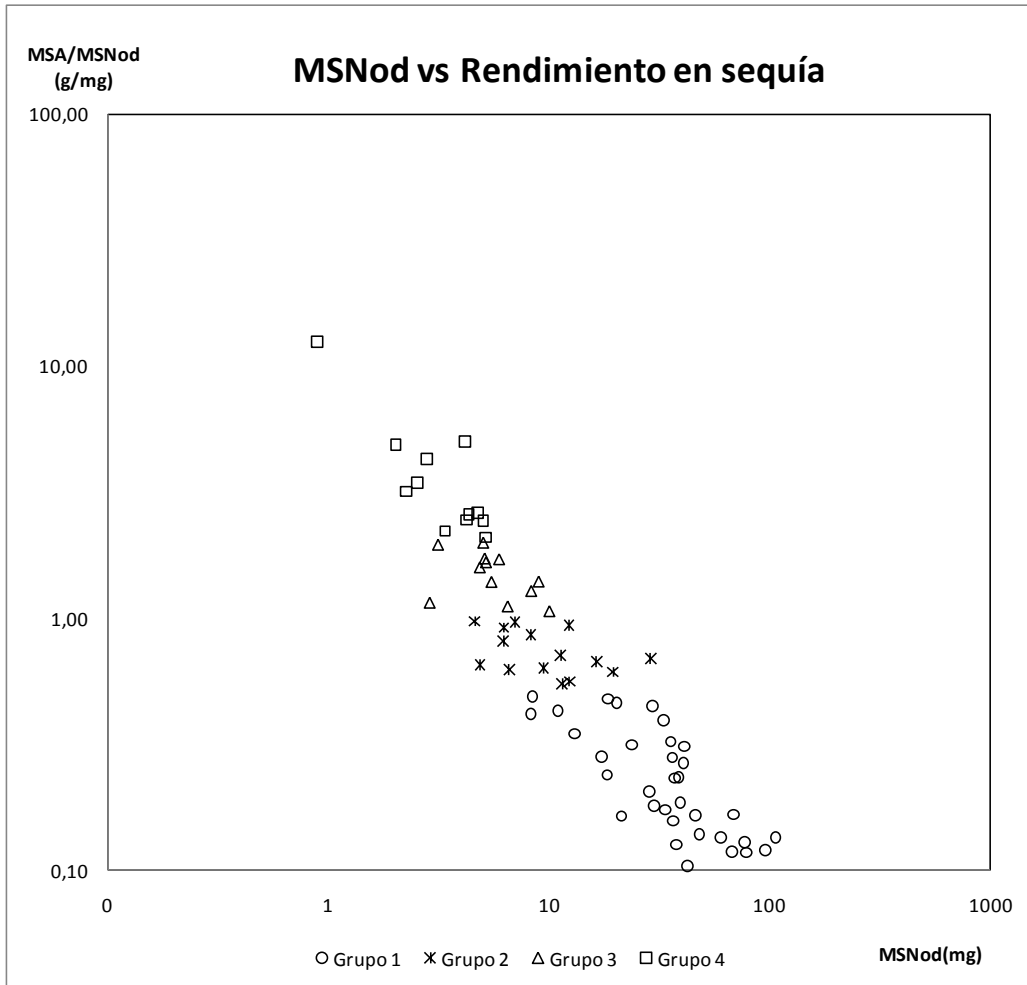


Figura 5.9 Gráfica de MSNod vs rendimiento de MSA/MSNod en escala logarítmica.

PHA-0683 y PHA-0483, con 2,31 mg y 2,08 mg respectivamente. Las cepas que inducen mayor MSNodM son EF y EPOB con 2,41 mg y 2,37 mg, de media. Voisin et al. (2010) en su estudio de los procesos de autorregulación nodular, encontraron que la MSN mantenía un relación directa con la MSA, independiente del número de nódulos. Por lo cual, es lógico suponer que si el número de nódulos es menor, estos tienden a ser más grandes. Al aumentar el tamaño de los nódulos, las frecuencias de los tramos

5. Segundo Experimento

Tabla 5.15. Medias de la materia seca nodular media (**MSNodM**) ($\text{mg n\u00f3dulo}^{-1}$) de las variedades y cepas, en la parcela de sequ\u00eda.

MSNodM ($\text{mg n\u00f3dulo}^{-1}$)	Cepa					\bar{Y}
	Sequ\u00eda	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	
PHA-0155	0,55	0,45	0,74	0,26	0,25	0,81
PHA-0432	0,30	0,59	0,01	0,01	1,52	0,94
PHA-0471	0,22	0,15	0,41	0,16	0,91	0,64
PHA-0483	1,92	7,25	0,25	4,86	0,01	2,08
PHA-0683	0,39	1,04	1,11	0,19	2,88	2,31
PMB-0220	0,92	0,61	0,83	3,70	0,26	1,11
PMB-0222	0,92	2,34	0,67	0,60	1,57	1,20
PMB-0244	0,34	0,41	0,01	0,18	0,17	0,65
PMB-0285	0,84	0,25	2,70	0,12	0,47	1,63
PMB-0286	0,35	0,39	1,47	2,18	0,28	1,69
\bar{Y}	0,67	1,35	0,82	1,23	0,83	1,31

MSNodM ($\text{mg n\u00f3dulo}^{-1}$)	Cepa					\bar{Y}
	Sequ\u00eda	EG	EF	EPOB	APAFI	
PHA-0155	2,45	0,76	0,98	1,38	0,30	0,81
PHA-0432	0,46	0,39	5,77	0,35	0,01	0,94
PHA-0471	0,33	1,11	1,74	0,88	0,51	0,64
PHA-0483	1,33	3,57	0,23	0,37	1,00	2,08
PHA-0683	5,35	0,75	6,12	0,95	4,28	2,31
PMB-0220	0,52	2,00	0,24	1,73	0,33	1,11
PMB-0222	0,97	2,84	1,22	0,39	0,44	1,20
PMB-0244	1,39	0,77	1,50	0,33	1,39	0,65
PMB-0285	2,91	4,87	3,37	0,53	0,28	1,63
PMB-0286	1,03	7,04	2,58	0,90	0,71	1,69
\bar{Y}	1,67	2,41	2,37	0,78	0,92	1,31

de mayor tamaño de MSNodM aumentan. La frecuencia de las combinaciones variedad-cepa con MSNodM superior a 1 mg nódulo⁻¹ pasa de 10% al 36%, y las superiores a 3 mg nódulo⁻¹ pasa de 1% a 11% (Figura 5.10).

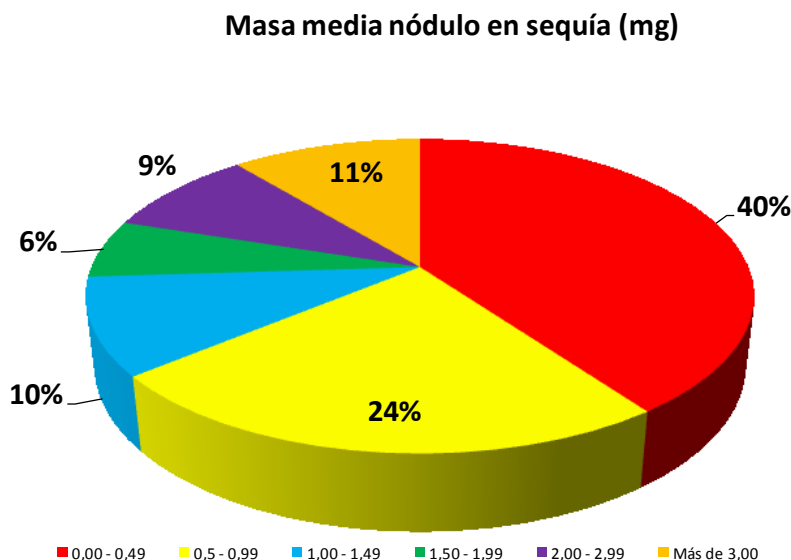


Figura 5.10: Frecuencias masa nódulo medio por planta en mg nódulo⁻¹ en sequía.

Trabajos anteriores han intentado buscar una relación entre el tamaño del nódulo y productividad (DeJong et al. 1981; Skøt 1983; Vessey 1992; Martensson y Rydberg 1996; Jebara y Drevon, 2001; Santalla et al. 2001b, 2001c; Laguerre et al. 2007; Rodiño et al., 2011). El consumo de O₂ por parte del complejo nódulo-raíz varía de una variedad a otra. En principio una mayor superficie de contacto nodular, mejoraría teóricamente la perfusión del oxígeno y por tanto favorecería una mayor fijación. Jebara y Drevon (2001), al igual que este experimento, observaron que variedades con nodulaciones similares, producen mayor fijación las variedades con nódulos más grandes.

5. Segundo Experimento

En la **Figura 5.11**, la variedad PHA-0683 presenta una gran uniformidad de calibre en sus nódulos. Cuando presenta BNO (A), mantiene el calibre independientemente del número de nódulos que tenga la planta y lo mismo sucede cuando son SNO (B). Otras variedades, como PMB-0286 (C), presentan diferentes tamaños de nódulos, independientemente del número de nódulos que presente.

Según Mergaert et al. (2006), las cepas inductoras de BNO parecen capaces de superar los mecanismos de defensa de la planta que posiblemente controlen la diferenciación del bacteroide en coordinación con las células de la planta. Pero según

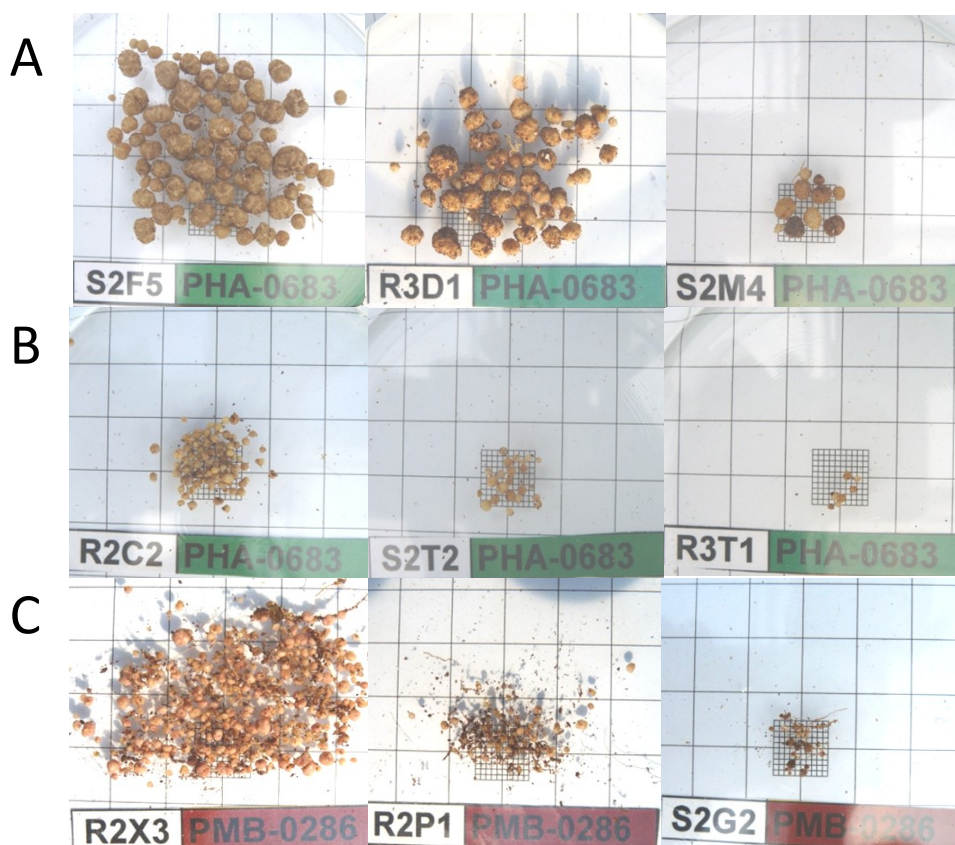


Figura 5.11: Variación del tamaño del nódulo en función de la variedad y la cepa. En A y B se observa la uniformidad de tamaño en los nódulos de PHA-0683. En C aparecen los nódulos de PMB-0286.

5. Segundo Experimento

el presente experimento, las combinaciones variedad-cepa generan cantidades y tamaños de nódulos diferentes según el ambiente tenga estrés hídrico o no. Como se puede observar en la **Figura 5.12**, cuando PMB-0222 es inoculada con la cepa EPOB, los nódulos de plantas en regadío son de gran tamaño y contrastan con el tamaño

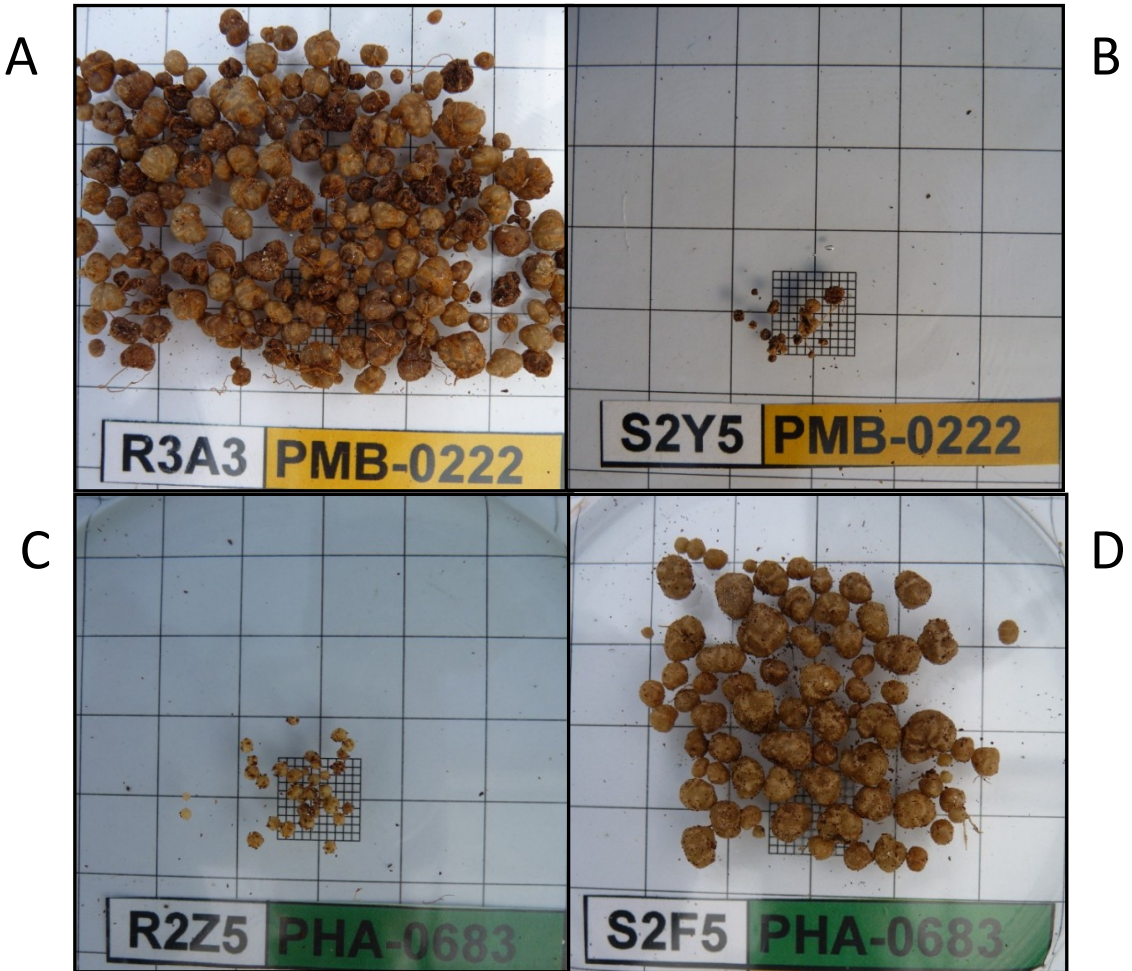


Figura 5.12. A y B: nódulos de la variedad PMB-0222 inoculada con la cepa EPOB, en regadío (A) y sequía (B). C y D: nódulos de la variedad PHA-0683 inoculada con la cepa EG, en regadío (C) y sequía (D). (Las cuadrículas grandes miden 1 cm y las pequeñas 1 mm).

5. Segundo Experimento

diminuto de los generados en sequía. En cambio, cuando PHA-0683 es inoculada con la cepa EG ocurre lo contrario. Por lo que se pone de manifiesto que tanto los mecanismos de infección de la cepa y como la morfología de las células de la raíz se ven afectadas por el estrés hídrico.

Si se toman todos los datos de MSA y MSNod de PHA-0683 se observa que son variables totalmente independientes, pero cuando se toman solo los datos de las plantas con MSNodM mayor a 2,00 mg, la relación se hace significativa ($P < 0,01$). En la gráfica de la **Figura 5.13** se representa MSNod vs MSA de PHA-0683, donde se observa la relación lineal de MSNod y MSA. La dispersión en los datos puede deberse a la existencia de nódulos pequeños que disminuyen la eficiencia de MSNod o al ser nódulos tan grandes, la pérdida de alguno en la extracción de la raíz, puede hacer variar sensiblemente el dato de MSNod.

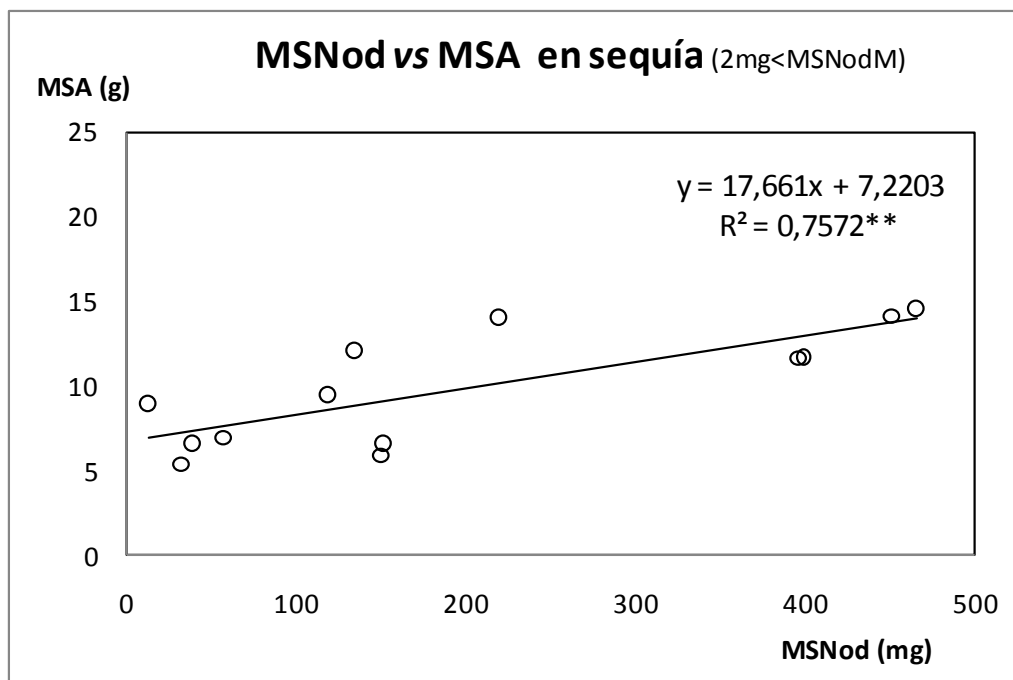


Figura 5.13: Gráfica MSNod vs MSA en sequía de nódulos BNO de PHA-0683, mayores a 2 mg nódulo⁻¹ ** $P < 001$.

Phaseolus leptostachyus



**Tercer experimento:
Resultados y discusión**

6. Tercer experimento: Resultados y discusión.

6.1. Análisis de varianza:

El análisis de varianza se realizó de las variables: producción de materia seca aérea (**MSA**), porcentaje de N de la materia seca aérea (**PNMSA**), cantidad de N de la materia seca aérea (**NMSA**), número de nódulos por planta (**nuNod**), materia seca nodular (**MSNod**), materia seca nodular media (**MSNodM**), vainas por planta (**VPP**), semillas por vaina (**SPV**), masa de 100 semillas al 12% humedad (**MCS**), producción de materia seca de semilla (**MSS**), porcentaje de N de la materia seca de semilla (**PNMSS**), cantidad de N de la materia seca de semilla (**NMSS**), índice de cosecha (**HI**) e índice de cosecha de N (**NHI**).

El modelo con mejor ajuste fue:

$$X = G + T + I + G*T + G*I + T*I + G*I*T + R(G) + \text{Error}$$

G: genotipo o variedad. T: tratamiento (regadío o sequía). I: cepa. G*T: interacción genotipo-tratamiento. G*I: interacción genotipo-inóculo ó variedad-cepa. T*I: interacción tratamiento-inóculo. G*I*T: interacción genotipo-cepa-tratamiento. rep(G): repetición anidada en variedad.

Como se puede observar en la **Tabla 6.1** el modelo se ajusta de forma muy significativa en todas las variables no relacionadas con la nodulación, como ocurría en anteriores trabajos (Laguerre et al., 2007). Entre las variedades existen diferencias significativas en todos los parámetros estudiados. Entre cepas la diferencia no fue significativa en las variables relacionadas con la nodulación (nuNod, MSNod, MSNodM) y las relacionadas con la producción de vainas (VPP y SPV), lo que puede suponer que estos caracteres estén determinados por la genética de la planta. Existen diferencias significativas entre tratamientos en todas las variables excepto HI.

6. Tercer Experimento

Tabla 6.1: Grado de significación del modelo y de cada una de las fuentes de varianza para las variables registradas.

Fuente	Modelo	G	T	I	G*T	G*I	T*I	G*T*I	R(G)
MSA	***	***	***	***	***	***	***	***	ns
NMSA	***	***	***	***	***	***	**	***	ns
PNMSA	***	***	***	***	***	ns	***	ns	ns
MSS	***	***	***	***	**	ns	***	ns	ns
NMSS	***	***	***	***	**	ns	***	ns	ns
PNMSS	***	***	***	*	***	ns	*	ns	ns
nuNod	ns	***	***	ns	**	ns	ns	ns	ns
MSNod	ns	***	***	ns	ns	ns	ns	ns	ns
MCS	***	***	***	***	*	*	***	***	ns
VPP	***	***	***	ns	***	ns	ns	*	ns
SPV	***	***	*	ns	*	ns	ns	ns	ns

G: Genotipo. T: tratamiento. I: cepa inoculada. G*T: interacción genotipo-tratamiento. G*I: interacción genotipo-cepa inoculada. T*I: interacción tratamiento-cepa inoculada. G*T*I: Interacción genotipo-tratamiento-cepa. R(G): repetición anidada con la genotipo. *** P<0,0001; ** P<001; * P<0,01; ns: no significativo.

El valor de 0,49 del índice de intensidad de sequía (**DII**) de este experimento se puede considerar intermedio a pesar de haber intentado mantener la humedad de la parcela de sequía en torno al 50% CC. La alternancia de situaciones de estrés hídrico con humedades del 70%, debida a las precipitaciones, pudieron favorecer la recuperación de las plantas, y por tanto reducir el impacto negativo del estrés en la producción de semilla.

La producción de semilla no se vio afectada por los 15 días que se registraron temperaturas máximas superiores a 30°C, a partir de la cual algunos autores afirman que empieza haber mermas en la producción (Porch, 2006). Singh et al. (2001) argumentan que los incrementos de la temperatura mínima, cuando fueron superiores a 20°C, explican mejor las mermas en producción de semilla por el estrés térmico. Como durante el ciclo de cultivo solo hubo un día que se diera esta circunstancia, era esperable que no afectase a la producción al no haberse producido estrés térmico.

La interacción entre variedad y tratamiento existe para todas las variables, salvo MSNod, HI y NHI, lo que pone de manifiesto que las variedades tuvieron una respuesta diferenciada al estrés hídrico, tanto en materia seca como en la partición del N en la planta. Las cepas bacterianas se ven afectadas por la presencia o ausencia de estrés hídrico, por lo que la interacción entre cepa y tratamiento será significativa para todas las variables excepto para las relacionadas con la nodulación y la producción de vainas. Finalmente, solo se produce interacción significativa entre variedad, tratamiento y cepa en MSA, NMSA y MCS.

Los datos de regadío y ambiente con estrés hídrico se analizaron por separado y en ambos se utilizó el siguiente modelo:

$$X = G + I + G*I + \text{Rep}(G) + \text{Error}$$

En la **Tabla 6.2** se puede apreciar que el ajuste del modelo en regadío fue muy significativo para todas las variables, excepto las relacionadas con la nodulación. Existen diferencias significativas entre las variedades en todas las variables, excepto nuNod, MSNodM y SPV. Por el contrario, entre cepas solo existen diferencias significativas entre las variables relacionadas con la producción de biomasa y semilla (MSA, NMSA, PNMSA, MSS, NMSS), MCS y los índices HI y NHI.

6. Tercer Experimento

Tabla 6.2: Grado de significación del modelo y de cada una de las fuentes de varianza del mismo para las variables medidas por parcela elemental en regadío.

Regadío	MSA	NMSA	PNMSA	MSS	NMSS	PNMSS
Modelo	***	***	***	***	***	**
G	***	***	***	***	***	***
I	***	***	***	***	***	ns
G*I	***	***	ns	ns	ns	ns
R(G)	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Regadío	nuNod	MSNod	MCS	VPP	SPV
Modelo	ns	ns	***	***	***
G	**	***	***	***	*
I	ns	ns	***	ns	ns
G*I	ns	ns	***	ns	ns
R(G)	ns	ns	ns	ns	ns

G: Genotipo. I: cepa inoculada. G*I: interacción genotipo-cepa inoculada. rep(G): repetición anidada con genotipo. *** P<0,0001; ** P<001; * P<0,01; ns: no significativo.

La interacción entre variedad y cepa fue significativa en MSA, NMSA, MCS y NHI, como en trabajos previos (Rodríguez-Navarro et al., 1999). En la **Tabla 6.3** se observa que el ajuste del modelo en el ambiente con estrés hídrico, fue similar al obtenido en regadío. Al igual que ocurría en regadío, existen diferencias significativas entre las variedades en todas las variables. Entre cepas solo existen diferencias significativas entre las variables MSA, NMSA, PNMSA, MSS, NMSS, MCS, HI y NHI. La interacción entre variedad y cepa fue significativa solo para MSA y NMSA. El hecho de que en ambos ambientes el porcentaje de N, tanto en MSA como en MSS, no se vea afectado por la interacción genotipo-inóculo, pone de manifiesto que la proporción de N en la planta viene determinada exclusivamente por el genotipo. La cepa en función de su FBN

6. Tercer Experimento

determinará el N disponible para la planta, y ésta en función de su proporción de N, producirá más o menos materia seca.

Tabla 6.3: Grado de significación del modelo para cada una de las variables medidas por parcela elemental en condiciones de estrés hídrico.

Sequía	MSA	NMSA	PNMSA	MSS	NMSS	PNMSS
Modelo	***	***	**	***	***	**
G	***	***	***	***	***	***
I	***	***	ns	ns	*	**
G*I	***	***	ns	*	*	ns
R(G)	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Sequía	nuNod	MSNod	MCS	VPP	SPV
Modelo	ns	ns	***	***	***
G	***	**	***	***	***
I	ns	ns	**	*	ns
G*I	ns	ns	ns	**	ns
R(G)	ns	ns	ns	ns	ns

G: Genotipo. I: cepa inoculada. G*I: interacción genotipo-cepa inoculada. rep(G): repetición anidada con genotipo. *** P<0,0001; ** P<001; * P<0,01; ns: no significativo.

En trabajos anteriores se pone de manifiesto la gran dispersión de los datos relacionados con la nodulación, con coeficientes de variación que oscilan entre 42,1 y 51,4 (Hungria y Vargas, 2000; Mostasso et al., 2002). Como resultado de esta dispersión no se observaron diferencias significativas en el modelo, entre las distintas cepas o interacción entre variedad y cepa, para las variables relacionadas con la nodulación en ambos ambientes. La única forma de mejorar la sensibilidad del experimento sería aumentar el número de repeticiones, extremo que sería posible de asumir si se redujese tanto el número de variedades como de cepas.

6. Tercer Experimento

6.2. Análisis de medias:

En la **Tabla 6.4** aparecen las producciones de materia seca aérea (**MSA**) en g planta⁻¹. La producción media de MSA en regadío fue 34,20 g planta⁻¹. La producción de MSA de las plantas inoculadas con la cepa LTMF fueron significativamente superiores a las demás con 46,70 g planta⁻¹. LTMF con las variedades PHA-0471 y la PMB-0285 duplicaron la producción media de MSA en regadío, superando los 70,0 g planta⁻¹, y posiblemente debido a estas altas producciones con LTMF, fueron las variedades con mayor producción de MSA. Las plantas del control cero alcanzaron las producciones más bajas de MSA y las del control con N obtuvieron valores intermedios.

El valor medio de MCS en regadío fue 31,63 g (**Tabla 6.5**), pero existen grandes diferencias entre variedades. Hay variedades de semillas grandes como PHA-0155, con MCS de 46,32 g 100 semillas⁻¹ y otras de semilla pequeña como PMB-0285 con MCS de 16,23 g 100 semillas⁻¹. A pesar de que el tamaño de la semilla está regulado genéticamente (Park y Coyne, 2000; González et al. 2010), existe cierto rango de variación dentro de cada variedad. Este rango de variación no está ligado al tamaño, ya que PHA-0155 con 46,32 g 100 semillas⁻¹ tuvo un coeficiente de variación (**CV**) de 24 %, mientras otra variedad de tamaño similar, PMB-0224 tuvo un CV de 38 %. En las variedades pequeñas pasa algo similar, PHA-0471 tuvo un CV de 23 % y en cambio PHA-0483 tuvo un CV de 40%. Las plantas del control con N fueron superiores al resto de una forma significativa con 47,20 g 100 semillas⁻¹ y esto fue debido a la gran respuesta que tuvieron al N las variedades PMB-0222, PMB-0285, PHA-0483 y PMB-0244, con incrementos superiores al 65 % respecto a la media de las plantas inoculadas. Las plantas inoculadas con EPOB registran el mayor MCS con 37,05 g 100 semillas⁻¹ y las plantas del control cero obtuvieron el valor más bajo con 18,18 g 100 semillas⁻¹.

6. Tercer Experimento

Tabla 6.4. Medias en regadío de las variedades y cepas de la producción de materia seca aérea (**MSA**) (g planta^{-1}). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

MSA (g planta^{-1}) Regadío	Cepa						\bar{Y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	49,98	45,27	36,34	40,92	31,44	32,89	41,83
PHA-0432	22,76	17,38	19,49	22,98	20,47	12,56	19,93
PHA-0471	46,85	48,53	30,58	50,11	42,55	68,95	49,03
PHA-0483	35,39	14,70	18,06	14,03	17,58	9,70	18,12
PHA-0683	48,21	25,24	21,15	25,06	36,78	43,17	32,23
PMB-0220	49,14	21,03	29,60	27,59	33,83	39,93	36,00
PMB-0222	39,28	43,88	35,42	30,83	41,69	40,63	38,54
PMB-0244	29,26	15,68	14,00	18,29	16,11	29,68	21,71
PMB-0285	59,71	39,07	37,42	38,38	51,30	43,24	47,50
PMB-0286	49,04	32,31	30,22	40,41	37,48	49,19	37,09
\bar{Y}	42,96	30,31	27,23	30,86	32,92	36,99	34,20

MSA (g planta^{-1}) Regadío	Cepa						\bar{Y}
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	47,51	35,39	48,51	49,17	52,44	32,11	41,83
PHA-0432	15,71	18,86	34,22	17,69	22,96	14,08	19,93
PHA-0471	56,71	45,94	57,29	73,90	22,06	44,95	49,03
PHA-0483	16,58	13,69	11,49	35,86	13,21	17,15	18,12
PHA-0683	35,82	28,74	32,75	41,93	19,35	28,53	32,23
PMB-0220	39,70	41,37	48,67	61,71	20,72	18,77	36,00
PMB-0222	38,76	55,50	39,16	51,05	21,26	25,04	38,54
PMB-0244	17,86	28,61	13,67	40,41	18,00	18,94	21,71
PMB-0285	23,25	55,52	49,72	70,94	32,35	69,11	47,50
PMB-0286	34,84	40,34	43,84	24,35	21,31	41,72	37,09
\bar{Y}	32,67	36,39	37,93	46,70	24,36	31,04	34,20

LSD_{VARIEDAD} = 4,20 LSD_{CEPA} = 4,60 $\alpha=0,05$

6. Tercer Experimento

Tabla 6.5. Medias en regadío de las variedades y cepas de la masa de 100 semillas (MCS) ($\text{g } 100\text{semillas}^{-1}$). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

MCS ($\text{g } 100\text{semillas}^{-1}$) Regadío	Cepa						\bar{Y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	42,63	49,57	57,75	37,16	47,49	46,17	46,32
PHA-0432	35,09	41,92	31,76	54,67	52,32	29,05	38,20
PHA-0471	16,39	22,59	19,67	16,03	15,00	19,48	17,27
PHA-0483	21,71	13,50	28,40	34,63	25,72	37,29	27,75
PHA-0683	35,62	48,03	29,15	26,55	50,16	40,99	37,51
PMB-0220	43,91	25,85	29,10	25,30	30,48	35,74	33,85
PMB-0222	44,40	32,43	26,93	38,64	38,36	34,89	39,04
PMB-0244	40,49	64,90	37,28	37,95	41,14	35,32	39,93
PMB-0285	12,00	16,24	10,89	17,27	16,54	14,48	16,23
PMB-0286	16,07	18,48	17,37	23,09	15,00	24,51	20,17
\bar{Y}	30,83	33,35	28,83	31,13	33,22	31,79	31,63

MCS ($\text{g } 100\text{semillas}^{-1}$) Regadío	Cepa						\bar{Y}
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	47,34	67,43	42,63	38,67	24,04	54,95	46,32
PHA-0432	35,58	43,56	25,10	35,86	19,62	53,93	38,20
PHA-0471	15,17	21,06	14,94	16,27	8,32	22,29	17,27
PHA-0483	24,53	44,42	16,83	23,13	15,85	47,03	27,75
PHA-0683	41,82	41,28	31,27	33,27	22,92	49,01	37,51
PMB-0220	35,04	37,07	37,67	34,30	21,21	50,56	33,85
PMB-0222	48,40	40,06	28,46	40,70	26,25	68,96	39,04
PMB-0244	32,98	33,25	52,51	15,49	20,27	67,56	39,93
PMB-0285	22,20	16,67	19,56	14,85	9,60	24,40	16,23
PMB-0286	13,63	25,64	20,43	18,85	13,67	35,35	20,17
\bar{Y}	31,67	37,05	28,94	27,14	18,18	47,40	31,63

LSD_{VARIEDAD} = 5,03

LSD_{CEPA} = 5,51

$\alpha=0,05$

El control de N con PMB-0222 y EPOB con PHA-0155 obtuvieron los máximos valores de MCS con 68,96 y 67,43 g 100 semillas⁻¹, respectivamente.

La producción media de materia seca de semilla (**MSS**) en regadío fue de 40,59 g planta⁻¹ (**Tabla 6.6**). Los valores del control cero en regadío fueron significativamente inferiores a la media, y similares a los obtenidos en otros trabajos (Frahm et al. 2002; 2003; 2004). Por ejemplo PMB-0286 con 27,91 g planta⁻¹ fue similar a los valores obtenidos por Frahm et al. (2002), pero duplica a los obtenidos por los mismos autores en 2003 y 2004. MSS está determinada por las tres variables analizadas anteriormente: MCS, VPP y SPV. PHA-0471 con 54,43 g planta⁻¹ alcanzó la mayor MSS debido principalmente a que registró los mayores valores de VPP y SPV, que compensaron con creces el pequeño tamaño del semilla de esta variedad, 17,27 g 100 semillas⁻¹ (Rodiño et al., 2003). El hecho de tener un gran tamaño de semilla no implica una gran productividad. PHA-0155 a pesar de sus 46 g 100 semillas⁻¹, al solo tener 4,00 semillas vaina⁻¹, solo alcanza un valor de MSS intermedio. PHA-0432 con 19,23 g planta⁻¹, presenta la MSS más baja, debido principalmente las 10,48 vainas plantas⁻¹, que equivalen a un tercio del valor promedio del parámetro para todas las variedades. Los valores medios de las plantas inoculadas varían de forma gradual, desde 54,85 g planta⁻¹ del control de N a 24,52 g planta⁻¹ del control cero. La diferencia entre estos valores fue de 30,33 g planta⁻¹, muy superior a los 2,33 registrados en otros trabajos (Hungria et al., 2003). La MSS de las plantas del control de N no fue significativamente superior a la de las plantas inoculadas. En términos generales las variedades no mostraron respuesta a la aplicación de N, salvo PMB-0244 que mostró un incremento respecto a la media de las plantas inoculadas de un 120%.

Según los datos de la **Tabla 6.7** todas las plantas en regadío nodulan, incluso las de los dos controles que no han sido inoculadas. El número medio de nódulos en regadío fue de 29 nódulos planta⁻¹.

6. Tercer Experimento

Tabla 6.6. Medias en regadío de las variedades y cepas de la producción de materia seca grano (MSS) (g planta⁻¹). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

MSS (g planta ⁻¹) Regadío	Cepa						ȳ
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	31,57	58,03	45,90	47,16	33,36	35,63	42,86
PHA-0432	12,39	24,71	19,19	34,98	17,71	11,15	19,23
PHA-0471	42,80	96,29	73,06	35,95	52,30	39,62	54,43
PHA-0483	33,16	33,45	40,16	42,96	42,06	54,06	34,26
PHA-0683	47,32	58,22	47,80	46,70	27,19	48,28	46,48
PMB-0220	59,47	33,98	36,45	46,17	50,33	43,70	45,84
PMB-0222	32,44	38,15	46,04	46,76	49,45	62,39	48,51
PMB-0244	23,64	31,17	19,75	21,25	15,28	21,38	21,54
PMB-0285	35,70	34,57	31,46	44,56	54,43	23,80	40,89
PMB-0286	48,65	64,00	53,39	74,24	52,30	69,19	51,87
ȳ	36,71	47,26	41,32	44,07	39,44	40,92	40,59

MSS (g planta ⁻¹) Regadío	Cepa						ȳ
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	41,46	50,20	55,34	40,48	32,93	42,26	42,86
PHA-0432	11,70	20,78	19,42	18,23	9,75	30,74	19,23
PHA-0471	62,12	61,77	49,47	56,36	21,00	62,46	54,43
PHA-0483	18,67	27,74	17,11	20,84	22,18	58,69	34,26
PHA-0683	47,28	46,50	37,24	46,49	30,05	74,72	46,48
PMB-0220	39,12	43,21	44,12	49,58	26,30	77,62	45,84
PMB-0222	76,10	79,97	46,44	11,69	37,50	55,23	48,51
PMB-0244	16,95	20,88	22,70	8,70	10,10	46,69	21,54
PMB-0285	55,85	57,17	51,07	50,08	27,46	24,56	40,89
PMB-0286	30,49	64,86	42,61	19,27	27,91	75,49	51,87
ȳ	39,97	47,31	38,55	32,17	24,52	54,85	40,59

LSD_{VARIEDAD} = 9,15

LSD_{CEPA} = 10,02

α=0,05

6. Tercer Experimento

Tabla 6.7. Medias en regadío de las variedades y cepas del número de nódulos por planta (**nuNod**). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

nuNod Regadío	Cepa						ȳ
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	19,00	107,00	73,50	40,17	58,67	24,67	37,42
PHA-0432	7,33	12,50	34,33	23,33	31,50	12,50	17,81
PHA-0471	36,83	29,17	40,50	8,67	12,83	7,50	16,81
PHA-0483	9,00	7,50	14,50	46,67	23,17	28,33	18,07
PHA-0683	6,67	26,00	76,00	26,50	21,50	13,33	24,50
PMB-0220	30,67	50,83	19,17	12,83	18,17	29,17	22,71
PMB-0222	8,67	14,17	31,67	47,00	24,50	35,50	38,36
PMB-0244	4,17	37,67	45,33	19,17	13,67	12,00	17,43
PMB-0285	10,83	47,50	90,83	53,17	21,83	80,67	41,03
PMB-0286	54,17	45,83	88,33	49,33	64,67	11,83	56,90
ȳ	18,73	37,82	51,42	32,68	29,05	25,55	29,10

nuNod Regadío	Cepa						ȳ
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	8,67	13,83	27,00	39,67	20,33	16,50	37,42
PHA-0432	7,33	6,83	21,00	24,00	18,50	14,50	17,81
PHA-0471	6,33	11,17	5,00	10,00	14,83	18,83	16,81
PHA-0483	6,33	6,50	11,83	29,00	17,17	16,83	18,07
PHA-0683	20,67	12,50	38,67	10,67	19,17	22,33	24,50
PMB-0220	6,67	10,00	16,33	31,50	34,50	12,67	22,71
PMB-0222	119,83	23,67	15,50	80,33	45,17	14,33	38,36
PMB-0244	18,83	3,17	3,17	4,00	5,33	42,67	17,43
PMB-0285	57,67	9,83	61,67	18,83	15,50	24,00	41,03
PMB-0286	36,67	70,17	51,50	122,67	27,00	60,67	56,90
ȳ	28,90	16,77	25,17	37,07	21,75	24,33	29,10

LSD_{VARIEDAD} = 20,43

LSD_{CEPA} = 22,38

α=0,05

6. Tercer Experimento

PMB-0286 presenta la mayor nodulación con 56,90 nódulos planta⁻¹, pero debido a la gran variabilidad de este parámetro, PMB- 0285, PMB-0222 y PHA-0155, con aproximadamente 40 nódulos planta⁻¹, tendrían una nodulación similar. Las plantas inoculadas con CFN42 obtuvieron la máxima nodulación con 51,42 nódulos planta⁻¹, que serían significativamente similares a las inoculadas con CIAT899, LTMF y EXIC, con 35 nódulos por planta⁻¹. La combinación con mayor nodulación fue PMB-0286 con LTMF, que alcanzó los 122 nódulos planta⁻¹. Dada la poca especificidad para nodular que tiene *Phaseolus vulgaris* (Michiels et al., 1998), el control cero permite evaluar las poblaciones nativas de la rizosfera con capacidad de generar nódulos. La planta huésped modifica las condiciones de la rizosfera, de forma que aumenta las poblaciones de *Rhizobium* en su medio más inmediato.

El crecimiento de las poblaciones nativas son significativas cuando las poblaciones inoculadas son muy bajas, y en cambio apenas pueden ser detectadas cuando las poblaciones inoculadas son altas (Thies y Singleton, 1995). Por lo tanto, el inóculo que está en contacto con la planta será la población preferente que se desarrolle y colonice los nódulos. Al igual que hay cepas inoculadas que compiten bien con las poblaciones nativas (Graham, 1981; Romdhane et al., 2008), hay ocasiones en las que las cepas inoculadas no se adaptan al medio o no son capaces de competir con las cepas nativas. Si para evaluar el éxito de la inoculación se tomase solo como parámetro el número de nódulos, la única cepa que se podría considerar exitosa en la colonización sería CFN42, por ser la única significativamente superior al control cero. Dada la variabilidad observada en los parámetros relacionados con la nodulación, en trabajos anteriores (Vessey, 1992; Jebara y Drevon, 2001; Santalla et al. 2001b, 2001c; Hungria et al., 2003; Laguerre et al. 2007; Rodiño et al., 2011) y en los experimentos realizados en este trabajo, se tomará como criterio del éxito en la inoculación, los incrementos en los parámetros productivos de la planta, en vez de tomar el número de nódulos que se desarrollan.

El número de nódulos está determinado por la tasa de N suministrado y N demandado (Voisin et al., 2010). Las plantas del control con N presentaron nodulación, a pesar de que está descrito en trabajos previos que a dosis superiores a 30 kg N ha⁻¹, como los 40 kg N ha⁻¹ que se aplicaron en este ensayo, se reducía la nodulación temprana (Hungria et al., 2003). Este hecho pone de manifiesto que el grado de tolerancia al N es un factor variable ligado al genotipo, y posiblemente las dos variedades utilizadas por Hungria et al. (2003) serían muy sensibles al N. Rennie et al. (1983) aplicaron una dosis de 40 kg N ha⁻¹ y detectaron variedades que sufrían solo una reducción de 10% en la fijación de N, mientras en otras la diferencia fue de 60%. En el caso de PMB-0286 y PMB-0244, esta dosis de N en la fase vegetativa inicial pudo tener un efecto “starter”, que permitió el desarrollo de la planta y unos niveles de C altos, que favorecieron un mejor crecimiento nodular (Vessey et al., 1992).

El promedio de la materia seca nodular (**MSNod**) en regadío fue de 29,10 mg planta⁻¹ (**Tabla 6.8**). Las variedades que destacan de forma significativa fueron PMB-0286 y PMB-0285 con MSNod superiores a los 30 mg planta⁻¹. PHA-0155 fue la única variedad de crecimiento indeterminado ensayada y con 16,25 mg planta⁻¹, tuvo una MSNod intermedia. Según Vessey et al. (1992), sería esperable un valor superior, ya que las variedades con crecimiento indeterminado continúan acumulando MSNod durante la fase de llenado. Este bajo valor pudo deberse al hecho de que las plantas fueron recolectadas en la fase de floración y no se llegó alcanzar su máximo potencial. Las plantas inoculadas con CNF42 registraron el máximo valor de MSNod con 30,40 mg planta⁻¹ y fue también con esta cepa con la que se obtuvo el mayor valor de nuNod. Sin embargo LTMF con PMB-02886 registró la mayor MSNod con 94,07 mg planta⁻¹. Existe una relación directa entre MSNod y MSS, pero la relación varía en función del rendimiento MSS/MSNod. En la **Figura 6.1.** se puede observar como a medida que la MSNod aumenta, la cantidad de MSS por mg de MSNod decrece. Las combinaciones variedad-cepa se pueden agregar en siete grupos en función de sus

6. Tercer Experimento

Tabla 6.8. Medias en regadío de las variedades y cepas de materia seca nodular por planta (**MSNod**) (mg planta^{-1}). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

MSNod (mg planta^{-1}) Regadío	Cepa						\bar{Y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	8,60	43,40	25,55	11,28	16,55	17,80	16,25
PHA-0432	4,17	12,12	15,82	4,63	19,35	5,20	8,49
PHA-0471	15,43	26,72	28,15	5,42	9,08	9,83	11,53
PHA-0483	9,48	8,25	13,97	8,98	16,87	12,43	11,85
PHA-0683	6,23	18,40	27,93	13,37	18,30	6,28	12,43
PMB-0220	17,90	24,60	30,33	11,77	21,22	13,95	17,08
PMB-0222	9,00	14,88	33,82	17,27	17,38	18,23	25,74
PMB-0244	6,32	4,55	4,58	2,90	4,47	8,35	9,34
PMB-0285	9,60	24,45	60,23	22,87	15,48	63,08	30,57
PMB-0286	30,68	14,83	63,63	14,80	26,63	9,40	33,87
\bar{Y}	11,74	19,22	30,40	11,33	16,53	16,46	17,71

MSNod (mg planta^{-1}) Regadío	Cepa						\bar{Y}
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	6,75	5,85	17,23	18,18	19,31	4,55	16,25
PHA-0432	5,23	3,97	2,47	12,98	7,72	8,25	8,49
PHA-0471	8,10	5,10	5,65	10,95	9,58	4,35	11,53
PHA-0483	5,53	9,17	6,13	15,52	18,25	17,67	11,85
PHA-0683	15,12	10,37	6,00	6,73	13,18	7,20	12,43
PMB-0220	11,37	9,82	7,05	20,83	25,08	11,02	17,08
PMB-0222	48,95	22,87	15,97	74,97	29,35	6,15	25,74
PMB-0244	5,37	3,02	3,73	1,38	4,43	63,00	9,34
PMB-0285	76,20	10,37	41,52	20,12	14,20	8,68	30,57
PMB-0286	12,38	39,63	32,97	94,07	29,85	37,52	33,87
\bar{Y}	19,50	12,02	13,87	27,57	17,10	16,84	17,71

LSD_{VARIEDAD} = 11,79

LSD_{CEPA} = 12,91

$\alpha=0,05$

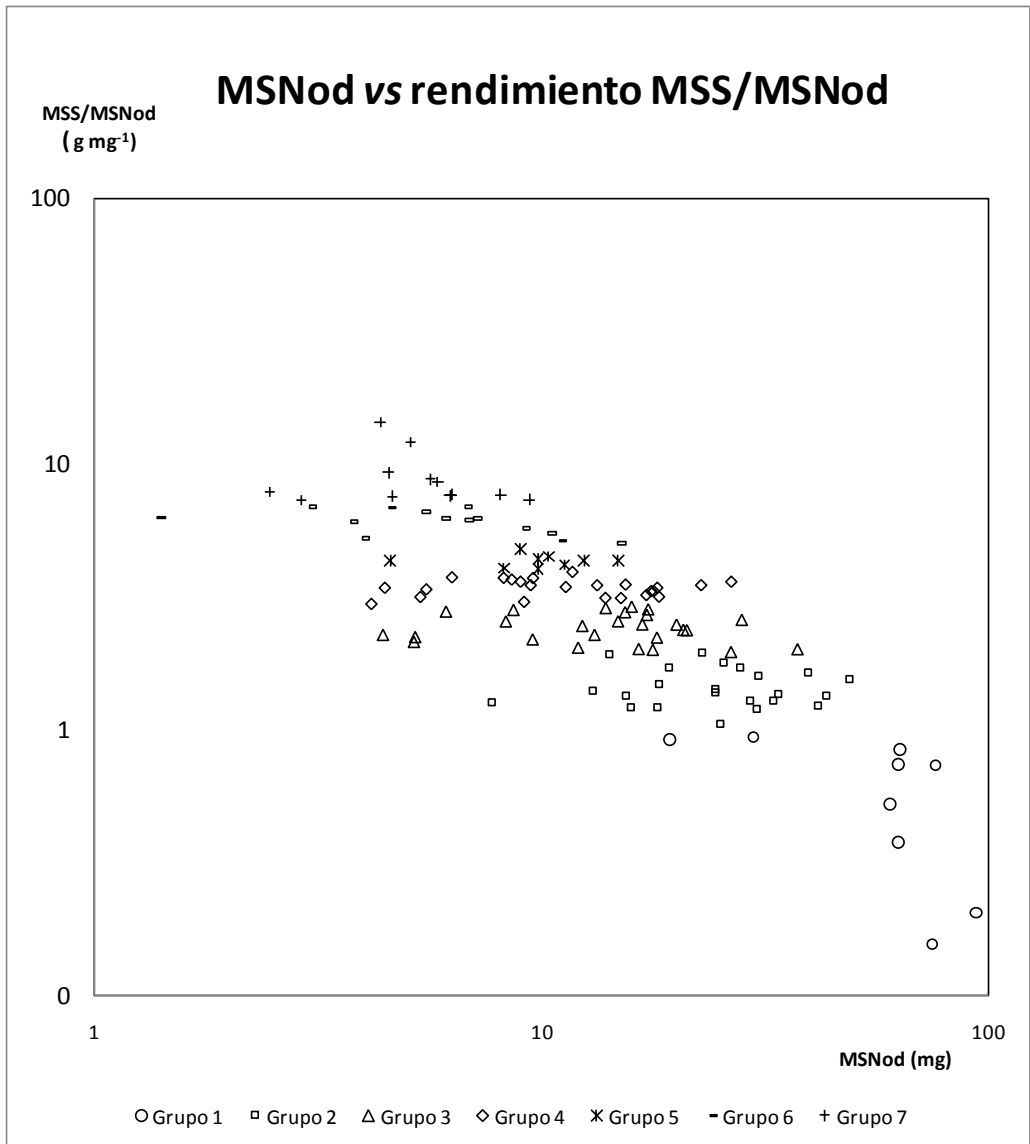


Figura 6.1. Gráfica de MSNod vs rendimiento de MSS/MSNod en regadío en escala logarítmica. Grupo 1 corresponde a las rendimientos 0–0,99 g mg^{-1} . Grupo 2 corresponde a las rendimientos 1,00–1,99 g mg^{-1} . Grupo 3 corresponde a las rendimientos 2,00–2,99 g mg^{-1} . Grupo 4 corresponde a las rendimientos 3,00–3,99 g mg^{-1} . Grupo 5 corresponde a las rendimientos 4,00–4,99 g mg^{-1} . Grupo 6 corresponde a las rendimientos 5,00–6,99 g mg^{-1} . Grupo 7 corresponde a las rendimientos 7,00–14,99 g mg^{-1} .

6. Tercer Experimento

rendimientos. El primer grupo correspondería a combinaciones variedad-cepa con rendimientos entre 0,01 y 0,99 g MSS mg⁻¹ MSNod, eran plantas con grandes nodulaciones donde su producción de MSS no guardaba ninguna relación con MSNod. Como ocurría en trabajos previos, para las plantas de este grupo los nódulos suponen un sumidero de C (Galvez et al., 2005; Bourion et al., 2007; Araya et al., 2010). El segundo grupo lo forman aquellas combinaciones con rendimientos comprendidos entre 1,00 y 1,99 g MSS mg⁻¹ MSNod, y en él que empieza a observar una mayor correlación entre MSNod y MSS, pero sin llegar a ser significativa. En cambio la relación entre MSNod y MSS del resto de los grupos es significativa (P<0,0001). En la **Figura 6.2** aparecen las gráficas MSNod vs MSS de los grupos 3, 4, 5 y 6, donde se observa la relación lineal entre MSNod y MSS, y como las pendientes de las rectas de regresión varían de forma creciente desde 2,131 para el grupo 3 al 4,813 para el grupo 6. En el grupo 7, la relación lineal entre MSS y MSNod no fue significativa. Está formado por plantas de muy baja nodulación, pero con los mejores rendimientos MSS/MSNod. Estos altos rendimientos podrían deberse a que un tercio de las combinaciones corresponden a variedades del control con N, en los que la mejora del rendimiento se debe más al suplemento de N que a la FBN. En trabajos previos se admite que ciertas variaciones que aparecen en los registros de nodulación son debidos a una recolección incompleta del sistema radicular (Hungria et al., 2003), y este hecho podría explicar en parte los altos rendimientos de MSNod que experimentaban las combinaciones de este último grupo.

El primer parámetro que se analizará relacionado con la partición de N en la planta es el porcentaje de N en la materia seca aérea (**PNMSA**), cuyo valor medio en regadío fue el 3,15% (**Tabla 6.9**). PHA-0483, PHA-0683 y PHA-0432 con un valor que ronda 3,40%, fueron las variedades con mayor PNMSA. En cambio PHA-0155 obtuvo los porcentajes significativamente más bajos en todas las cepas y controles, con un valor medio de 2,53%. Las plantas del control con N y las inoculadas con CIAT899 y

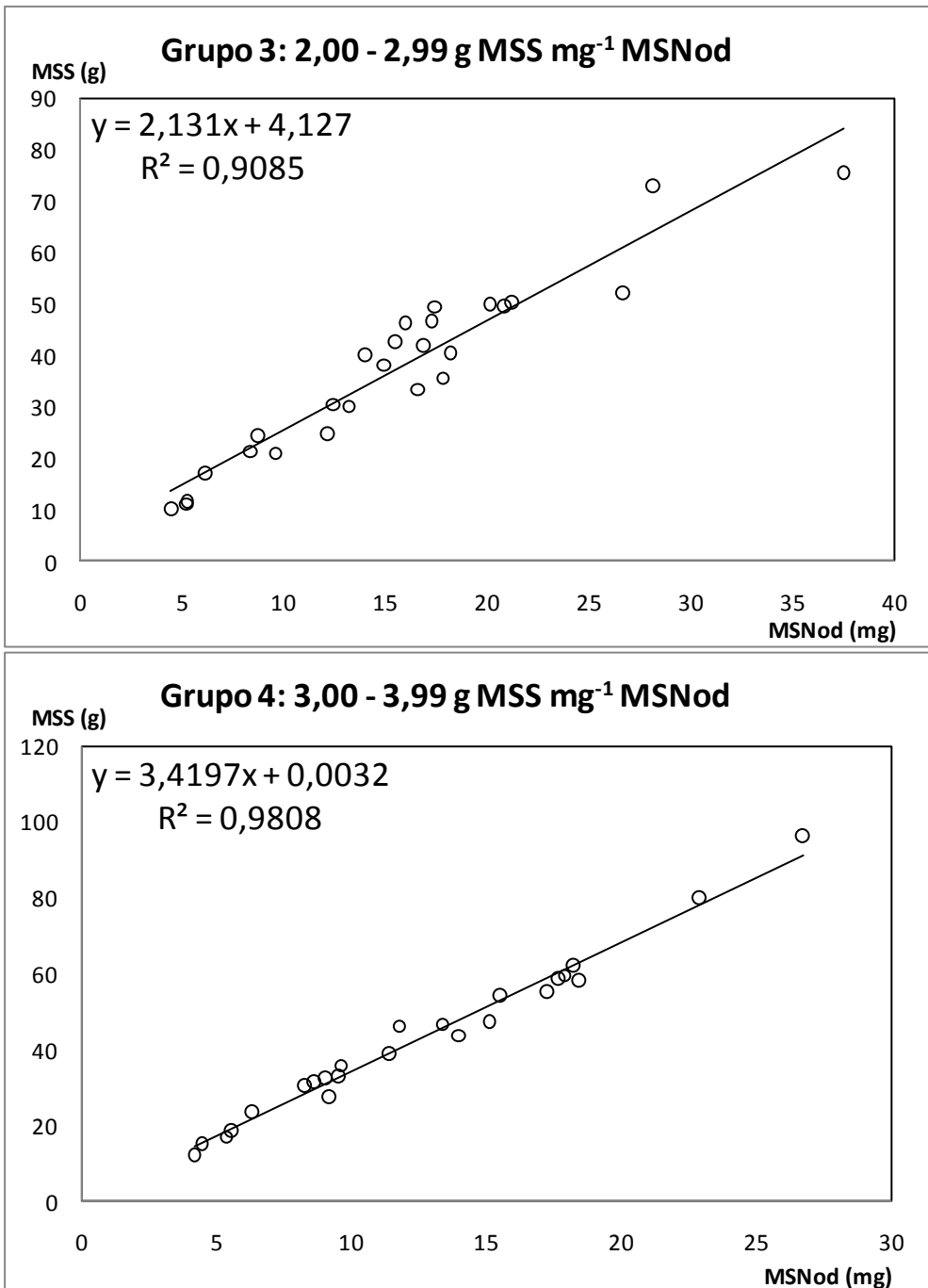


Figura 6.2. MSNod vs MSS en regadío. A) Grupo 3, B) Grupo 4, C) Grupo 5 y D) Grupo 6.

6. Tercer Experimento

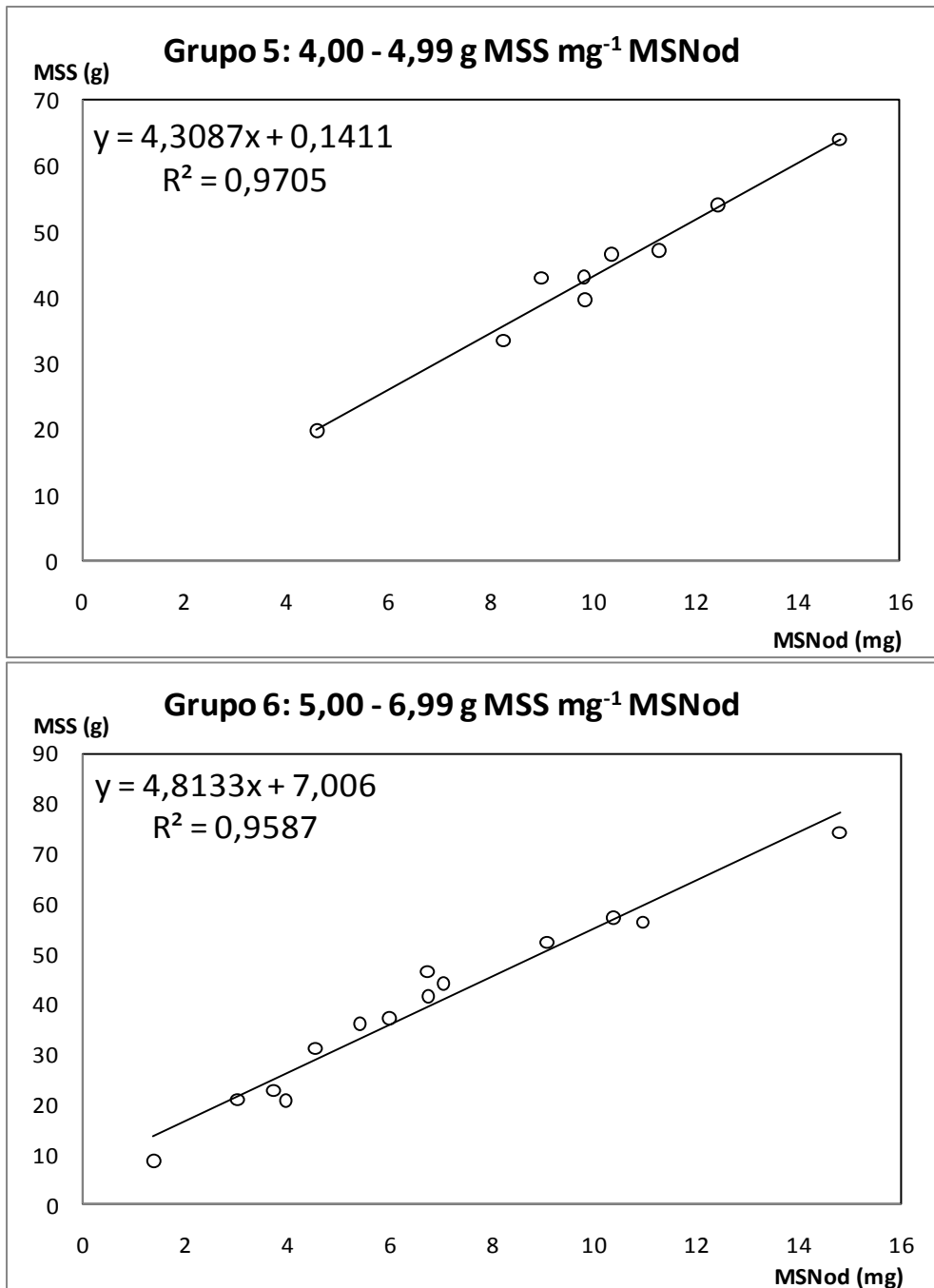


Figura 6.2. (Continuación)

6. Tercer Experimento

Tabla 6.9. Medias en regadío de las variedades y cepas del porcentaje de N en materia seca aérea (**PNMSA**) (%). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

PNMSA (%) Regadío	Cepa						\bar{Y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	2,29	2,61	2,56	2,51	2,61	2,83	2,53
PHA-0432	2,88	3,60	3,78	3,32	3,66	3,20	3,37
PHA-0471	3,05	3,35	3,46	2,86	3,55	3,13	3,19
PHA-0483	3,26	3,90	3,62	3,51	3,07	3,42	3,44
PHA-0683	2,75	3,93	3,74	3,47	3,17	3,71	3,37
PMB-0220	2,98	3,19	3,34	3,28	3,32	3,02	3,14
PMB-0222	2,84	3,35	3,20	3,07	3,01	3,16	3,08
PMB-0244	2,75	3,09	3,13	3,05	3,14	2,94	3,01
PMB-0285	3,27	3,25	3,38	3,22	3,27	3,06	3,16
PMB-0286	3,08	3,55	3,35	3,18	3,21	3,29	3,18
\bar{Y}	2,92	3,38	3,36	3,15	3,20	3,18	3,15

PNMSA (%) Regadío	Cepa						\bar{Y}
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	2,71	2,44	2,24	2,30	2,41	2,81	2,53
PHA-0432	3,16	3,37	3,47	3,07	3,10	3,79	3,37
PHA-0471	3,28	3,15	3,28	3,03	2,99	3,19	3,19
PHA-0483	3,44	3,07	3,42	3,18	3,47	3,96	3,44
PHA-0683	3,19	3,47	3,35	2,90	3,62	3,16	3,37
PMB-0220	2,95	3,09	2,91	2,72	3,09	3,75	3,14
PMB-0222	2,97	3,09	3,15	2,77	3,13	3,24	3,08
PMB-0244	2,95	3,16	2,80	2,81	3,31	3,03	3,01
PMB-0285	3,19	2,90	2,82	2,96	3,34	3,28	3,16
PMB-0286	3,04	2,98	2,99	2,77	3,35	3,36	3,18
\bar{Y}	3,09	3,07	3,04	2,85	3,18	3,36	3,15

LSD_{VARIEDAD} = 0,14

LSD_{CEPA} = 0,16

$\alpha=0,05$

6. Tercer Experimento

CFN42 fueron significativamente superiores al resto con 3,36%, mientras las inoculadas con SLL2 y LTMF, con 2,90% fueron las más bajas. PNMSA puede ser muy estable respecto MSA como ocurre en la variedad PMB-0222 o puede disminuir al aumentar la MSA como le ocurre a PHA-0683 y PMB-0220 (**Figura 6.3**). Este hecho se puede interpretar como que la estabilidad de PNMSA está en función de lo limitante que pueda ser el N para cada variedad, cuanto más estable es este porcentaje más limitante debe ser el N para la planta.

El promedio de N acumulado en la materia seca aérea (**NMSA**) en regadío fue 1,06 g planta⁻¹ (**Tabla 6.10**). PHA-0471 y PMB-0285 fueron significativamente superiores, con 1,57 y 1,49 g planta⁻¹ respectivamente. Las plantas inoculadas con la cepa LTMF fueron las que obtuvieron la mayor NMSA, 1,22 g planta⁻¹, mientras el control cero y el suplemento de N tuvieron un valor significativamente inferior al de las plantas inoculadas.

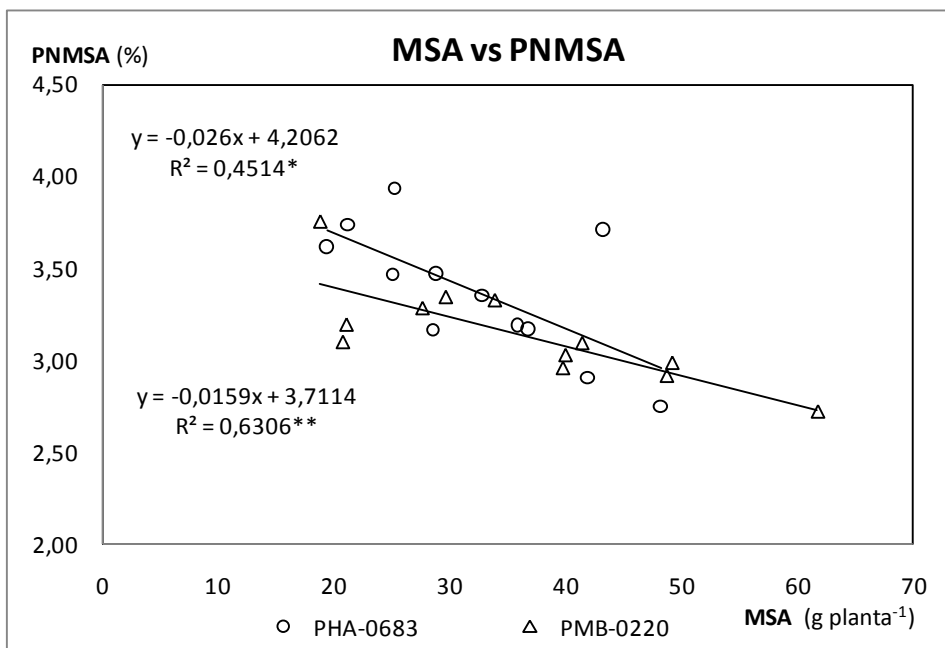


Figura 6.3: Relación MSA vs PNMSA de las variedades PHA-0683 y PMB-0220.
** P<001 y * P<0,01.

6. Tercer Experimento

Tabla 6.10. Medias en regadío de las variedades y cepas del contenido de N en materia seca aérea (NMSA) (g planta⁻¹). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

NMSA (g planta ⁻¹) Regadío	Cepa						\bar{Y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	1,14	1,18	0,94	1,03	0,82	0,93	1,05
PHA-0432	0,66	0,62	0,74	0,75	0,75	0,39	0,67
PHA-0471	1,42	1,63	1,06	1,45	1,51	2,21	1,57
PHA-0483	1,13	0,58	0,66	0,49	0,55	0,33	0,61
PHA-0683	1,35	1,00	0,96	0,87	1,16	1,59	1,08
PMB-0220	1,47	0,65	0,97	0,91	1,13	1,24	1,10
PMB-0222	1,11	1,48	1,11	0,95	1,25	1,28	1,18
PMB-0244	0,81	0,48	0,44	0,56	0,50	0,87	0,65
PMB-0285	1,90	1,26	1,27	1,24	1,68	1,31	1,49
PMB-0286	1,51	1,14	1,01	1,29	1,20	1,62	1,18
\bar{Y}	1,25	1,00	0,91	0,95	1,06	1,18	1,06

NMSA (g planta ⁻¹) Regadío	Cepa						\bar{Y}
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	1,31	0,86	1,09	1,14	1,25	0,91	1,05
PHA-0432	0,48	0,63	1,20	0,54	0,72	0,54	0,67
PHA-0471	1,85	1,44	1,88	2,26	0,68	1,44	1,57
PHA-0483	0,56	0,42	0,39	1,11	0,46	0,68	0,61
PHA-0683	1,12	1,00	1,08	1,22	0,69	0,90	1,08
PMB-0220	1,18	1,28	1,41	1,67	0,65	0,71	1,10
PMB-0222	1,15	1,71	1,24	1,41	0,66	0,81	1,18
PMB-0244	0,53	0,90	0,38	1,14	0,59	0,59	0,65
PMB-0285	0,74	1,60	1,40	2,11	1,07	2,25	1,49
PMB-0286	1,06	1,20	1,32	0,67	0,71	1,39	1,18
\bar{Y}	1,00	1,10	1,14	1,33	0,75	1,02	1,06

LSD_{VARIEDAD} = 0,14

LSD_{CEPA} = 0,15

$\alpha=0,05$

6. Tercer Experimento

PHA-0471 con LTMF y PMB-0285 con el control con N fueron las combinaciones con mayor acumulación de N, con valores cercanos a $2,25 \text{ g planta}^{-1}$. La fijación de N puede suponer del 35 al 70% del N de la planta (Hardarson y Atkins, 1993), por lo que sería lógico esperar que MSNod tuviese alguna correlación con NMSA, aunque en este ensayo no se ha observado.

El porcentaje medio de N en materia seca de semilla (**PNMSS**) está determinado por la variedad y las condiciones de cultivo (Mutschler y Bliss, 1981). En regadío el porcentaje medio fue de 3,75% (**Tabla 6.11**). PHA-0471 y PMB-0285, rondando el 4% de PNMSS, fueron significativamente superiores al resto de las variedades. Las plantas inoculadas con EXIC, CNF42, CIAT899, EXIB, EG y la parcela control con suplemento de N, tuvieron medias mayores de 3,74% y significativamente superiores al resto. El máximo valor de 4,28% de PNMS lo alcanzó la combinación PHA-0471 con EXIC, que fue superior al obtenido por Escribano et al. (1997). PNMSS fue un valor estable en todas las variedades y no fluctuó en función de MSS.

Existe un gran rango de producciones de N en la materia seca de semilla (**NMSS**), que va de $0,12$ a $3,83 \text{ g planta}^{-1}$ (**Tabla 6.12**). NMSS en regadío tuvo un valor medio de $1,53 \text{ g planta}^{-1}$. PHA-0471 y PMB-0286 tuvieron medias significativamente superiores de $2,22$ y $1,96 \text{ g planta}^{-1}$, respectivamente. Las plantas inoculadas con CIAT899, EXIC, EPOB y la parcela con suplemento de N tuvieron medias superiores a $1,70 \text{ g planta}^{-1}$. El máximo valor en regadío fue $3,83 \text{ g planta}^{-1}$ y lo alcanzó PHA-0471 con CIAT899. A pesar de que existen trabajos en guisante donde se han identificado QTLs de acumulación de N y de nodulación en zonas muy cercanas (Beattie et al., 2003, Bourion et al., 2010), solo se ha encontrado cierta correlación positiva entre NMSS y MSNod en las variedades PHA-0471 y PMB-0244 (**Figura 6.4**). La movilidad del N está regulado genéticamente (Vasilas et al., 1995), pero la mayor o menor movilización del N no está correlacionado con la producción de semilla (Kurdali et al., 1996).

6. Tercer Experimento

Tabla 6.11. Medias en regadío de las variedades y cepas del porcentaje de N en materia seca semilla (PNMSS) (%). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

PNMSS (%) Regadío	Cepa						\bar{Y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	3,67	3,68	3,47	3,68	3,59	3,33	3,54
PHA-0432	3,45	3,97	4,18	3,83	3,83	3,72	3,77
PHA-0471	3,96	3,96	4,07	4,28	4,05	4,07	4,08
PHA-0483	3,35	3,81	3,56	3,65	3,69	3,56	3,53
PHA-0683	3,57	3,41	3,48	3,62	3,24	3,54	3,49
PMB-0220	3,68	3,84	4,16	3,88	3,92	3,74	3,84
PMB-0222	3,89	3,81	3,70	3,93	3,48	3,69	3,69
PMB-0244	4,12	3,81	3,70	4,23	4,14	3,90	3,82
PMB-0285	3,98	3,99	4,04	3,88	3,93	4,01	3,98
PMB-0286	3,59	3,66	3,72	3,89	3,80	3,88	3,76
\bar{Y}	3,73	3,79	3,81	3,89	3,77	3,74	3,75

PNMSS (%) Regadío	Cepa						\bar{Y}
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	3,33	3,40	3,46	3,66	3,68	3,50	3,54
PHA-0432	3,48	3,85	3,90	3,78	3,41	3,90	3,77
PHA-0471	4,14	4,15	4,28	4,02	4,03	4,01	4,08
PHA-0483	3,84	3,18	3,41	3,49	3,03	3,84	3,53
PHA-0683	3,33	3,70	3,43	3,57	3,52	3,44	3,49
PMB-0220	3,53	3,95	3,81	3,69	3,85	4,03	3,84
PMB-0222	3,41	3,59	3,65	3,72	3,76	3,66	3,69
PMB-0244	3,89	3,61	3,44	3,69	3,76	3,56	3,82
PMB-0285	4,13	4,01	4,04	3,84	3,95	3,98	3,98
PMB-0286	3,93	3,83	3,76	3,70	3,55	3,85	3,76
\bar{Y}	3,70	3,73	3,72	3,72	3,65	3,77	3,75

LSD_{VARIEDAD} = 0,15

LSD_{CEPA} = 0,16

$\alpha=0,05$

6. Tercer Experimento

Tabla 6.12. Medias en regadío de las variedades y cepas del contenido de N en materia seca de semilla (NMSS) (g planta^{-1}). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

NMSS (g planta^{-1}) Regadío	Cepa						\bar{Y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	1,15	2,06	1,54	1,74	1,20	1,18	1,50
PHA-0432	0,43	0,99	0,79	1,38	0,68	0,42	0,74
PHA-0471	1,67	3,83	2,95	1,55	2,11	1,61	2,22
PHA-0483	1,12	1,26	1,44	1,60	1,55	1,89	1,23
PHA-0683	1,69	1,97	1,67	1,69	0,88	1,71	1,63
PMB-0220	2,20	1,31	1,58	1,77	1,97	1,64	1,77
PMB-0222	1,22	1,47	1,70	1,84	1,71	2,31	1,77
PMB-0244	1,00	1,19	0,73	0,90	0,63	0,87	0,82
PMB-0285	1,42	1,37	1,27	1,71	2,15	0,96	1,62
PMB-0286	1,75	2,33	1,98	2,88	1,98	2,68	1,96
\bar{Y}	1,37	1,78	1,56	1,71	1,49	1,53	1,53

NMSS (g planta^{-1}) Regadío	Cepa						\bar{Y}
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	1,38	1,73	1,92	1,45	1,21	1,48	1,50
PHA-0432	0,43	0,80	0,76	0,69	0,34	1,20	0,74
PHA-0471	2,59	2,57	2,10	2,27	0,85	2,50	2,22
PHA-0483	0,71	0,90	0,59	0,74	0,67	2,31	1,23
PHA-0683	1,61	1,72	1,31	1,67	1,07	2,57	1,63
PMB-0220	1,37	1,71	1,67	1,83	1,02	3,11	1,77
PMB-0222	2,60	2,86	1,70	0,44	1,41	2,02	1,77
PMB-0244	0,66	0,76	0,78	0,33	0,37	1,66	0,82
PMB-0285	2,27	2,28	2,06	1,92	1,09	0,98	1,62
PMB-0286	1,23	2,49	1,60	0,72	1,01	2,89	1,96
\bar{Y}	1,48	1,78	1,45	1,20	0,90	2,07	1,53

LSD_{VARIEDAD} = 0,34

LSD_{CEPA} = 0,38

$\alpha=0,05$

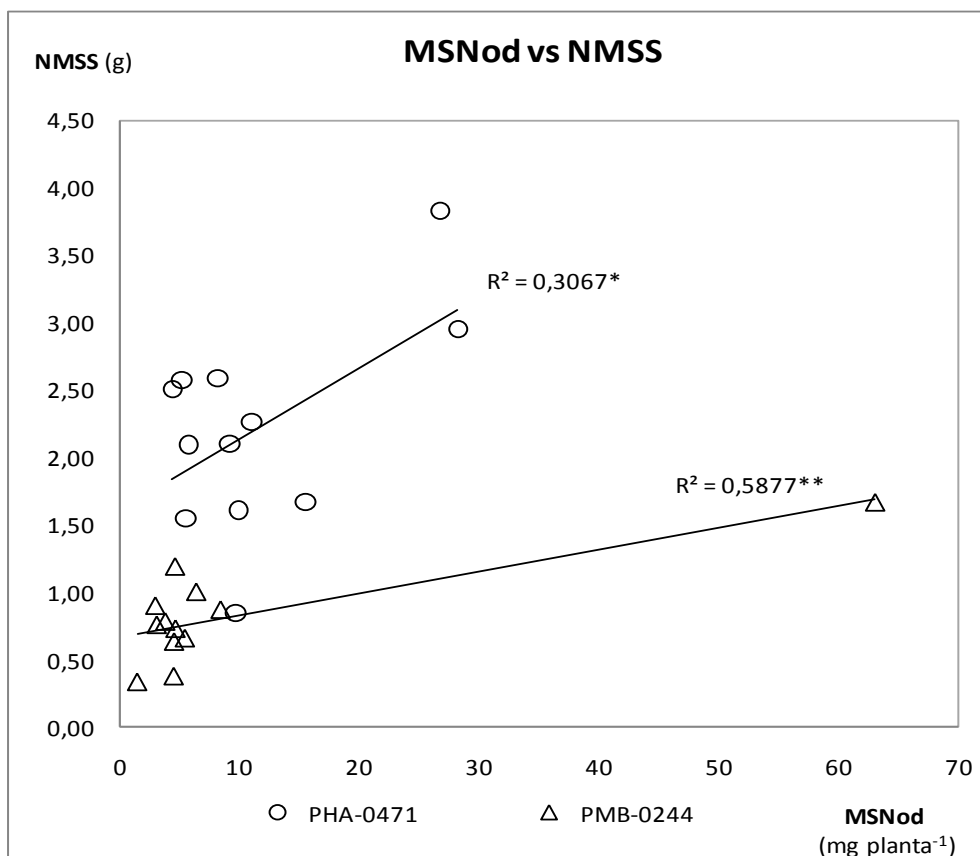


Figura 6.4: Relación NMSS vs MSNod de las variedades PHA-0471 y PMB-0244.
 ** $P < 0,001$ y * $P < 0,01$

La máxima tasa de FBN se produce antes de la floración, y fue en floración cuando se determinó NMSA, observándose que a mayor MSNod menor NMSA. Sería lógico pensar que MSNod actuaría como sumidero de N y solo cuando se inicia la fase de llenado este N se movilizaría hacia los semillas.

El estrés hídrico supone en términos generales una disminución del 46% de MSA, situándose la media de MSA en $18,67 \text{ g planta}^{-1}$ (**Tabla 6.13**). PHA-0471 a pesar de sufrir una reducción de $22,50 \text{ g planta}^{-1}$ se mantuvo, junto a la variedad PMB-0285, PHA-0155 Y PMB-0286 como las variedades con mayor producción de MSA.

6. Tercer Experimento

Tabla 6.13. Medias en sequía de las variedades y cepas de la producción de materia seca aérea (MSA) (g planta⁻¹). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

MSA (g planta ⁻¹) Sequía	Cepa						ȳ
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	28,50	19,05	20,70	23,73	28,04	21,53	25,14
PHA-0432	15,91	10,30	12,75	12,61	12,07	8,66	11,29
PHA-0471	35,92	28,65	24,03	24,19	25,32	22,46	26,53
PHA-0483	13,00	8,03	8,54	9,31	12,72	5,55	8,88
PHA-0683	18,81	13,50	14,99	15,56	11,49	13,85	15,16
PMB-0220	10,82	12,19	14,80	17,28	20,32	19,34	18,25
PMB-0222	13,74	14,86	15,80	23,94	22,34	24,88	20,01
PMB-0244	19,63	7,41	9,82	14,72	12,38	13,55	11,75
PMB-0285	27,69	20,78	34,33	16,89	32,88	31,63	26,10
PMB-0286	32,23	13,65	19,75	30,61	24,64	35,74	23,60
ȳ	21,62	14,84	17,55	18,88	20,22	19,72	18,67

MSA (g planta ⁻¹) Sequía	Cepa						ȳ
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	22,45	24,61	36,36	38,95	21,01	16,72	25,14
PHA-0432	7,54	12,94	15,38	13,24	5,14	8,95	11,29
PHA-0471	30,69	22,88	36,36	41,51	9,95	16,39	26,53
PHA-0483	7,42	8,49	10,06	10,39	5,84	7,27	8,88
PHA-0683	17,66	15,51	14,82	22,94	6,88	15,91	15,16
PMB-0220	28,95	18,45	22,90	29,65	17,03	7,32	18,25
PMB-0222	32,20	28,08	17,49	20,42	11,78	14,55	20,01
PMB-0244	9,46	10,10	12,67	17,13	6,18	7,97	11,75
PMB-0285	13,54	30,06	36,88	42,68	15,21	10,59	26,10
PMB-0286	22,79	32,89	31,28	13,15	11,63	14,81	23,60
ȳ	19,27	20,40	23,42	25,00	11,06	12,05	18,67

LSD_{VARIEDAD} = 2,34

LSD_{CEPA} = 2,57

α = 0,05

Las plantas inoculadas con LTMF y APAFI son las de mayor MSA media, 25 g planta⁻¹, mientras las plantas de los dos controles fueron significativamente inferiores a todas las plantas inoculadas.

En condiciones de estrés hídrico los valores de MCS presentaron una reducción del 17 % (**Tabla 6.14**), aunque esta variación no fue uniforme para todas las variedades. PHA-0471, PHA-0683, PMB-0222 y PMB-0285, tendrían una MCS estable al estrés hídrico, pues las variaciones que se producen no llegan a ser significativas. Singh (2007) interpreta que se debe a que el estrés hídrico produce un aborto parcial de las semillas, que genera un mayor reparto de los fotosintetizados en las pocas semillas que quedan. Algo similar añade Sadras (2007) ya que observa que la poca variabilidad en el tamaño de las semillas está asociada con cierta plasticidad en el número de semillas por vaina. La estabilidad de MCS frente al estrés hídrico no está ligada al tamaño de semilla, ya que PMB-0222 tiene semillas grandes (40,57 g 100 semillas⁻¹) y tanto PMB-0285 como PMB-0286 tienen semillas pequeñas (14,71 g 100 semillas⁻¹). Según White y González (1990), el pool genético representado por las variedades de semilla pequeña han acumulado mayor cantidad de genes relacionados con alta productividad en condiciones de estrés hídrico. La sequía supuso una reducción en el rango de variación en cuatro puntos porcentuales y PHA-0483 fue la que más concentró sus valores, pasando de un CV de 40 % en regadío al 23 % en condiciones de estrés hídrico. Las plantas inoculadas con LTMF, SLL2, EPOB, APAFI y EF, fueron las que mayores valores de MCS obtuvieron. En cambio, el control con N al sufrir una pérdida del 53% pasa a tener la media más baja con 21,14 g 100 semillas⁻¹. En trabajos previos, plantas abonadas con N sometidas a estrés hídrico también sufrían reducciones similares que se atribuían a un cambio de sentido en balance del N planta-suelo (Harper et al., 1989).

6. Tercer Experimento

Tabla 6.14 Medias en sequía de las variedades y cepas de la masa de 100 semillas (**MCS**) ($\text{g } 100\text{semillas}^{-1}$). También aparece la diferencia menos significativa (**LSD**) para variedades y cepas.

MCS ($\text{g } 100\text{semillas}^{-1}$) Sequía	Cepa						\bar{Y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	45,14	33,85	29,28	32,92	33,10	40,13	35,03
PHA-0432	46,80	24,46	24,50	28,51	30,33	24,50	32,07
PHA-0471	17,56	12,29	9,61	11,62	12,78	13,16	13,07
PHA-0483	18,55	17,36	23,08	18,40	25,78	17,82	22,73
PHA-0683	36,68	23,44	28,03	30,59	28,78	41,13	34,99
PMB-0220	20,15	19,67	17,94	21,42	25,83	22,81	24,92
PMB-0222	50,43	34,99	59,87	49,66	38,00	28,38	40,57
PMB-0244	38,34	24,04	31,26	30,23	26,80	12,72	30,33
PMB-0285	17,09	12,26	17,07	9,03	11,06	14,39	14,71
PMB-0286	18,10	12,25	12,04	9,43	16,06	13,68	14,71
\bar{Y}	30,88	21,46	25,27	24,18	24,85	22,87	26,31

MCS ($\text{g } 100\text{semillas}^{-1}$) Sequía	Cepa						\bar{Y}
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	41,91	40,47	37,03	22,73	34,82	28,92	35,03
PHA-0432	47,44	32,71	50,01	21,71	31,00	22,90	32,07
PHA-0471	14,63	9,43	12,69	14,48	14,49	14,15	13,07
PHA-0483	15,13	30,17	24,27	30,81	26,79	24,62	22,73
PHA-0683	32,52	47,57	38,54	46,34	41,43	24,84	34,99
PMB-0220	37,97	14,69	33,94	39,44	19,40	25,75	24,92
PMB-0222	47,67	43,32	24,84	55,83	30,33	23,51	40,57
PMB-0244	24,52	41,81	35,96	47,32	31,41	19,52	30,33
PMB-0285	12,76	18,46	12,29	21,52	17,72	12,87	14,71
PMB-0286	15,20	17,54	21,08	14,32	12,49	14,36	14,71
\bar{Y}	28,98	29,62	29,06	31,45	25,99	21,14	26,31

LSD_{VARIEDAD} = 4,88 LSD_{CEPA} = 5,35 $\alpha=0,05$

Las plantas en condiciones de estrés hídrico tuvieron un índice de intensidad de sequía (DII) de 0,51, o lo que es lo mismo, una reducción de MSS del 51 % (**Tabla 6.15**). Existe una relación muy estrecha entre MSS, VPP y MCS. En ambiente con estrés hídrico la variedad con mayor MSS sigue siendo PHA-0471 con 27,41 g planta⁻¹. PHA-0432 fue la más tolerante al estrés hídrico con solo un 33 % de reducción, pero a pesar ello sus 12,97 g planta⁻¹ de MSS resultaron ser el valor más bajo, junto con PMB-0244. PMB-0286 con 24,65 g planta⁻¹, sería la variedad más sensible al estrés hídrico pues fue la que experimenta la mayor reducción de MSS, con una bajada de 18,98 vainas planta⁻¹. Las plantas inoculadas con LTMF alcanzaron el mayor valor medio con 25,40 g planta⁻¹, y con PMB-0220 registraron el valor máximo de MSS, 52,88 g planta⁻¹. En cambio, las plantas de los dos controles se encuentran entre los que registraron los valores más bajos de MSS.

El estrés hídrico es una de las principales causas de fallo en la nodulación, afectando a cada uno de los estados de la simbiosis, además de limitar el crecimiento y la supervivencia en el suelo del *Rhizobium* (Hungria et al., 2000; Mnasri et al., 2007). En este ensayo, la nodulación no se vio afectada por el estrés hídrico, pues no se produjo hasta 35 días después de la siembra (DAS). Los nódulos de la nodulación primaria ya pueden ser contabilizados en los 14 DAS (Kipe-Nolt et al., 1993). Una vez formados los nódulos, el estrés hídrico no afecta tanto a nuNod como a MSN, aunque sí existe una disminución en la tasa de FBN (Sinclair et al., 1987). El mantener intacto nuNod y MSN supone una ventaja competitiva, ya que pasado el estrés la planta puede recuperar su actividad de fijación de N (Pfeiffer et al., 1983). El estrés hídrico supone para todas las variedades un aumento en el número de nódulos por planta, aunque este aumento solo puede considerarse significativo en tres variedades: PHA-0432, PHA-0683 y PMB-0285 (**Tabla 6.16**). En algunas variedades como PHA-0683, supone un aumento de 74 nódulos planta⁻¹ que la sitúa con 98,65 nódulos planta⁻¹ como la variedad con mayor nodulación, pero no sería significativamente diferente a

6. Tercer Experimento

Tabla 6.15. Medias en sequía de las variedades y cepas de la producción de materia seca semilla (**MSS**) (g planta^{-1}). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

MSS (g planta^{-1}) Sequía	Cepa						\bar{Y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	21,34	18,84	13,23	15,54	15,68	17,70	16,75
PHA-0432	13,49	9,18	9,05	11,40	10,10	13,75	12,97
PHA-0471	31,71	18,33	46,31	25,72	19,07	30,71	27,41
PHA-0483	18,39	9,75	17,57	10,88	13,65	15,70	15,86
PHA-0683	14,49	12,07	25,74	27,73	20,96	20,62	20,69
PMB-0220	13,78	15,32	22,16	20,04	10,94	23,27	22,48
PMB-0222	31,63	28,64	30,89	42,29	22,71	21,18	27,34
PMB-0244	10,15	3,05	6,41	10,53	8,95	3,97	7,74
PMB-0285	21,70	24,79	20,82	16,91	18,96	16,22	22,72
PMB-0286	20,60	23,11	16,53	20,03	23,53	28,21	24,65
\bar{Y}	19,73	16,31	20,87	20,11	16,46	19,13	19,86

MSS (g planta^{-1}) Sequía	Cepa						\bar{Y}
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	15,90	22,50	15,09	15,70	21,03	8,42	16,75
PHA-0432	24,46	8,64	20,78	12,02	9,41	13,33	12,97
PHA-0471	29,06	19,09	22,68	31,02	24,29	30,89	27,41
PHA-0483	7,66	15,05	15,31	25,43	20,60	20,35	15,86
PHA-0683	16,97	21,36	27,51	20,09	20,88	19,86	20,69
PMB-0220	41,94	10,29	32,44	52,88	14,32	12,37	22,48
PMB-0222	37,37	23,55	26,46	30,03	17,57	15,73	27,34
PMB-0244	4,56	9,57	12,57	9,54	5,60	7,96	7,74
PMB-0285	21,40	33,24	16,50	33,99	21,91	26,19	22,72
PMB-0286	26,16	23,74	45,15	23,30	17,06	28,40	24,65
\bar{Y}	22,55	18,70	23,45	25,40	17,27	23,35	19,86

LSD_{VARIEDAD} = 5,72

LSD_{CEPA} = 6,27

$\alpha=0,05$

6. Tercer Experimento

Tabla 6.16. Medias en sequía de las variedades y cepas del número de nódulos por planta (**nuNod**). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

nuNod Sequía	Cepa						\bar{Y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	19,83	9,67	101,83	13,50	45,33	22,83	41,96
PHA-0432	80,50	27,00	22,50	65,67	41,67	89,67	48,24
PHA-0471	18,83	22,00	33,33	78,50	35,83	41,00	35,43
PHA-0483	25,00	14,33	30,33	11,00	21,33	16,83	24,15
PHA-0683	55,00	42,00	63,00	159,67	243,00	65,67	98,65
PMB-0220	31,33	25,50	99,00	55,33	48,83	32,83	43,72
PMB-0222	69,83	112,83	82,00	45,83	82,00	16,50	63,33
PMB-0244	35,83	18,00	13,33	26,83	11,00	48,83	26,56
PMB-0285	77,33	156,17	30,00	93,33	92,67	71,17	87,28
PMB-0286	60,33	37,17	82,67	107,17	76,33	68,17	75,14
\bar{Y}	47,38	46,47	55,80	65,68	69,80	47,35	54,45

nuNod Sequía	Cepa						\bar{Y}
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	37,67	66,00	20,67	56,67	100,00	9,50	41,96
PHA-0432	66,00	36,00	26,50	18,00	83,17	22,17	48,24
PHA-0471	51,17	18,17	42,17	35,67	25,00	23,50	35,43
PHA-0483	20,83	46,17	20,33	17,00	60,67	6,00	24,15
PHA-0683	117,00	49,33	159,67	65,00	73,33	91,17	98,65
PMB-0220	71,00	22,83	25,83	32,67	46,83	32,67	43,72
PMB-0222	26,17	38,17	78,67	73,83	55,83	78,33	63,33
PMB-0244	8,50	35,00	56,83	14,58	34,50	15,50	26,56
PMB-0285	56,17	119,67	78,17	98,00	73,17	101,50	87,28
PMB-0286	56,50	72,00	97,67	46,00	108,67	89,00	75,14
\bar{Y}	51,10	50,33	60,65	45,74	66,12	46,93	54,45

LSD_{VARIEDAD} = 29,94

LSD_{CEPA} = 32,80

$\alpha=0,05$

6. Tercer Experimento

PMB-0285, PMB-0286 y PMB-0222. En sequía, la variabilidad de los datos de cada cepa fue tan grande, que a pesar de existir un rango entre 45,74 y 69,80 nódulos planta⁻¹, no existen diferencias significativas entre las plantas inoculadas y las de los controles. El valor máximo en condiciones de estrés hídrico fue 243 nódulos planta⁻¹ que fue alcanzado por la combinación PHA-0683 con la cepa EXIC.

Las condiciones de estrés hídrico, también supone un aumento medio de MSNod del 87 %, aunque solo puede considerarse significativo el aumento en PHA-0683 (**Tabla 6.17**). Las variedades con mayor MSNod siguen siendo la PMB-0286 y PMB-0285, con MSNod superiores a los 45 mg planta⁻¹, también fueron las que registraron los valores más altos en el control de N, 71,65 y 76,60 mg planta⁻¹, que en vez de inhibir el crecimiento de nódulos, actuó como “starter”. Entre plantas inoculadas no destacó ninguna cepa, y entre las plantas inoculadas y los controles no hubo diferencias significativas. EXIB y PHA-0683 con 161,07 mg planta⁻¹ alcanzó el mayor valor de MSN.

Las plantas sometidas a estrés hídrico reducen de forma drástico el rendimiento en producción de MSS, pasando de 1,39 g MSS mg⁻¹ MSNod a 0,36 g MSS mg MSNod⁻¹, lo que supone una reducción del 64% en el rendimiento de la MSNod. Al disminuir los rendimientos, se redujeron el número de grupos a cinco, pero se mantuvo la misma tendencia que en regadío por la cual a mayor MSNod menor rendimiento en la producción de MSS (**Figura 6.5**). El primer grupo, con rendimientos entre 0,01 y 0,99 g MSS mg⁻¹ MSNod y el más numeroso (56 combinaciones cepa-variedad), no guardó ninguna linealidad MSNod y MSS. El segundo grupo lo forman aquellas combinaciones que tuvieron unos rendimientos de 1,00 a 1,99 g MSS mg⁻¹ MSNod, en este grupo empieza a verse una mayor correlación entre MSNod y MSS ($R^2=0,792$) pero sin ser significativa. En la **Figura 6.6** aparecen las gráficas MSNod vs MSS de los grupos 3 y 4 donde se observar la relación lineal entre MSNod y MSS. La pendientes de las rectas de regresión varían de forma creciente de 2,224 a 3,440 para los grupos 3 y 4.

6. Tercer Experimento

Tabla 6.17. Medias en sequía de las variedades y cepas de materia seca nodular por planta (**MSNod**) (mg planta⁻¹). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

MSNod (mg planta ⁻¹) Sequía	Cepa						\bar{Y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	8,35	10,75	114,37	14,97	31,53	9,83	32,84
PHA-0432	24,20	2,70	5,22	24,63	3,28	24,93	12,26
PHA-0471	10,07	7,27	11,65	71,85	9,33	21,88	18,40
PHA-0483	7,88	1,40	2,65	6,27	4,52	5,45	8,35
PHA-0683	15,53	4,08	18,40	30,07	161,07	6,57	39,21
PMB-0220	15,18	10,50	130,63	33,15	18,95	8,70	34,97
PMB-0222	30,32	79,55	15,07	16,12	36,68	4,13	28,32
PMB-0244	4,60	15,00	12,35	5,67	3,58	4,77	6,55
PMB-0285	23,12	94,60	10,33	72,78	27,82	25,30	45,47
PMB-0286	43,73	10,42	47,83	50,32	18,48	26,20	46,02
\bar{Y}	18,30	23,63	36,85	32,58	31,53	13,78	27,24

MSNod (mg planta ⁻¹) Sequía	Cepa						\bar{Y}
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	29,42	58,43	16,12	30,52	65,68	4,13	32,84
PHA-0432	20,45	9,68	8,40	2,23	19,03	2,37	12,26
PHA-0471	22,20	12,23	15,53	18,05	12,20	8,48	18,40
PHA-0483	3,32	27,88	15,63	13,62	11,00	0,55	8,35
PHA-0683	54,90	5,88	101,05	15,35	13,92	43,67	39,21
PMB-0220	101,47	8,10	17,45	15,60	46,97	12,97	34,97
PMB-0222	35,88	4,05	20,00	46,55	31,75	19,78	28,32
PMB-0244	5,52	3,02	15,07	1,23	2,88	4,97	6,55
PMB-0285	27,55	76,80	50,58	38,73	26,32	71,65	45,47
PMB-0286	34,13	63,63	63,27	31,37	86,27	76,60	46,02
\bar{Y}	33,48	26,97	32,31	21,33	31,60	24,52	27,24

LSD_{VARIEDAD} = 21,37

LSD_{CEPA} = 23,41

$\alpha=0,05$

6. Tercer Experimento

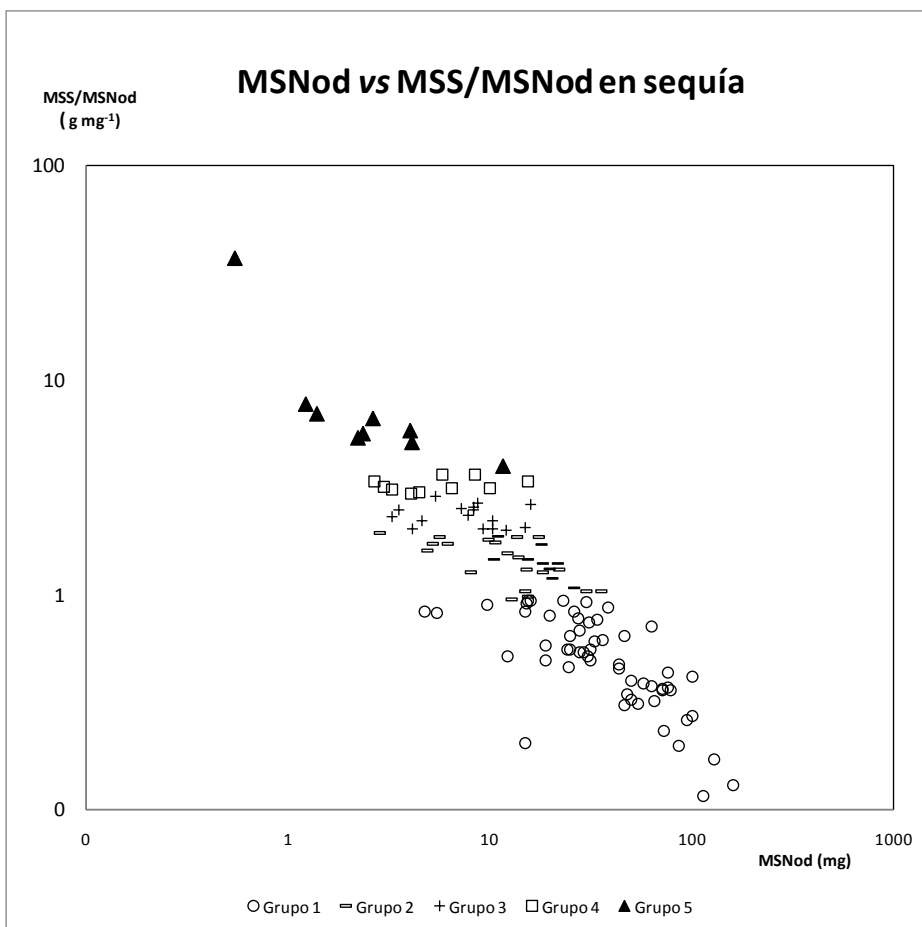


Figura 6.5. Gráfica de MSNod vs rendimiento de MSS/MSNod en sequía en escala logarítmica. Grupo 1 corresponde a las rendimientos 0–0,99 g mg⁻¹. Grupo 2 corresponde a las rendimientos 1,00–1,99 g mg⁻¹. Grupo 3 corresponde a las rendimientos 2,00–2,99 g mg⁻¹. Grupo 4 corresponde a las rendimientos 3,00–3,99 g mg⁻¹. Grupo 5 corresponde a las rendimientos 4,00–9,99 g mg⁻¹

Entre el día 55 y 75 después de la plantación, el 88% de las demandas de N de las vainas provienen de la fijación biológica de N (Kumarasinghe et al., 1992). Las plantas que han sufrido estrés hídrico en este intervalo del ciclo de la planta, experimentan además de una disminución en la MS total de la planta, una importante

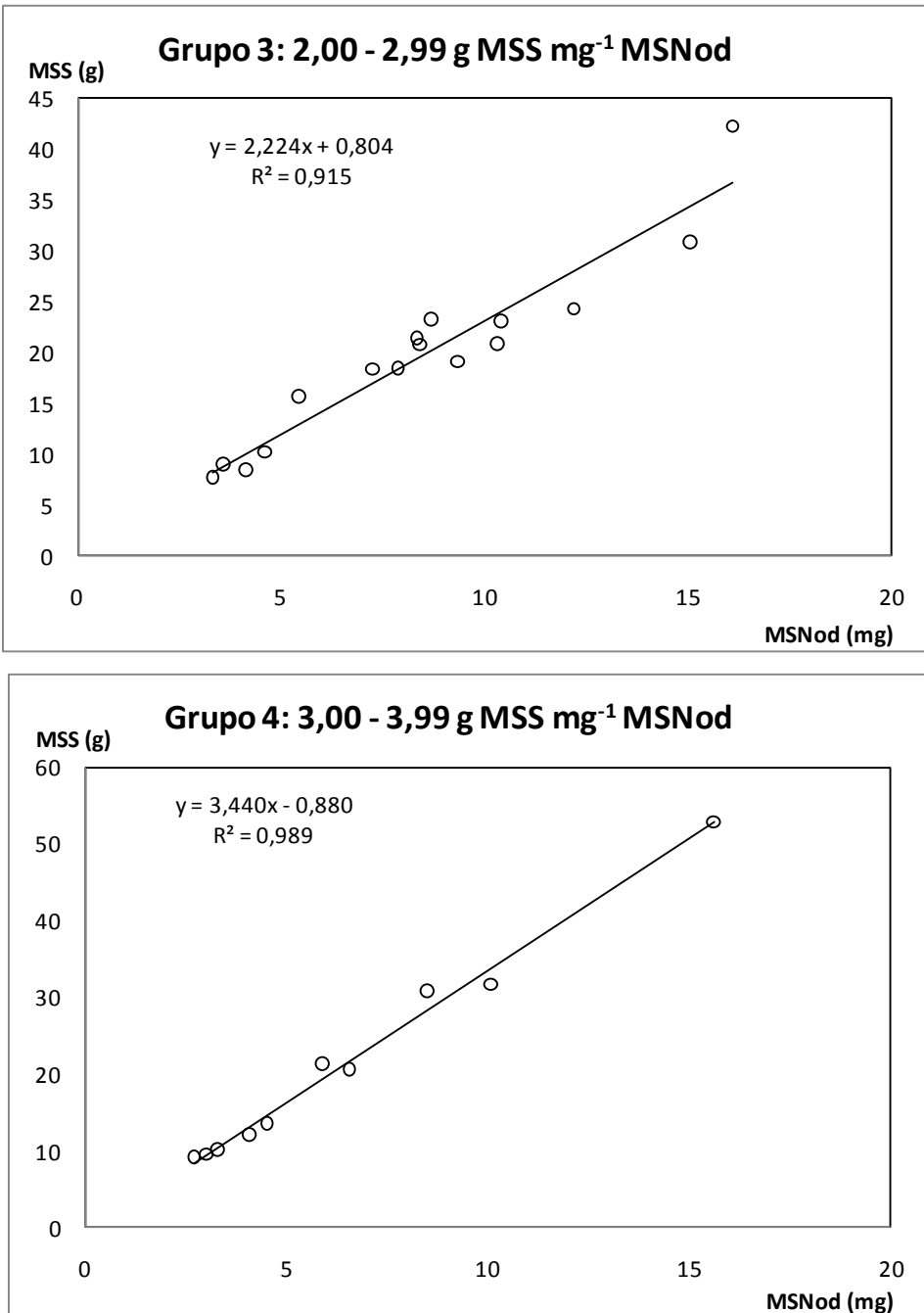


Figura 6.6. MSNod vs MSS en sequía. Grupo 3 corresponde a las rendimientos 2,00 – 2,99 g mg⁻¹. Grupo 4 corresponde a las rendimientos 3,00 – 3,99 g mg⁻¹.

6. Tercer Experimento

disminución de NMSS debido a la disminución en la actividad de la nitrogenasa (Ramos et al., 1999; Mahieu et al., 2008). PNMSA medio en sequía fue 2,65% (**Tabla 6.18**), lo que supone una reducción del 16% respecto a los valores en regadío, y afectó más a las variedades con mayor PNMSA en regadío. PMB-0286, PHA-0471 y PMB-0220 fueron las que experimentaron una menor reducción y las que poseen los mayores PNMSA en condiciones de estrés hídrico. No existen diferencias significativas entre las plantas inoculadas o entre estas y los controles. LTMF con PMB-0286 con 3,38% fue el máximo PNMSA en sequía. Como ocurría en regadío PNMSA puede ser muy estable y no variar al aumentar MSA como PMB-0285, o puede disminuir al aumentar la MSA como le ocurre a PHA-0471. El PNMSA de PMB-0222, PMB-0244, PMB-0285 y PMB-0286, en los dos tratamientos fueron independiente del MSA, por lo que el N en estas variedades fue un factor limitante. En cambio, PHA-0471 y PHA-0483, el N en regadío no fue un factor limitante pero en condiciones de estrés hídrico si lo fue. Y caso contrario ocurrió con PHA-0155, PHA-0683 y PMB-0220, en el que la sequía alteraría la partición de N de forma que dejaría de ser limitante para el crecimiento de la parte aérea de la planta.

El estrés hídrico supone una reducción de más del 50% del NMSA (**Tabla 6.19**) y afecta por igual a casi todas las variedades, debido a la fuerte interacción C/N. La planta sujeta a estrés hídrico limita el flujo de C hacia los nódulos lo que provoca un declive en la fijación de N (Gálvez et al., 2005). A pesar de ser PHA-0471 y PHA-0285, las variedades con mayores pérdidas en sequía, siguen manteniendo el NMSA más alto. Las plantas inoculadas con LTMF siguen registrando el valor más alto de NMSA, pero fueron significativamente iguales a las inoculadas con APAFI. Los dos controles y las plantas inoculadas con CIAT899 fueron las que tuvieron un valor significativamente inferior, comprendidos entre 0,28 y 0,38 g planta⁻¹. LTMF con PMB-0285 obtuvo el máximo valor para este parámetro, con 1,17 g planta⁻¹.

6. Tercer Experimento

Tabla 6.18. Medias en sequía de las variedades y cepas del porcentaje de N en materia seca aérea (**PNMSA**) (%). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

PNMSA (%) Sequía	Cepa						\bar{y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	2,07	2,09	2,40	1,99	2,49	2,44	2,28
PHA-0432	2,65	2,72	2,64	2,67	2,70	2,88	2,73
PHA-0471	2,75	2,77	2,91	2,74	2,66	2,73	2,80
PHA-0483	2,26	2,62	2,63	2,64	2,44	2,61	2,57
PHA-0683	2,27	2,74	2,74	2,69	2,48	2,71	2,60
PMB-0220	3,23	2,41	2,77	2,73	2,82	2,98	2,78
PMB-0222	2,94	2,37	2,23	2,89	2,90	2,71	2,72
PMB-0244	2,49	2,09	2,52	2,42	2,43	2,66	2,45
PMB-0285	2,65	2,76	2,77	2,69	2,76	2,87	2,73
PMB-0286	2,59	2,90	2,86	2,88	2,52	3,01	2,82
\bar{y}	2,59	2,55	2,65	2,63	2,62	2,76	2,65

PNMSA (%) Sequía	Cepa						\bar{y}
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	2,39	2,47	2,06	2,19	2,43	2,33	2,28
PHA-0432	2,78	2,72	2,81	2,77	2,65	2,73	2,73
PHA-0471	2,82	2,80	2,69	2,57	3,12	3,03	2,80
PHA-0483	2,80	2,60	2,52	2,46	2,62	2,64	2,57
PHA-0683	2,61	2,44	2,66	2,41	2,72	2,75	2,60
PMB-0220	2,57	2,88	3,09	2,93	2,26	2,63	2,78
PMB-0222	3,06	2,77	2,49	3,09	2,34	2,85	2,72
PMB-0244	2,57	2,56	2,40	2,49	2,38	2,43	2,45
PMB-0285	2,82	2,58	2,72	2,74	2,78	2,64	2,73
PMB-0286	3,08	2,71	2,57	3,38	2,50	2,83	2,82
\bar{y}	2,75	2,65	2,60	2,70	2,58	2,69	2,65

LSD_{VARIEDAD} = 0,15

LSD_{CEPA} = 0,17

$\alpha=0,05$

6. Tercer Experimento

Tabla 6.19. Medias en sequía de las variedades y cepas del contenido de N en materia seca aérea (NMSA) (g planta⁻¹). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

NMSA (g planta ⁻¹) Sequía	Cepa						\bar{Y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	0,59	0,38	0,49	0,46	0,70	0,53	0,57
PHA-0432	0,44	0,28	0,34	0,33	0,33	0,25	0,31
PHA-0471	0,99	0,79	0,70	0,65	0,67	0,61	0,73
PHA-0483	0,29	0,21	0,23	0,24	0,31	0,14	0,23
PHA-0683	0,43	0,37	0,41	0,41	0,29	0,38	0,39
PMB-0220	0,30	0,29	0,41	0,47	0,57	0,60	0,51
PMB-0222	0,23	0,35	0,35	0,69	0,65	0,66	0,54
PMB-0244	0,49	0,15	0,25	0,36	0,30	0,36	0,29
PMB-0285	0,73	0,57	0,96	0,48	0,91	0,91	0,71
PMB-0286	0,83	0,40	0,57	0,88	0,63	1,07	0,66
\bar{Y}	0,53	0,38	0,47	0,50	0,53	0,55	0,49

NMSA (g planta ⁻¹) Sequía	Cepa						\bar{Y}
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	0,54	0,60	0,75	0,85	0,52	0,39	0,57
PHA-0432	0,20	0,35	0,43	0,36	0,14	0,24	0,31
PHA-0471	0,86	0,64	0,98	1,06	0,32	0,49	0,73
PHA-0483	0,21	0,22	0,26	0,26	0,15	0,19	0,23
PHA-0683	0,43	0,38	0,39	0,55	0,19	0,44	0,39
PMB-0220	0,75	0,54	0,72	0,85	0,38	0,19	0,51
PMB-0222	0,98	0,78	0,43	0,63	0,27	0,42	0,54
PMB-0244	0,24	0,26	0,30	0,42	0,15	0,19	0,29
PMB-0285	0,37	0,78	1,00	1,17	0,43	0,27	0,71
PMB-0286	0,69	0,89	0,80	0,41	0,29	0,41	0,66
\bar{Y}	0,53	0,54	0,61	0,66	0,28	0,32	0,49

LSD_{VARIEDAD} = 0,07

LSD_{CEPA} = 0,07

$\alpha=0,05$

El PNMSS fue bastante estable ante el estrés hídrico (Peña-Cabriales y Castellanos, 1993), en el presente ensayo la sequía supone solo una disminución del 4%. (**Tabla 6.20**) PHA-0220, PHA-0432 y PHA-0471 fueron variedades con PNMSS mayor del 3,75%. Las plantas del control de N con 3,84 %, alcanzaron el valor máximo, pero no fueron significativamente superiores a las plantas inoculadas con EPOB. Las combinaciones con mayor PNMSS fueron SLL2 con PMB-0220 y el control de N con PHA-0432, con valores superiores a 4,40 %.

El estrés hídrico supone una reducción del 53% en el NMSS, que equivale a 0,73 g planta⁻¹ de media (**Tabla 6.21**). Este descenso se debe principalmente la reducción del 51% de MSS, ya que el porcentaje de N en semilla (PNMSS) apenas se ve afectado por el estrés hídrico. Las variedades que en regadío tenían los mayores valores de NMSS fueron las que experimentaron reducciones superiores a 1 g N planta⁻¹. PMB-0471 y PHA-0222, fueron significativamente superiores al resto y PMB-0220 con LTMF consigue la máxima producción con 1,97 g N planta⁻¹.

En condiciones de estrés hídrico, existe una menor dispersión de los datos de NMSA y NMSS, si se comparan con los de regadío, y la menor dispersión favorece la correlación lineal entre las dos variables. La mayor correlación entre NMSA y NMSS puede deberse a que la escasez de N producida por el estrés hídrico, obligue a la planta a un uso más eficiente del N. En la **Figura 6.7** se pueden observar las rectas de regresión entre NMSA y NMSS, para las distintas combinaciones agrupadas según sus valores de NHI. En la **Tabla 6.22** aparecen los valores medios de cada uno de los grupos, y se puede observar que el intervalo 0,00 – 0,99 corresponde a plantas con alta MSA pero poca productividad. En cambio, las combinaciones del grupo 3,00 - 5,50 corresponden a plantas con poca MSA pero muy productivas. Esto induce a pensar que las plantas con mayores NHI tienen una mayor capacidad de movilización de fotoasimilados que los que presentan un menor NHI.

6. Tercer Experimento

Tabla 6.20. Medias en sequía de las variedades y cepas del porcentaje de N en materia seca grano (PNMSS) (%). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

PNMSS (%) Sequía	Cepa						\bar{Y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	3,00	3,14	3,32	3,05	3,18	3,00	3,18
PHA-0432	3,67	3,48	3,75	4,04	3,89	4,05	3,85
PHA-0471	3,44	3,85	3,89	3,74	3,71	3,65	3,77
PHA-0483	3,02	3,09	3,09	3,29	3,06	3,21	3,15
PHA-0683	3,22	3,49	3,30	3,43	3,33	3,20	3,38
PMB-0220	4,48	3,87	3,82	3,75	3,75	3,70	3,90
PMB-0222	3,50	3,55	3,47	3,37	3,62	3,50	3,62
PMB-0244	3,65	3,77	4,02	3,54	3,75	3,41	3,77
PMB-0285	3,84	3,89	3,70	3,42	3,71	3,59	3,75
PMB-0286	3,64	3,66	3,66	3,58	3,57	3,52	3,68
\bar{Y}	3,55	3,58	3,60	3,52	3,56	3,48	3,60

PNMSS (%) Sequía	Cepa						\bar{Y}
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	3,15	3,43	3,00	3,27	3,47	3,12	3,18
PHA-0432	3,77	3,97	3,86	3,61	3,76	4,40	3,85
PHA-0471	3,70	3,98	3,91	3,76	3,89	3,77	3,77
PHA-0483	3,37	3,08	3,09	2,83	3,18	3,47	3,15
PHA-0683	3,38	3,37	3,32	3,35	3,45	3,73	3,38
PMB-0220	3,86	4,00	3,82	3,74	4,05	3,90	3,90
PMB-0222	3,64	3,98	3,57	3,74	3,50	3,98	3,62
PMB-0244	3,96	3,78	3,79	3,72	3,80	4,05	3,77
PMB-0285	3,76	3,82	3,77	3,77	3,55	4,20	3,75
PMB-0286	3,89	3,73	3,57	4,13	3,45	3,78	3,68
\bar{Y}	3,65	3,71	3,57	3,59	3,61	3,84	3,60

LSD_{VARIEDAD} = 0,15

LSD_{CEPA} = 0,16

$\alpha=0,05$

6. Tercer Experimento

Tabla 6.21. Medias en sequía de las variedades y cepas del contenido de N en materia seca aérea (NMSS) (g planta^{-1}). También aparece la diferencia menos significativa (LSD) para variedades y cepas.

NMSS (g planta^{-1}) Sequía	Cepa						\bar{Y}
	SLL2	CIAT 899	CFN 42	EXIC	EXIB	EG	
PHA-0155	0,64	0,60	0,44	0,47	0,50	0,54	0,54
PHA-0432	0,50	0,31	0,35	0,47	0,39	0,55	0,48
PHA-0471	1,10	0,71	1,80	0,96	0,71	1,12	1,03
PHA-0483	0,52	0,30	0,54	0,35	0,42	0,51	0,50
PHA-0683	0,48	0,42	0,85	0,94	0,73	0,65	0,70
PMB-0220	0,57	0,59	0,84	0,72	0,41	0,86	0,86
PMB-0222	1,11	1,02	1,08	1,44	0,82	0,74	0,98
PMB-0244	0,37	0,12	0,26	0,37	0,34	0,13	0,31
PMB-0285	0,82	0,87	0,76	0,59	0,70	0,58	0,85
PMB-0286	0,75	0,87	0,61	0,71	0,84	0,99	0,91
\bar{Y}	0,69	0,58	0,75	0,70	0,59	0,67	0,72

NMSS (g planta^{-1}) Sequía	Cepa						\bar{Y}
	EF	EPOB	APAFI	LTMF	CC	CN	
PHA-0155	0,51	0,77	0,46	0,51	0,73	0,27	0,54
PHA-0432	0,69	0,34	0,80	0,43	0,36	0,60	0,48
PHA-0471	1,07	0,75	0,87	1,17	0,95	1,16	1,03
PHA-0483	0,26	0,46	0,47	0,72	0,67	0,74	0,50
PHA-0683	0,59	0,71	0,91	0,68	0,72	0,73	0,70
PMB-0220	1,62	0,41	1,23	1,97	0,58	0,48	0,86
PMB-0222	1,38	0,92	0,95	1,11	0,62	0,61	0,98
PMB-0244	0,18	0,56	0,48	0,36	0,21	0,32	0,31
PMB-0285	0,81	1,27	0,63	1,29	0,79	1,10	0,85
PMB-0286	0,99	0,89	1,61	0,99	0,59	1,10	0,91
\bar{Y}	0,81	0,71	0,84	0,92	0,62	0,71	0,72

LSD_{VARIEDAD} = 0,22

LSD_{CEPA} = 0,24

$\alpha=0,05$

6. Tercer Experimento

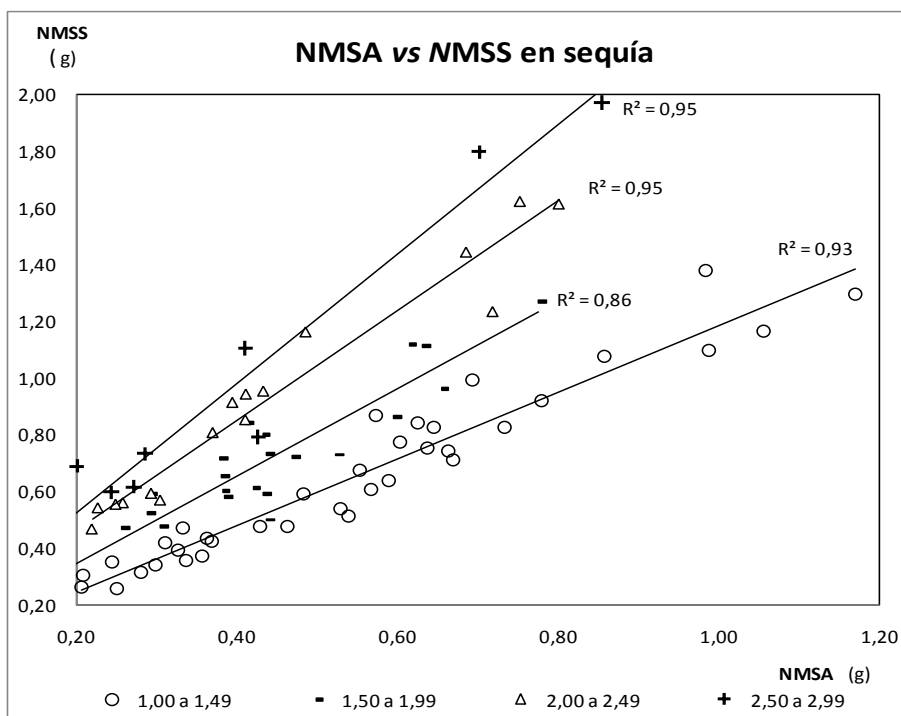


Figura 6.7. Relación NMSA vs NMSS en sequía para combinaciones agrupadas según su NHI.

Tabla 6.22. Valores medios de las combinaciones correspondientes agrupados por intervalos de NHI. N°: número de combinaciones que pertenecen a cada grupo R^2 : coeficiente de determinación de la recta de regresión.

Intervalo	N°	MSA	MSS	NMSA	NMSS	NHI	R^2
0,00 0,99	23	25,73	14,58	0,68	0,53	0,78	0,84
1,00 1,49	37	20,45	17,93	0,54	0,64	1,26	0,93
1,50 1,99	22	16,81	19,98	0,44	0,72	1,72	0,84
2,00 2,49	16	16,16	25,41	0,44	0,93	2,24	0,94
2,50 2,99	9	14,29	26,14	0,39	0,96	2,76	0,95
3,00 5,50	13	10,38	23,34	0,26	0,84	3,94	0,44

6. Tercer Experimento

Como se puede observar en la **Figura 6.8** existe una relación lineal muy significativa entre MSS y NMSS. Araújo y Grandi Teixeira (2003) descubrieron que además de existir una correlación grande y positiva entre MSS y NMSS, también se da esa relación con el P total en MSS. Por lo que se puede asumir que la mayor o menor FBN determinará una mayor o menor producción de MSS.

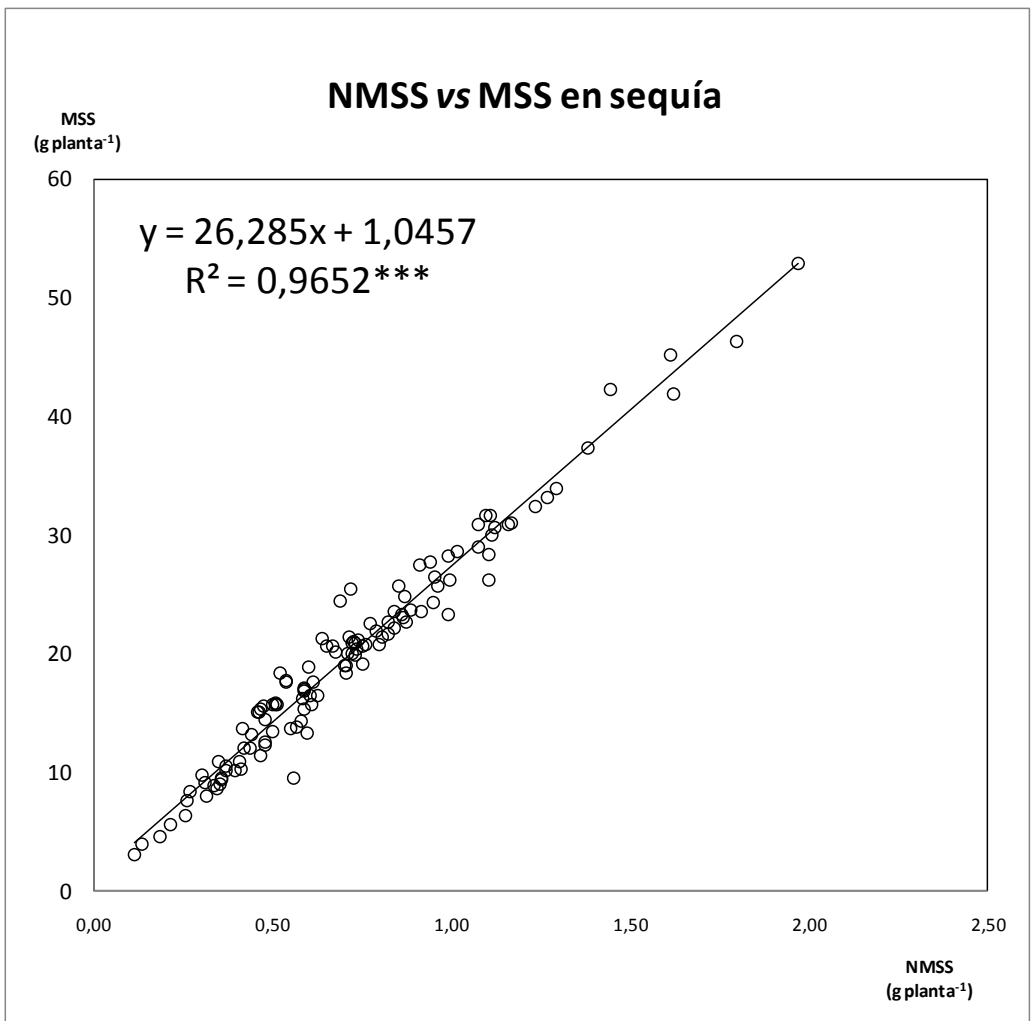


Figura 6.8. Relación NMSS vs MSS en sequía. *** P<0,0001

6. Tercer Experimento

Phaseolus augustii



Discusión general

7. Discusión General

7. Discusión General.

7.1 Evaluación de variedades en condiciones de estrés hídrico.

Algunos autores (Bliss, 1993; Urrea et al., 2009) atribuyen como responsables de la baja heredabilidad de la tolerancia al estrés hídrico, a los altos valores del efecto del ambiente y de la interacción genotipo*ambiente que se detecta en los ensayos de campo. Por su parte la técnica de selección basada en marcadores moleculares (MAS) que se muestra eficaz en caracteres con baja heredabilidad, tampoco ha dado buenos resultados debido en parte a la importancia que tiene esta interacción genotipo*ambiente, además de la inconsistencia en las repeticiones y el gran número de genes relacionado con la producción de semilla (Ishitani et al., 2004; Miklas et al., 2006). Esto provoca una falta de precisión en la identificación de los QTLs relacionados con la producción de semilla (Ashraf, 2010), que hace que la técnica de marcadores moleculares no obtenga los resultados esperados. Por ello, muchos autores sostienen que un mejor entendimiento de la interacción genotipo-ambiente (Blum, 1996; Beaver y Osorno, 2009) redundaría en una mejor estimación del efecto del genotipo.

La interacción genotipo*ambiente tiene una naturaleza multidimensional por lo que resulta más fácil abordar de forma particular para cada uno de los siguientes efectos:

- Estrés térmico
- Nivel de N del suelo
- Poblaciones indígenas de *Rhizobium*
- Niveles de P del suelo
- Niveles de Al en el suelo
- Fotoperíodo

Estrés térmico

Este parámetro es difícil de controlar en el campo, por lo que es necesario hacer repeticiones en varios años, de forma que además del efecto año (la diferencia de radiación, plagas, etc.) se pueda incluir un efecto estrés térmico, cuantificado por el número de días con temperaturas mínimas superiores a 20 °C. Un ejemplo serían los datos obtenidos en el experimento 1 y 3 efectuados en Salceda en los años 2006 y 2009 respectivamente. A pesar de que no se utilizaron las mismas parcelas, estas tenían condiciones agronómicas similares (Anexo 3). En el experimento 1 se registraron 8 días de estrés térmico y en el experimento 3 solo uno. Comparando los datos de estos ensayos, PHA-0155 en el 2006 mostró sensibilidad al estrés térmico y vio sensiblemente reducida su producción.

Es interesante la selección sin estrés térmico, pues de esta forma se puede disponer de toda la variabilidad para la tolerancia al estrés hídrico. Posteriormente las líneas seleccionadas pueden cruzarse con cultivares y líneas con tolerancia al estrés térmico (Rosas et al. 2000; Porch 2006; Beaver et al., 2009).

Niveles de N en suelo

A la hora de realizar un ensayo es interesante saber los niveles de N de los que se parte. Pues como se vio en el experimento 3, hay variedades en las que sus producciones tienen una gran respuesta al N, que puede confundirse con una falsa tolerancia al estrés hídrico y aumentando la interacción genotipo*ambiente. Tampoco es bueno seleccionar plantas en suelos con niveles muy bajos de N, pues la planta puede tener problemas en las fases iniciales de su crecimiento como ocurrió al inicio del experimento 2.

7. Discusión General

El control cero del experimento 3 en vez de valorar el crecimiento de las plantas con el N del suelo, valoraba además la FBN de las cepas autóctonas. Para poder evaluar de forma más precisa el N del suelo, podría incluirse un control sin FBN aplicando algún tipo de producto bactericida a la raíz que no fuese fitotóxico para la planta.

Poblaciones de *Rhizobium*.

Como se ha visto en los experimentos 2 y 3 no existe una cepa que obtenga la mayor productividad con todas las variedades, lo que implica que en todo ensayo existirá una importante interacción genotipo*inóculo.

El crecimiento de las cepas inoculadas están muy influenciadas por el pH del suelo (Wakelin et al., 2008) y por los niveles de P en el suelo (Vadez y Devron, 2001; Tang et al. 2001; Remans et al 2007). Así pues, un inóculo elegido puede ser compatible con una variedad, y en determinadas condiciones de suelo puede tener problemas de adaptación (Latour et al., 1999) y permitir que las poblaciones nativas *Rhizobium*, con menor capacidad de FBN, sean las que finalmente colonicen la planta (Romdhane et al., 2008). Si se da esta circunstancia aumentará la variabilidad de la producción del inóculo y por tanto aumentará la interacción inóculo*ambiente, para evitar este extremo sería importante evitar parcelas que muestren estas limitaciones.

Niveles de P en Suelo

La baja fertilidad en P en los suelos está muy extendida y es frecuente que coincida con situaciones de estrés hídrico. En ninguno de los experimento se han dado condiciones de déficit de P, lo cual en caso de darse podría

interferir de forma negativa en variedades potencialmente resistentes al estrés hídrico.

Los mejoradores han seleccionado variedades adaptadas a condiciones de déficit de P (Beebe et al. 2008; Lynch 2007). Pero los programas de mejora que intentan obtener variedades tolerantes a ambas condiciones, son complicados. Lynch y Brown (2001) observaron que la arquitectura ideal de la raíz adaptada a suelos con bajo niveles de P, es aquella que optimiza la adquisición de nutrientes a menor coste metabólico, que coincide con variedades con raíces superficiales. Pero la selección en este sentido va en contra de una mayor capacidad de la planta de buscar agua en capas más profundas y por tanto de tolerar el estrés hídrico.

Niveles de Al en Suelo

Este parámetro también hay que tenerlo en cuenta, pues puede haber problemas de toxicidad a pH inferiores a 4,5. En el campo de ensayo de Pontevedra 2006 fue necesario la corrección del pH con caliza, para evitar interferencias por la toxicidad del Al.

Fotoperíodo

Algunas variedades de origen Andino pueden mostrar problemas de adaptación debido a su sensibilidad al fotoperíodo (Acosta-Gallegos et al., 1996) que se traduce en una baja de productividad y un escaso llenado de vaina, cuando estas variedades se siembran en épocas tardías. Gu et al. (1998) han identificado con RAPDs, en líneas de origen Andino, marcadores unidos a los genes recesivos *Ppd* y *Hr* que proporcionan insensibilidad al fotoperíodo. En caso de elegir un progenitor de origen Andino, sería interesante probar su producción tardía o determinar si posee los marcadores citados.

7. Discusión General

Como consecuencia del análisis anterior la única forma abordar la disminución de la interacción genotipo*ambiente en un ensayo de sequía en varios ambientes sería la de intentar controlar los factores antes citados y mantenerlos en unos umbrales mínimos en los que no suponga una limitación para la producción de la planta, para que los genotipos más tolerantes al estrés hídrico se expresen plenamente y puedan ser seleccionados.

7.2 Mejora de FBN en condiciones de estrés hídrico.

En suelos de baja fertilidad la FBN es la fuente principal de N de la planta. En el experimento 3 se observó una relación lineal entre NMSS y MSS, de forma que el N es un factor limitante para la producción de semilla. También se pudo comprobar cómo la FBN es sensible al estrés hídrico y cómo, en función de la cepa inoculada, la NMSS y MSS podían variar de una forma significativa. En sequía las plantas inoculadas alcanzaron valores altos de NMSS y MSS, seis de las variedades inoculadas presentaban rendimientos significativamente superiores al control de N, mientras que solo el control de N en PHA-0483 presentaba rendimientos significativamente superiores el resto de plantas inoculadas de esta variedad. Esta excepción pudo deberse a que en el ensayo no se incluyó una cepa que optimice la FBN para esta variedad.

En el experimento 2 al estar en un ambiente pobre en N, se valoró la FBN utilizando la MSA. Se intentó buscar algún parámetro relacionado con los nódulos que tuviese una alta correlación con la MSA, pero tanto el número de nódulos, como la MSNod no mostraron ninguna linealidad con la MSA, principalmente por la falta de homogeneidad en los tamaños para el primero y la falta de uniformidad en el rendimiento para el segundo. La única excepción a esta falta de uniformidad fue la variedad PHA-0683, que cuando mostraba el fenotipo BNO su MSNod presentaba una

linealidad con MSA. El estudio de esta variedad puede que resulte interesante para la comprensión de los mecanismos que producen nódulos con fenotipo BNO, y si por parte de la planta existe algún mecanismo por el cual cuando la planta presenta nódulos con el fenotipo BNO esta bloquea la generación de nódulos no funcionales. Este tipo de genes serían muy interesante en programas de selección, pues en trabajos previos se han identificado líneas de origen Andino con una Aptitud Combinatoria General (ACG) significativamente positiva para nº nódulos planta y peso medio nódulo (Caixeta Franco et al., 2001).

La MSR en el experimento 2 si guardaba una relación lineal con la MSA, por lo que podría ser interesante utilizar el incremento de MSR como criterio de selección.

Algunos autores (Pereira et al., 1993) han realizado mejoras en la FBN en ciclos de selección recurrentes, incrementando el número de nódulos en ambiente controlado. Pero cuando procedieron a la selección directa en el campo por número de nódulos y características de las raíces, concluyeron que no era práctica. La causa principal fue la dificultad en la extracción del sistema radicular del suelo que tiene un coste elevado y a veces es imposible la total extracción de la raíz, lo que afecta de forma importante a la precisión de ensayo ya que la FBN está principalmente localizada en las raíces laterales (Hardarson et al., 1989; Wolyn et al., 1989)

Posiblemente la solución para la mejora a la tolerancia al estrés hídrico sea la selección indirecta utilizando marcadores moleculares, pero para ello será necesario un mejor entendimiento de la expresión genética de los caracteres de la raíz (Lynch 2007).

Una planta, a pesar de ser inoculada con una cepa mejorada puede producir nódulos que correspondan a cepas *Rhizobium* indígenas. Por lo que los valores de número de nódulos y la MSNod hallados en la planta no son todos inducidos por la cepa inoculada. Vázquez-Arroyo et al. (1998) encontraron una gran variabilidad en la

7. Discusión General

eficiencia de FBN entre las cepas de *R. etli* que inoculaba, y cuando analizó los nódulos de las raíces la mayoría correspondían a nódulos ineficaces *R. tropici*.

Algunos autores proponen obviar lo que sucede en la parte subterránea de la planta y utilizar únicamente como criterio de selección el NMSS (Miranda y Bliss, 1991). La selección se llevaría a cabo en campos con bajo contenido de N (Miranda y Bliss, 1991; Singh et al., 2003) para asegurar que la selección se está ejerciendo sobre la FBN y no en la capacidad de absorción de N de la planta.

En la selección para el incremento de la FBN hay dos planteamientos:

1. Seleccionar genotipos capaces de nodular con las cepas indígenas de *Rhizobium*, como los llevados a cabo por Abaidoo et al. (2006) con variedades de soja capaces de nodular con *Bradyrhizobium spp.* Este planteamiento tendría la ventaja de evitar la inoculación de las variedades en cada plantación.
2. Seleccionar inoculando. Analizando los datos obtenidos en los experimentos 2 y 3, se puede observar que no existe ninguna cepa que maximice la NMSS en todas las variedades. Por lo que llevar a cabo un programa de mejora en el que se intentara encontrar para cada línea su cepa óptima, sería sencillamente inviable. Por lo que una solución intermedia sería proceder con un programa de mejora utilizando una combinación de cepas, que previamente habría que contrastar.

Phaseolus microcarpus



Conclusiones

8. Conclusiones

4. Conclusiones

- 1) La utilización de modelos en los que se sustituya el parámetro tratamiento de estrés hídrico por el número de días de estrés hídrico, mejoran la sensibilidad del modelo reduciendo la varianza del error. Esta mejora provoca que algunas interacciones pasen a ser significativas y aumente la heredabilidad de los caracteres.
- 2) De las variedades evaluadas destaca PHA-0471, tanto por su tolerancia al estrés como por su productividad en regadío. Además posee mucho margen de mejora dado su bajo HI. Otras líneas de semilla grande que también han tenido un buen comportamiento en condiciones de estrés hídrico son PHA-0432, PHA-0543 y PHA-0683, que podrían utilizarse como parentales en un plan de mejora de la tolerancia a la sequía.
- 3) Para realizar un programa de mejora de basado en líneas recombinantes se debe comprobar previamente la compatibilidad de las estrategias de las variedades utilizadas como progenitores. El hecho de compartir una misma estrategia, no implica que compartan los mismos genes. De hecho efectos similares pueden ser debidos a genes diferentes y el cruzamiento transgresivo de estas variedades puede producir individuos F_2 que contengan nuevas combinaciones genéticas con mayor o menor número de genes de efectos favorables que los parentales.
- 4) La variedad PHA-0683 cuando muestra fenotipo de nódulo grande (BNO), presenta una gran uniformidad en el calibre de sus nódulos, además de una correlación lineal y muy significativa con MSA. Sería interesante el estudio de este hecho, pues podría suponer la existencia de algún mecanismo de bloqueo de la planta a la formación de nódulos con cepas ineficaces.

- 5) La relación variedad-cepa es muy específica y no ha existido ninguna cepa que haya sido superior al resto, pero las plantas inoculadas en regadío tienen un NMSS superior al control con suplemento de N en PHA-0155, PHA-0471, PMB-0222, PMB-0285 y en el resto de las variedades no existe diferencia significativa con dicho control. En condiciones de estrés hídrico PHA-0155, PHA-0471, PMB-0220, PMB-0222, PMB-0244 y PMB-0286 son superiores al control de N y en el resto no existen diferencias significativas.
- 6) Las cepas locales (EXIC, EXIB, EG, EF, EPOB, APAFI, LTMF, SLL2) han logrado el máximo rendimiento con algunas variedades tanto en regadío como en sequía, lo cual destaca su valor para su posible uso como inoculantes.

Phaseolus oligospermus



Bibliografía

10. Referencia Bibliográfica

Abaidoo RC, Keyser HH, Singleton PW, Dashiell KE, Sanginga N (2007) Population size, distribution, and symbiotic characteristics of indigenous *Bradyrhizobium* spp. that nodulate TGx soybean genotypes in Africa. *Applied Soil Ecol* 35:57-67.

Abebe A, Brick MA, Kirkby RA (1998) Comparison of selection indices to identify productive dry bean lines under diverse environmental conditions. *Field Crop Res* 58: 15-23.

Acosta-Gallegos JA, Adams MW (1991) Plant traits and yield stability of dry bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars under drought stress. *J Agr Sci* 117: 213-219.

Acosta-Gallegos JA, Vargas-Vazquez P, White JW (1996) Effect of sowing date on the growth and seed yield of common bean (*Phaseolus vulgaris*) in highland environments. *Field Crop Res* 49: 1-10.

Acosta-Gallegos JA, Kelly JD, Gepts P (2007) Prebreeding in common bean and use of genetic diversity from wild germplasm. *Crop Sci* 47: 44-49.

Alamillo JM, Díaz-Leal JL, Sánchez-Moran MV, Pineda M (2010) Molecular analysis of ureide accumulation under drought stress in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Cell Environ* 33: 1828-1837.

Al-Tawaha AR, McNeil DL, Yadav SS, Turk M, Ajlouni M, Abu-Darwish MS, Al-Ghzawi ALA, Al-udatt M, Aladaileh S (2010) Integrated legume crops production and management technology. En: Yadav SS, McNeil DL, Redden R, Patil SA (eds) *Climate change and management of cool season grain legume crops*. Springer, Dordrecht pp 325-349 ISBN: 9789048137084.

Allen RG, Pereira LS, Raes D, Smith M (1998) Crop evapotranspiration: Guidelines for computing crop water requirements. FAO, Roma 298 p ISBN: 92-5-104219-5.

Amarger N, Macheret V, Laguette G (1997) *Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov from *Phaseolus vulgaris* nodules. Int J Syst Bacteriol 47: 996-1006.

Andrade DS, Hungria M (2002) Maximizing the contribution of biological nitrogen fixation in tropical legume crops. In: Finan TM, O'Brian MR, Layzell DB, Vessey JK, Newton W (eds) Nitrogen fixation, global perspectives. CABI Publishing, Oxon pp 341–345 ISBN: 0851995950.

André CM, Schafleitner R, Legay S, Lefèvre I, Alvarado Aliaga CA, Nomberto G, Hoffmann L, Hausman JF, Larondelle Y, Evers D (2009) Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. Fitochemistry 70: 1107-1116.

Araújo AP, Grandi Teixeira M (2003) Nitrogen and phosphorus harvest indices of common bean cultivars: implications for yield quantity and quality. Plant Soil 257: 425-433.

Araya T, Noguchi K, Terashima I (2010) Effect of nitrogen nutrition on the carbohydrate repression of photosynthesis in leaves of *Phaseolus vulgaris* L. J Plant Res 123: 371-379.

Asensio C, Asensio S, Manzanera MC, Lopez R (2005) Registration of 'Almonga' Planchada dry bean. Crop Sci 45: 2125.

Ashraf M (2004) Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. Flora 199: 361-376.

Ashraf M (2010) Inducing drought tolerance in plants: Recent advances. Biotechnol Adv 28: 169-183.

Audsley E (1997) Harmonisation of Environmental Life Cycle Assessment for Agriculture: Final Report Concerted Action AIR3-CT94-2028. Silsoe Research Institute, Silsoe 129 p.

Baixauli Soria C, Aguilar Olivert JM (2002) Cultivo sin suelo de Hortalizas. Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación - Generalitat Valenciana, Valencia 109 p ISBN: 8448231457.

Baudoin JP, Rocha O, Degreaf J, Maquet A, Guarino L (1992) Ecogeography, demography, diversity and conservation of *Phaseolus lunatus* L in the Central Valley of Costa Rica. Systematic and Ecogeographic Studies on Crop Genepools, nº 12. International Plant Genetic Resources Institute, Roma 84 p ISBN 9290436387.

Beattie AD Larsen J, Michaels TE, Pauls KP (2003) Mapping quantitative trait loci for a common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) ideotype. Genome 46: 411-422.

Beaver JS, Kelly JD (1994) Comparison of selection methods for dry bean landraces derived from crosses between gene pools. Crop Sci 25: 923-926.

Beaver JS, Osorno JM (2009) Achievements and limitations of contemporary common bean breeding using conventional and molecular approaches. Euphytica 168: 145-175.

Beebe SE, Skroch, J Tohme, MC Duque, F Pedraza, J Nienhuis (2000) Structure of genetic diversity among common bean landraces of Middle American origin based on correspondence analysis of RAPD. Crop Sci 40: 264-273.

Beebe S, Rengifo J, Gaitan E, Duque MC, Tohme J (2001) Diversity and Origin of Andean Landraces of Common Bean. Crop Sci 41: 854-862.

Beebe SE, Rao IM, Cajiao C, Grajales M (2008) Selection for drought resistance in common bean also improves yield in phosphorus limited and favorable environments. *Crop Sci* 48: 582-592.

Bidinger FR, Mahalakshmi V, Rao GPD (1987a) Assessment of drought resistance in pearl millet (*Pennisetum americanum* L. Leeke): I Factors affecting yield under stress. *Aust J Agric Res* 38: 37-48.

Bidinger FR, Mahalakshmi V, Rao GPD (1987b) Assessment of drought resistance in pearl millet (*Pennisetum americanum* L. Leeke): II Estimation of response to stress. *Aust J Agric Res* 38: 49-59.

Bliss FA (1993) Breeding common bean for improved biological nitrogen fixation. *Plant Soil* 152: 71-79.

Blum A (1996) Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. *Plant Growth Regul* 20: 135-148.

Bohlool BB, Ladha JK, Garrity DP, George T (1992) Biological nitrogen fixation for suitable agriculture: A perspective. *Plant Soil* 141: 1-11.

Bouhmouch I, Souad-Mouhsine B, Brhada F, Aurag J (2005) Influence of host cultivars and Rhizobium species on the growth and symbiotic performance of *Phaseolus vulgaris* under water stress. *J Plant Physiol* 162: 1103-1113.

Bourion V, Laguerre G, Depret G, Voisin AS, Salon C, Duc G (2007) Genetic variability in nodulation and root growth affects nitrogen fixation and accumulation in pea. *Ann Bot* 100: 589-598.

Bourion V, Rizvi SNH, Fournier S, Larambergue H, Galmiche F, Marget P, Duc G, Burstin J (2010) Genetic dissection of nitrogen nutrition in pea through a QTL approach of root, nodule, and shoot variability. *Theor Appl Genet* 121: 71-86.

Boutraa T, Sanders FE (2001a) Effects of Interactions of Moisture Regime and Nutrient Addition on Nodulation and Carbon Partitioning in Two Cultivars of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) *J Agronomy & Crop Science* 186: 229-237.

Boutraa T, Sanders FE (2001b) Influence of water stress on grain yield and vegetative growth of two cultivars of bean. *J Agron Crop Sci* 187: 251-257.

Brick MA, Ogg JB, Singh SP, Schwartz HF, Johnson JJ, Pastor-Corrales MA (2008) Registration of drought-tolerant, rust-resistant, high-yielding Pinto Bean germplasm line CO46348. *Journal of Plant Registrations* 2: 120-124.

Brücher H (1988) The wild ancestor of *Phaseolus vulgaris*. En: Gepts P (ed) *Genetics resources of Phaseolus beans: their maintenance, domestication, evolution and utilization*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht pp 185-214 ISBN: 9024736854.

Buttery BR, Park SJ, Dhanvantari BN (1990) Effects of combined nitrogen, *Rhizobium* strain and substrate on a supernodulating mutant of *Phaseolus vulgaris* L. *Can J Plant Sci* 70: 955-963.

Caixeta Franco M, Tulio Cassini S, Rodrigues Oliveira V, Vieira C, Tsai SM, Damiao Cruz C (2001) Combining ability for nodulation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes from Andean and Middle American gene pools. *Euphytica* 118: 265-270.

Casquero PA, Lema M, Santalla M, De Ron AM (2006) Performance of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces from Spain in the Atlantic and Mediterranean environments. *Genet Resour Crop Ev* 53: 1021-1032.

Castonguay Y, Markhart AH (1992) Leaf gas exchange in water-stressed common bean and tepary bean. *Crop Sci* 33: 980-986.

Cattivelli, L, Rizza F, Badeck FW, Mazzucotelli E, Mastrngelo AM, Francia E, Marè C, Tondelli A, Stanca AM (2008) Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. *Field Crop Res* 105: 1-14.

Centro Internacional de Agricultura Tropical Etapas de desarrollo de la planta de frijol común Cali, Colombia CIAT, (1983) pp 25

Chacón MI, Pickersgill SB, Debrouk DG (2005) Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races. *Theor Appl Genet* 110: 432-444.

Chaverra MH, Graham PH (1992) Cultivar variation affecting early nodulation of common bean. *Crop Sci* 32: 1432-1436.

Choudhury AK, Karim MA, Haque MM, Khaliq QA, Ahmed JU, Hossain MM (2011) Genotypic variability in plant water status of french bean under drought stress. *J Crop Sci Biotech* 14: 17-24.

Countour-Ansel D, Torres-Franklin ML, Zuily-Fodil Y (2010) An aspartic acid protease from common bean is expressed 'on call' during water stress and early recovery. *J Plant Physiol* 167: 1606-1612.

Cruz de Carballo MH, Laffray D, Louguet P (1998) Comparison of the physiological responses of *Phaseolus vulgaris* and *Vigna unguiculata* cultivars when submitted to drought conditions. *Environ Exp Bot* 40: 197-207.

Cubero JI (2003) Introducción a la mejora genética (2ª Edición). Mundi-Prensa Libros SA, Madrid 567 p ISBN: 8484760995.

Davies, SL, Turner NC, Palta JA, Siddique KHM, Plummer JA (2000) Remobilization of carbon and nitrogen supports seed filling in chickpea subjected to water deficit. *Aust J Agric Res* 51: 855-866.

De Felipe M (2006) Fijación biológica de dinitrógeno atmosférico en vida libre. En: Bedmar EJ, González J, Lluch CL, Rodelas B (Eds) Fijación de nitrógeno: Fundamentos y Aplicaciones. Sociedad Española de Fijación de Nitrógeno (SEFIN), Granada pp 9-16 ISBN: 8461111985.

De Jong TM, Brewin NJ, Phillips DS (1981) Effects of plasmid content in *Rhizobium leguminosarum* on pea nodule activity and plant growth. *J Gen Microbiol* 124: 1-7.

De Ron AM, Santalla M, Barcala N, Rodiño AP, Casquero PA, Menéndez MC (1997) Beans (*Phaseolus* spp.) collection at the Misión Biológica de Galicia-CSIC in Spain. *Plant Genetic Resources Newsletter* 112: 100.

De Ron AM, González AM, De La Fuente M, Rodiño AP, Mansilla JP, Saburida MS, Santalla M (2010) Catálogo de germoplasma de *Phaseolus* de la Misión Biológica de Galicia-CSIC. Ed Misión Biológica de Galicia-CSIC, Pontevedra y Asociación Española de Leguminosas (AEL), Alcalá de Henares p 146 DL: PO 14-2011.

Debouck DG (1988) *Phaseolus* germplasm exploration. En: Gepts P (ed) Genetic resources of *Phaseolus* beans. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht pp 3-29. ISBN: 9024736854.

Debouck DG (1999) Diversity in *Phaseolus* species in relation to the common bean in Common Bean. En: Singh SP (ed) Improvement in the Twenty-First Century, nº 7. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht pp 25-52. ISBN: 9780792358879.

Delgado MJ, Bedmar EJ (2006) Metabolismo anaerobio del nitrato en bacterias simbióticas: respiración y desnitrificación. En: Bedmar EJ, González J, Lluch CL, Rodelas B (Eds) Fijación de nitrógeno: Fundamentos y Aplicaciones. Sociedad Española de Fijación de Nitrógeno (SEFIN), Granada pp 9-16 ISBN: 8461111985.

Devi MJ, Sinclair TR, Vadez V (2010) Genotypic variability among peanut (*Arachis hypogaea* L.) in sensitivity of nitrogen fixation to soil drying. *Plant Soil* 330: 139-148.

Dorcinvil R, Sotomayor-Ramirez D, Beaver J (2010) Agronomic performance of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lines in an Oxisol. *Field Crop Res* 118: 264-272.

Duc G, Messenger A (1989) Mutagenesis of pea (*Pisum sativum* L.) and the isolation of mutants for nodulation and nitrogen fixation. *Plant Sci* 60: 207-213.

Du W, Wang M, Fu S, Yu D (2009) Mapping QTLs for seed yield and drought susceptibility index in soybean (*Glycine max* L.) across different environments. *J Genet Genomics* 36: 721-731.

Ebdon JS, Gauch HG (2002) Additive Main Effect and Multiplicative Interaction analysis of national turfgrass performance trials: I. Interpretation of genotype × environment interaction. *Crop Sci* 42: 489-496.

Ehlers W, Hamblin AP, Tennant D, Ploeg RR van der (1991) Root system parameters determining water uptake of field crops. *Irrig Sci* 12: 115-124.

Escribano MR, De Ron AM, Amurrio JM (1994) Diversity in agronomical traits in common bean populations from Northwestern Spain. *Euphytica* 76: 1-6.

Escribano MR, Santalla M, De Ron AM (1997) Genetic diversity in pod and seed quality traits of common bean populations from northwestern Spain. *Euphytica* 93: 71-81.

Evans AM (1976) Beans. Simmonds NW (ed) *Evolution of crop plants*. Longman, Londres pp 168-172 ISBN: 0582086434.

Evers D, Lefèvre I, Legay S, Lamaureux D, Hausman JF, Gutierrez González RO, Tincopa Marca LR, Hoffmann L, Bonierbale M, Schafleitner R (2010) Identification of drought-responsive compounds in potato through a combined transcriptomic and targeted metabolite approach. *J Exp Bot* 61: 2327-2343.

FAO: FAOSTAT Producciones y superficies cultivadas [en línea] <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>> [Consulta: 16-03-12 y 18-04-12].

Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA (2008) Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management. En: Lichtfouse E, Navarrete M, Debaeke P, Véronique S, Alberola C (eds) *Sustainable Agriculture*. Springer, Berlín pp 153-188 ISBN: 9048126657.

Fischer RA, Mauer R (1978) Drought resistance in spring wheat cultivars: I Grain yield responses. *Aust J Agric Res* 29: 897-912.

Fofana B, Vekemans X, du Jardin P, Baudoin JP (1997) Genetic diversity in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L) as revealed by RAPD markers. *Euphytica* 95: 157-165.

Fofana B, Baudoin JP, Vekemans X, (1999) Molecular evidence for and a secondary gene pool for the Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) using chloroplast DNA. *Theor Appl Genet* 98: 202-212.

Foster EF, Pajarito A, Acosta-Gallegos J (1995) Moisture stress impact on N partitioning, N remobilization, and N-use efficiency in beans (*Phaseolus vulgaris*). J Agric Sci Camb 124: 27-37.

Frahm MA, Rosas JC, Kelly JD (2002) Drought resistance of black bean evaluated in a lowland tropical environments. Ann Report Bean Improv Coop 45: 56-57.

Frahm MA, Foster EF, Kell JD (2003) Indirect screening techniques for drought resistance in dry beans Bean Improvement Cooperative. En: BIC (ed) The XLVI report of the Bean Improvement Cooperative. Michigan State University, USA pp 104-105.

Frahm MA, Rosas JC, Mayek-Pérez N, López-Salinas E, Acosta-Gallegos JA, Kelly JD (2004) Breeding beans for resistance to terminal drought in the lowland tropics. Euphytica 136: 223-232.

Freyre R, Rios R, Guzman L, Debouck DG, Gepts P (1996) Ecogeographic distribution of *Phaseolus* spp (Fabaceae) in Bolivia. Econ Bot 50: 195-215.

Freytag GF, Debouck DG (2002) Taxonomy, distribution, and ecology of the genus *Phaseolus* (Leguminosae-Papilionoideae) in North America, Mexico and Central América. BRIT, Texas 300 p ISBN: 1889878111.

Gálvez L, González EM, Arrese-Igor C (2005) Evidence for carbon flux shortage and strong carbon nitrogen interactions in pea nodules at early stages of water stress. J Exp Bot 56: 2551-2561.

Gepts P, Bliss FA (1985) F1 hybrid weakness in the common bean: differential geographic origin suggests two gene pools in cultivated bean germplasm. J Hered 76: 447-450.

Gepts P (1988) Phaseolin as an evolutionary marker. En: Gepts P (ed) Genetics resources of *Phaseolus* beans: their maintenance, domestication, evolution and utilization. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht pp 215-241 ISBN: 9024736854.

Gepts P, Debouck DG (1991) Origin, domestication and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L). En: Schoonhoven A van, Voysest O (eds) Common beans: Research for crop improvement. CABI, Wallingford y CIAT, Cali pp 7-53 ISBN: 085198679X.

Giller KE (2001) Nitrogen fixation in tropical cropping systems. CABI, Oxon 423 p ISBN: 0851994172.

González AM (2006) Genética de generaciones segregantes de judía común (*Phaseolus vulgaris* L) mediante marcadores bioquímicos y caracteres fenotípicos de semilla. Tesis doctoral.

González AM, Rodiño AP, Santalla M, de Ron AM (2009) Genetics of intra-gene pool and inter-gene pool hybridization for seed traits in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm from Europe. Field Crop Res 112: 66-76.

González AM, de la Fuente M, De Ron AM, Santalla M (2010) Protein markers and seed size variation in common bean segregating populations. Mol Breeding 25:723-740.

Gordon AJ, Minchin FR, Skot L, James CL (1997) Stress-induced declines in soybean N₂ fixation are related to nodule sucrose synthase activity. Plant Physiol 114: 937-946.

Graham PH, Vance CP (2000) Nitrogen fixation in perspective an overview of research and extension needs. Field Crop Res 65: 93-106.

Graham PH (1981) Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L.: A review. Field Crop Res 4: 93-112.

Graham PH, Vance CP (2003) Legumes: importance and constraints to greater use. *Plant Physiol* 131: 872-877.

Graham PH (2008) Ecology of the root-nodule bacteria of legumes. En: Dilworth MJ, James EK, Sprent JI, Newton WE (eds) *Leguminous nitrogen-fixing symbiosis*. Springer, Dordrecht pp 23–58 ISBN: 9781402035456.

Grange L, Hungria M, Graham PH, Martinez-Romero E (2007) New insights into the origins and evolution of rhizobia that nodulate common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Brazil. *Soil Biol Biochem* 39: 867-876.

Gu W, Zhu J, Wallace DH, Singh SP, Weeden NF (1998) Analysis of genes controlling photoperiod sensitivity in common bean using DNA markers. *Euphytica* 102: 125-132.

Gutierrez Salgado A, Gepts P, Debouck D (1995) Evidence for two gene pools of the lima bean, *Phaseolus lunatus*, in the Americas. *Genet Resour Crop Evol* 42: 15-28.

Hall AE (2004) Breeding for adaptation to drought and heat in cowpea. *Eur J Agron* 21: 447-454.

Hamblin A, Tennant D, Perry MW (1990) The cost of stress Dry matter partitioning changes with seasonal supply of water and nitrogen to dryland wheat. *Plant Soil* 122: 47-58.

Hansen AP, Pate JS (1987) Evaluation of the ¹⁵N Natural abundance method and xylem sap analysis for assessing N₂ fixation of understorey legumes in Jarrah (*Eucalyptus marginata* Donn ex Sm.) Forest in S.W. Australia. *J Exp Bot* 38: 1446-1458.

Hansen AP, Rerkasem B, Lordkaew S, Martin P (1993) Xylem-solute technique to measure N₂ fixation by *Phaseolus vulgaris* L. Calibration and sources of error. Plant Soil 150: 223-231.

Hardarson G, Golbs M, Danso SKA (1989) Nitrogen fixation in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] as affected by nodulation patterns. Soil Biol Biochem 21: 783-787.

Hardarson G, Atkins G (2003) Optimising biological N₂ fixation by legumes in farming systems. Plant Soil 252: 41-54.

Harper LA, Giddens JE, Angdale GW, Sharpe RR (1989) Environmental effects on nitrogen dynamics in soybean under conservation and clean tillage systems. Agron J 81:623-631.

Henry A, Rosas JC, Beaver JS, Lynch JP (2010) Multiple stress response and belowground competition in multilines of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Field Crop Res 117: 209-218.

Hernández Bermejo JE, León J (1992) Neglected crops: 1492 from a different perspective. FAO Plant Production and Protection Series, nº26 341 p ISBN: 9253032170.

Herrera-Cervera JA, Caballero-Mellado J, Laguerre G, Tichy HV, Requena N, Amarger N, Martínez-Romero E, Olivares J, Sanjuan J (1999) At least five rhizobial species nodulate *Phaseolus vulgaris* in a Spanish soil. Microbiology Ecology 30: 87-97.

Herridge DF, Atkins GA, Pate JS, Rainbird RM (1978) Allantoin and allantoic acid in the N economy of the cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). Plant Physiol 62: 495-498.

Hill DG (2003) Plant antinutritional factors. En: Trugo L, Finglas PM (Eds) Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition). Elsevier Science, Canterbury pp 4678-4687 ISBN: 9780122270550.

Hungria M, Ruschel (1989) Acetylene reduction, hydrogen evolution and nodule respiration in *Phaseolus vulgaris*. Biol Fertil Soils 7: 351-358.

Hungria M, Stacey G (1997) Molecular signals exchanged between host plants and rhizobia: Basic aspects and potential application in agriculture. Soil Biol Biochem 29: 819-830.

Hungria M, Vargas MAT (2000) Environmental factors affecting N₂ fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. Field Crop Res 65: 151-164

Hungria M, Campo RJ, Mendes IC (2003) Benefits of inoculation of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) crop with efficient and competitive *Rhizobium tropici* strains. Biol Fertil Soils 39: 88-93.

Hungria M, Franchini JC, Campo RJ, Crispino CC, Moraes JZ, Sibaldelli RNR, Mendes LC, Arihara J (2006) Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: Contribution of biological N₂ fixation and N fertilizer to grain yield. Can J Plant Sci 86: 927-939.

Ishitani M, Rao I, Wenzl P, Beebe S, Tohme J (2004) Integration of genomics approach with traditional breeding towards improving abiotic stress adaptation drought and aluminum toxicity as case studies. Field Crop Res 90: 35-45.

Jebara M, Drevon JJ (2001) Genotypic variation in nodule conductance to the oxygen diffusion in common bean (*Phaseolus vulgaris*). Agronomie 21: 667-674.

Jiménez JJ, Altamirano-Hernández J, Peña JJ (2004) Nitrogenase activity and trehalose content of nodules of drought-stressed common beans infected with effective (Fix⁺) and ineffective (Fix⁻) rhizobia. Soil Biol Biochem 36: 1975-1981.

Kaplan L (1981) What is the origin of common bean? Econ Bot 35: 240-254.

Kelly JD, Kolkman JM, Schneider K (1998) Breeding for yield in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Euphytica 102: 343-356.

Kessel C van, Hartley C (2000) Agricultural management of grain legumes has it led to an increase in nitrogen fixation? Field Crop Res 65: 165-181.

Khairallah MM, Sears BB, Adams MW (1992) Mitochondrial restriction fragment length polymorphisms in wild *Phaseolus vulgaris* L.: insights on the domestication of the common bean. Theor Appl Genet 84: 915-922.

Khan HR, Paull JG, Siddique KHM, Stoddard FL (2010) Faba bean breeding for drought-affected environments: A physiological and agronomic perspective. Field Crop Res 115: 279–286.

Kipe-Nolt JA, Vargas H, Giller KE (1993) Nitrogen fixation in breeding line of *Phaseolus vulgaris* L. Plant Soil 152: 103-106.

Kipe-Nolt JA, Giller KE (1993) A field evaluation using the ¹⁵N isotope dilution method of lines of *Phaseolus vulgaris* L. bred for increased nitrogen fixation. Plant Soil 152: 107-114.

Koenig R, Gepts P (1989) Allozyme diversity in wild *Phaseolus vulgaris* further evidence for two major centres of genetic diversity. Theor Appl Genet 78: 809-817.

Koinange EMK, Singh SP, Gepts P (1996) Genetic Control of the Domestication Syndrome in Common Bean. Crop Sci 36: 1037-1045.

Kornegay J, White JW, Ortíz de la Cruz O (1992) Growth habit and gene pool effects on inheritance of yield in common bean. Euphytica 62: 171-180.

Kumar A, Bernier J, Verulkar S, Latiffe HR, Atlin GN (2008) Breeding for drought tolerance: Direct selection for yield, response to selection and use of drought-tolerant donors in upland and lowland-adapted populations. *Field Crop Res* 107: 221-231.

Kumarasinghe KS, Danso SKA, Zapata F (1992) Field evaluation of fixation and N partitioning in climbing bean (*Phaseolus vulgaris* L.) using ¹⁵N. *Biol Fertil Soils* 13: 142-146.

Kurdali F (1996) Nitrogen and phosphorus assimilation, mobilization, and partitioning in rainfed chickpea (*Cicer arietinum* L.) *Field Crop Res* 47:81–92.

Kuykendall LD (2005) Family I Rhizobiaceae. En: Garrity G, Krieg NR, Holt JG (eds) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2ª edición). Springer, New York pp 324-340 ISBN: 9780387241456.

Kwak M, Kami JA, Gepts P (2009) The putative Mesoamerican domestication center of *Phaseolus vulgaris* is located in the Lerma-Santiago Basin of Mexico. *Crop Sci* 49: 554-563.

Laguerre G, Deprer G, Bourion V, Duc G (2007) *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* genotypes interact with pea plants in developmental responses of nodules, roots and shoots. *New Phytol* 176: 680-690.

Latour X, Philippot L, Corberand T, Lemanceau P (1999) The establishment of an introduced community of fluorescent pseudomonads in the soil and in the rhizosphere is affected by the soil type. *FEMS Microbiol Ecol* 30: 163-170.

Lizana C, Wentworth M, Martinez JP, Villegas D, Meneses R, Murchie EH, Pastenes C, Lercari P, Vernieri P, Horton P, Pinto M (2006) Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress: I Effects of drought on yield and photosynthesis. *J Exp Bot* 57: 685-697.

Lodeiro AR, González P, Hernández A, Balagué LJ, Favelukes G (2000) Comparison of drought tolerance in nitrogen-fixing and inorganic nitrogen-grown common beans. *Plant Sci* 154: 31-41.

Lynch JP (2007) Roots of the second green revolution. *Aust J Bot* 55: 493-512.

Lynch JP, Brown KM (2001) Topsoil foraging an architectural adaptation of plants to low phosphorus availability. *Plant Soil* 237:225-237.

Mahieu S, Germon F, Aveline A, Hauggaard-Nielsen H, Ambus P, Jense ES (2008) The influence of water stress on biomass and N accumulation, N partitioning between above and below ground parts and on N rhizodeposition during reproductive growth of pea (*Pisum sativum* L.) *Soil Biol Biochem* 41: 380-387.

Mahon JD, Child JJ (1979) Growth response of inoculated peas (*Pisum sativum*) to combined nitrogen. *Can J Bot* 57: 1687-1693.

MAPA (1984) Una fuente de proteínas: Alubias, garbanzos y lentejas. MAPA, Madrid 240 234 p ISBN: 8474793262.

MAPA (2007) Anuario de estadística agroalimentaria 2006. MAPA, Madrid 973 p.

Marschner P, Crowley D, Yang CH (2004) Development of specific rhizosphere bacterial communities in relation to plant species, nutrition and soil type. *Plant Soil* 261: 199-208.

Martensson AM, Rydberg I (1996) Cultivar x rhizobial strain interactions in peas with respect to early symbiosis, nodule initiation and N uptake. *Plant Breed* 115: 402-406.

Martinez CA, Maestri M, Lani EG (1996) In vitro salt tolerance and proline accumulation in Andean potato (*Solanum spp.*) differing in frost resistance. *Plant Sci* 116: 177-194.

Martínez E, Palacios R, Sánchez F (1987) Nitrogen-fixing nodules by *Agrobacterium tumefaciens* harboring *Rhizobium phaseoli* plasmids. J Bacteriol 169: 2828-2834.

Martínez E, Flores M, Brom S, Romero D, Dávila G, Palacios R (1988) *Rhizobium phaseoli*, a molecular genetic view. Plant Soil 108: 179-184.

Martinez JP, Silva H, Ledent JF, Pinto M (2007) Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) Eur J Agron 26: 30-38.

Martinez-Romero E, Segovia L, Mercante FM, Franco AA, Graham P, Pardo MA (1991) *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena* sp. trees. Int J Syst Bacteriol 41: 417-426.

Martinez-Romero E (2003) Diversity of *Rhizobium-Phaseolus* symbiosis: overview and perspectives. Plant Soil 252: 11-23.

McClellan P, Kami J, Gepts P (2004) Genomics and genetic diversity in common bean. En: Wilson RF, Stalker HT, Brummer EC (Eds) Legume Crop Genomics. AOCs Press, Champaign pp 60-82.

Mergaert P, Uchiumi T, Aluni B, Evanno G, Cheron A, Catrice O, Mausset AE, Barloy-Huber F, Galibert F, Kondorosi A, Kondorosi E (2005) Eukaryotic control on bacterial cell cycle and differentiation in the *Rhizobium-legume* symbiosis. Proc Natl Acad Sci 103: 5230-5235.

Micheletto S, Rodriguez-Uribe L, Hernandez R, Richins RD, Curry J, O'Connell MA (2007) Comparative transcript profiling in roots of *Phaseolus acutifolius* and *P vulgaris* under water deficit stress. Plant Sci 173: 510-520.

Michiels J, Dombrecht B, Vermeiren N, Xi C, Luyten E, Vanderleyden J (1998) *Phaseolus vulgaris* is a non-selective host for nodulation. FEMS Microbiol Ecol 26: 193-205.

Miklas PN, Kelly JD, Beebe SE, Blair MW (2006) Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: from classical to MAS breeding. Euphytica 147: 105-131.

Miller PR, McConkey BG, Clayton GW, Brandt SA, Staricka JA, Johnston AM, Lafond GP, Schatz BG, Baltensperger DD, Neill KE (2002) Pulse crop adaptation in northern great plains. Agronom J 94: 261-272.

Minchin (1997) Regulation of oxygen diffusion in legume nodules. Soil Biol Biochem 29: 881-888.

Miranda BD, Bliss FA (1991) Selection for increased seed nitrogen accumulation in common bean: implications for improving dinitrogen fixation and seed yield. Plant Breed 106: 301-311.

Montoya CA, Lallès JP, Beebe S, Leterme P (2010) Phaseolin diversity as a possible strategy to improve the nutritional value of common beans (*Phaseolus vulgaris*). Food Res Int 43: 443-449.

Mostasso L, Mostasso FL, Dias BG (2002) Selection of bean (*Phaseolus vulgaris* L) rhizobial strains for the Brazilian Cerrados. Field Crop Res 73: 121-132.

Mnasri B, Aouani ME, Mhamdi R (2007) Nodulation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris*) under water deficiency. Soil Biol Biochem 39: 1744-1750.

Muchero W, Ehlers J, Close TJ, Roberts PA (2009) Mapping QTL for drought stress-induced premature senescence and maturity in cowpea. Theor Appl Genet 118: 849-863.

Muchero W, Ehlers J, Roberts PA (2010) Restriction site polymorphism-based candidate gene mapping for seedling drought tolerance in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] Theor Appl Genet 120: 509-518.

Muñoz LC, Duque MC, Debrouck DG, Blair MW (2006) Taxonomy of tepary bean and wild relatives as determined by amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. Crop Sci 46: 1744-1754.

Muñoz-Perea CG, Terán H, Allen RG, Wright JL, Westermann DT, Singh SP (2006) Selection for drought resistance in dry bean landraces and cultivars. Crop Sci 46: 2111-2120.

Muñoz-Perea CG, Allen RG, Westermann DT, Wright JL (2007) Water use efficiency among dry bean landrace and cultivars in drought-stresses and non-stressed environments. Euphytica 155: 393-402.

Mutschler MA, Bliss FA (1981) Inheritance of bean seed globulin content and its relationship to protein content on quality. Crop Sci 21: 289-294.

Mylona P, Pawlowsk K, Bisselin T (1995) Symbiotic nitrogen fixation. Plant Cell 7: 869-885.

Nabhan GP, Felger RS (1978) Teparies in southwestern North America: A biogeographical and ethnohistorical study of *Phaseolus acutifolius*. Econ Bot 2: 2-19.

Navea C, Terrazas T, Delgado-Salinas A, Ramírez-Vallejo P (2002) Foliar response of wild and domesticated *Phaseolus vulgaris* L. to water stress. Genet Resour Crop Ev 49: 125-132.

Naya L, Ladrea R, Ramos J, González EM, Arrese-Igor C, Minchin FR, Becana M (2007) The response of carbon metabolism and antioxidant defenses of alfalfa nodules to drought stress and to the subsequent recovery of plants. *Plant Physiol* 144: 1104-1114.

Nemeskéri E, Sárdi E, Remenyik J, Közegi B, Nagy P (2010) Study of the defensive mechanism against drought in French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *Acta Physiol Plant* 32: 1125-1134.

Ofir M, Gross Y, Bangerth F, Kigel J (1993) High temperature effects on pod and seed production as related to hormone levels and abscission of reproductive structures in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) *Scientia Horti* 55: 201-211.

Oka-Kira E, Kawaguchi M (2006) Long-distance signaling to control root nodule number. *Plant Biol* 9: 496-502.

Olivares J (2006) Nitrogenasa. Enzima clave en la fijación. En Bedmar EJ, González J, Lluch CL, Rodelas B. Fijación de nitrógeno: Fundamentos y Aplicaciones. Sociedad Española de Fijación de Nitrógeno (SEFIN), Granada pp 9-16 ISBN: 8461111985.

Ologhobo AD, Fetuga BL, Tewe OO (1984) The cyanogenic glycoside contents of raw and processed lima bean varieties. *Food Chem* 13: 117-128.

Painawadee M, Jogly S, Kesmala T, Akkasaeng C, Patanothai A (2009) Heritability and correlation of drought resistance traits and agronomic trait in peanut (*Arachis Hypogaea* L.) *Asian J Plant Sci* 8: 325-334.

Papa R, Gepts P (2003) Asymmetry of gene flow and differential geographical structure of molecular diversity in wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from Mesoamerica. *Theor Appl Genet* 106: 239-250.

Park SO, Coyne DP (2000) Mapping of QTL for size and shape trait in common bean. J Amer Soc Hort Sci 125: 466-475.

Peña-Cabriales JJ, Castellanos JZ (1993) Effects of water stress on N₂ fixation and grain yield of *Phaseolus Vulgaris* L. Plant Soil 152: 151-155.

Peoples MB, Herridge DF (1990) Nitrogen fixation by legumes in tropical and subtropical agriculture. Adv Agrom 44: 155-294.

Pereira PAA, Miranda BD, Attewell JR, Kmiecik KA, Bliss FA (1993) Selection for increased nodule number in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Plant Soil 148: 203-209.

Pfeiffer NE, Malik NSA, Wagner FW (1983) Reversible dark-induced senescence of soybean root nodules. Plant Physiol 71: 393-399.

Porch TG (2006) Application of stress indices for heat tolerance screening of common bean. J Agron Crop Sci 192: 390-394.

Porch TG, Ramirez VH, Santana D, Harmsen EW (2009) Evaluation of Common Bean for Drought Tolerance in Juana Diaz, Puerto Rico. J Agron Crop Sci 195: 328-334.

Porch TG (2010) Application of Stress Indices for Heat Tolerance Screening of Common Bean. J Agron Crop Sci 192: 390-394.

Praba ML, Cairns JE, Babu RC, Lafitte HR (2009) Identification of physiological traits underlying cultivar differences in drought tolerance in rice and wheat. J Agron Crop Sci 195: 30-46.

Pratt RC, Nabhan GP (1988) Evolution and diversity of *Phaseolus acutifolius* genetic resources. En: Gepts P (ed) Genetic resources of *Phaseolus* beans. Kluwer Academic, Dordrecht pp 409-440.

Quiles FA, Raso MJ, Pineda M, Piedras P (2009) Ureide metabolism during seedling development in French bean (*Phaseolus vulgaris*). *Physiol Plantarum* 135: 19-28.

Rae AL, Bonfante-Fasolo P, NJ Brewin (1992) Structure and growth of infection threads in the legume symbiosis with *Rhizobium leguminosarum*. *Plant J* 2: 385-395.

Rainey KM, Griffiths PD (2005a) Inheritance of heat tolerance during reproductive development in snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Am Soc Hortic Sci* 130: 700-706.

Rainey KM, Griffiths PD (2005b) Evaluation of *Phaseolus acutifolius* A. Gray plant introduction under high temperatures in a controlled environment. *Genet Resour Crop Ev* 52: 117-120.

Ramírez-Vallejo P, Kelly JD (1998) Traits related to drought resistance in common bean. *Euphytica* 99: 127-136.

Ramos MLG, Gordon AJ, Minchin FR, Sprent JI, Parsons R (1999) Effect of water stress on nodule physiology and biochemistry of a drought tolerant cultivar of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ann Bot* 83: 57-63.

Rasmusson DC, Phillips RL (1997) Plant breeding progress and genetic diversity from de novo variation and elevated epistasis. *Crop Sci* 37: 303-310.

Raso MJ, Pineda M, Piedras P (2007) Tissue abundance and characterization of two purified protein with allantoinase activity from French bean (*Phaseolus vulgaris*). *Physiol Plantarum* 131: 355-366.

Reddy PCO, Sairanganayakulu G, Thippeswamy M, Reddy PS, Reddy MK, Sudhakar C (2008) Identification of stress-induced genes from the drought tolerant semi-arid legume crop horsegram (*Macrotyloma uniflorum*) through analysis of subtracted expressed sequence tags. *Plant Sci* 175: 372-384.

Reichman SM (2007) The potential use of the legume-rhizobium symbiosis for the remediation of arsenic contaminated sites. *Soil Biol Biochem* 39: 2587-2593.

Remans R, Croonenborghs A, Torres Gutierrez R, Michiels J, Vanderleyden J (2007) Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on nodulation of *Phaseolus vulgaris* L. are dependent on plant P nutrition. *Eur J Plant Pathol* 119: 341-351.

Rengel Z (2002) Breeding for better symbiosis. *Plant Soil* 245: 147-162.

Rennie RJ, Kemp GA (1983) N₂-fixation in field beans quantified by ¹⁵N isotope dilution. II. Effect of cultivars of beans. *Agron J* 75: 645-649.

Rodiño AP, Santalla M, Montero I, Casquero PA, De Ron AM (2001) Diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm from Portugal. *Genet Resour Crop Ev* 48: 409-417.

Rodiño AP, Santalla M, De Ron AM, Singh SP (2003) A core collection of common bean from the Iberian peninsula. *Euphytica* 131: 165-175.

Rodiño AP, Santalla M, Gozález AM, De Ron AM, Singh SP (2006) Novel Genetic Variation in Common Bean from the Iberian Peninsula. *Crop Sci* 46: 2540-2546.

Rodiño AP, Lema M, Marlene Pérez-Barbeito M, Santalla M, De Ron AM (2007) Assessment of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.) germplasm for tolerance to low temperature during early seedling growth. *Euphytica* 155: 63-70.

Rodiño AP, Fuente M, Santalla M, Castro A, De Ron AM (2010) Co-evolution and Migration of Bean and Rhizobia in Europe. En: Lichtfouse E (ed) *Sociology, Organic Farming, Climate Change and Soil Science, Sustainable Agriculture Reviews 3*. Springer Science+Business Media, Berlín pp 171-188 ISBN: 9048133327.

Rodiño AP, De La Fuente M, De Ron AM, Lema MJ, Drevon JJ, Santalla M (2011) Variation for nodulation and plant yield of common bean genotypes and environmental effects on the genotype expression. *Plant Soil* 346: 349-361.

Rodríguez-Navarro DN, Santamaría C, Temprano F, Leidi EO (1999) Interaction effects between Rhizobium strain and bean cultivar on nodulation, plant growth, biomass partitioning and xylem sap composition. *Eur J Agron* 11: 131-143.

Rodríguez-Navarro DN, Buendía AM, Camacho M, Lucas MM (2000) Characterization of *Rhizobium* spp. bean isolates from South-West Spain. *Soil Biol Biochem* 32: 1601-1613.

Romdhane SB, Aouani ME, Trabelsi M, Lajudie P de, Mhamdi R (2008) Selection of high nitrogen-fixing Rhizobia nodulating chickpea (*Cicer arietinum*) for Semi-Arid Tunisia. *J Agron Crop Sci* 194: 413-420.

Rosales-Serna R, Ramírez-Vallejo P, Acosta-Gallegos JA, Castillo-González F, Kelly JD (2000) Rendimiento de grano y tolerancia a la sequía del frijol común en condiciones de campo. *Agrociencia* 34: 153-165.

Rosales-Serna R, Kohashi-Shibata J, Acosta-Gallegos JA, Trejo-López C, Ortiz-Cereciers J, Kelly JD (2004) Biomass distribution, maturity acceleration and yield in drought-stressed common bean cultivars. *Field Crop Res* 85: 203-211.

Rosas JC, Castro A, Beaver JS, Pérez CA, Morales-Gómez A, Lépiz R (2000) Genetic improvement of the tolerance to high temperature and resistance to bean golden mosaic virus on common beans. *Agron Mesoam* 11:1-10.

Sadras VO (2007) Evolutionary aspects of the trade-off between seed size and number in crops. *Field Crop Res* 100: 125-138.

Sagan M, Duc G (1996) Sym28 and Sym29, two new genes involved in regulation of nodulation in pea (*Pisum sativum* L.) *Symbiosis* 20: 229–245.

Sambatti JBM, Caylos KK (2007) When is breeding for drought tolerance optimal if drought is random? *New Phytol* 175: 70-80.

Sánchez-Monge E (1974) *Fitogenética*. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Ministerio de Agricultura (ed), Monografías nº12. INIA, Madrid 465 p ISBN: 845001087X.

Santalla M, Fueyo MA, Rodiño AP, Montero I, De Ron AM (1999) Breeding for culinary and nutritional quality of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in intercropping systems with maize (*Zea mays* L.) *Biotechnol Agron Soc Environ* 3: 225-229.

Santalla M, Rodiño AP, Casquero De Ron AM (2001a) Interactions of bush bean intercropped with field and sweet maize. *Eur J Agron* 15: 185-196.

Santalla M, Amurrio JM, De Ron AM (2001b) Symbiotic interactions between *Rhizobium leguminosarum* strains and elite cultivars of *Pisum sativum* L. *J Agron Crop Sci* 187: 59-68.

Santalla M, Amurrio JM, Rodiño AP, De Ron AM (2001c) Variation in traits affecting nodulation of common bean under intercropping with maize and sole cropping. *Euphytica* 122: 243-255.

Santalla M, Rodiño AP, De Ron AM (2002) Allozyme evidence supporting southwestern Europe as a secondary center of genetic diversity for the common bean. *Theor Appl Genet* 104: 934-944.

Santos MG, Pimentel C (2009) Daily balance of leaf sugars and amino acids as indicators of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) metabolic response and drought intensity. *Physiol Mol Biol Plants* 15: 23-30.

Sathe SK, Deshpande SS (2003) Beans. En: Caballero B, Finglas P, Trugo L (eds) *Encyclopaedia of food science and food technology and nutrition*. Academic Press, Londrés pp 403-412 ISBN: 012227055X.

Schmit V, Debouck DG (1991) Observations on the origin of *Phaseolus polyanthus* Greenman. *Econ Bot* 45: 354-364.

Schmit V, Baudoin JP (1992) Screening for resistance to *Ascochyta* blight in populations of *Phaseolus coccineus* L. and *P. polyanthus* Greenman. *Field Crop Res* 30: 155-165.

Schneider KA, Rosales-Serna R, Ibarra-Pérez F, Cazares-Enriquez B, Acosta-Gallegos JA, Ramírez-Vallejo P, Wassimi N, Kelly JD (1997) Improving common bean performance under drought stress. *Crop Sci* 37: 43-50.

Schultze M, Kondorosi A (1998) Regulation of symbiotic root nodule development. *Annu Rev Genet* 32: 33-57.

Seki M, Kamei A, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2003) Molecular responses to drought, salinity and frost: common and different paths for plant protection. *Curr Opin Biotech* 14: 194-199.

Serraj R, Sinclair TR (1996a) Processes contributing to N₂ fixation insensitivity to drought in the soybean cultivar Jackson. *Crop Sci* 36: 961-968.

Serraj R, Sinclair TR (1996b) Inhibition of nitrogenase activity and nodule oxygen permeability by water deficit. *J Exp Bot* 47: 1067-1073.

Serraj R, Sinclair TR (1998) N₂ fixation response to drought in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ann Bot* 82: 229-234.

Serrano-Serrano ML, Hernández-Torres J, Castillo-Villamizar G, Debrouk D, Chacón Sánchez MI (2010) Gene pools in wild Lima bean (*Phaseolus lunatus* L) from the Americas: Evidences for an Andean origin and past migrations. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54: 76-87.

Sexton PJ, Peterson CM, Boote KJ, White JW (1997) Early-season growth in relation to region of domestication, seed size, and leaf traits in common bean. *Field Crop Res* 52: 69-78.

Shenkut AA, Brick MA (2003) Traits associated with dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L) productivity under diverse soil moisture environments. *Euphytica* 133: 339-347.

Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2007) Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J Exp Bot* 58: 221-227.

Silva Pinto FG, Hungria M, Martins Mercante F (2007) Polyphasic characterization of Brazilian Rhizobium tropici strains effective in fixing N₂ with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) *Soil Biol Biochem* 39: 1851-1864.

Sinclair TR, Muchow RC, Ludlow MM, Leach GJ, Lawn RJ, Foale MA (1987) Field and model analysis of the effect of water deficits on carbon and nitrogen accumulation by soybean, cowpea and black gram. *Field Crop Res* 17: 121-140.

Sinclair TR, Serraj R (1995) Legume nitrogen fixation and drought. *Nature* 378: 344.

Singh SP, Gutierrez JA, Molina A, Urrea C, Gepts P (1991) Genetic diversity in cultivated common bean. II. Marker-based analysis of morphological and agronomic traits. *Crop Sci* 31: 23-29.

Singh SP (1995) Selection for water-stress tolerance in interracial populations of common bean. *Crop Sci* 35: 118-124.

Singh SP, Terán H, Germán Muñoz C, Takegami JC (1999a) Two cycles of recurrent selection for seed yield in common bean. *Crop Sci* 39: 391-397.

Singh SP (1999b) Integrated Genetic Improvement En: Singh SP (ed) Common bean improvement in the twenty-first century. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht pp 133-165 ISBN: 9048152933.

Singh SP, Terán H, Gutiérrez JA (2001) Registration of SEA 5 and SEA 13 drought tolerant dry bean germplasm. *Crop Sci* 41: 276-277.

Singh SP, Terán H, Muñoz CG, Osorno JM, Takegami JC, Thung MDT (2003) Low soil fertility tolerance in landrace and improved common bean genotypes. *Crop Sci* 43: 110-119.

Singh SP (2005) Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) En: Singh RJ y Jauhar PP (Eds) Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement. CRC Press, Boca Raton pp 11-48. ISBN: 084931405.

Singh SP (2007) Drought resistance in the race Durango dry bean landraces and cultivars. *Agron J* 99: 1219-1225.

Skøt L (1983) Cultivar and *Rhizobium* strain effects on the symbiotic performance of pea (*Pisum sativum*). *Physiol Plant* 59: 585-589.

Smartt J (1980) Evolution and evolutionary problems in food legume. *Economy Botany* 34: 219-235.

Smartt J (1988) Morphological, physiological and biochemical changes of *Phaseolus* beans under domestication. En Gepts P (ed) *Genetic Resources of Phaseolus Beans: their maintenance, domestication, evolution and utilization*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht pp 143–162 ISBN: 9024736854.

Sprent JL, Sutherland JM, Faria SM (1989) Structure and function of root nodules from woody legumes. *Adv Legum Biol* 29: 559-578.

Steel RGD, Torrie JH, Dickey DA (1997) *Principle and procedures of statistics: a biometrical approach* (Third edition) Mc Graw Hill, New York 666 p. ISBN: 0070610282.

Swaraj K, Nandwal AS, Babber S, Ahlawat S, Nainawati HS (1995) Effect of water stress on functioning and structure of *Cicer arietinum* L. nodules. *Biol Plant* 37: 613-619.

Szilagy L (2003) Influence of drought on seed yield components in common bean. *Bulg J Plant Physiol Special Issue*: 320-330.

Tang C, Hinsinger P, Jaillard B, Rengel Z, Drevon JJ (2001) Effect of phosphorus deficiency on the growth, symbiotic N₂ fixation and proton release by two bean (*Phaseolus vulgaris*) genotypes. *Agronomie* 21: 683-689.

Terán H, Singh SP (2002a) Selection for drought resistance in early generations of common bean populations. *Can J Plant Sci* 82: 491-497.

Terán H, Singh SP (2002b) Comparison of sources and lines selected for drought resistance in common bean. *Crop Sci* 42: 64-70.

Thies JE, Singleton PW, Bohlool BB (1991) Influence of the size of indigenous Rhizobial populations on establishment and symbiotic performance of introduced Rhizobia on field-grown legumes. *Appl Environ Microbiol* 57: 19-28.

Turner NC, Davies SL, Plummer JA, Siddique KHM (2005) Seed filling in grain legumes under water deficits, with emphasis on chickpeas. *Adv Agrom* 87: 211-250.

Unkovich MJ, Pate JS (2000) An appraisal of recent field measurements of symbiotic N₂ fixation by annual legumes. *Field Crop Res* 65: 211-228.

Urrea CA, Yonts CD, Lyon DJ, Koehler AE (2009) Selection for Drought Tolerance in Dry Bean Derived from the Mesoamerican Gene Pool in Western Nebraska. *Crop Sci* 49: 2005-2010.

Vadez V, Lasso JH, Beck DP, Devron JJ (1999) Variability of N₂-fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under P deficiency is related to P use efficiency. *Euphytica* 106: 231-242.

Vadez V, Devron JJ (2001) Genotypic variability in phosphorus use efficiency for symbiotic N₂ fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Agronomie* 21: 691-699.

Vasilas BL, Nelson RL, Fuhrmann JJ, Evans TA (1995) Relationship of nitrogen utilization patterns with soybean yield and seed-fill period. *Crop Sci.* 35: 809-813.

Vázquez-Arroyo J, Sessitsch A, Martínez E, Peña-Cabriaes JJ (1998) Nitrogen fixation and nodule occupancy by native strains of *Rhizobium* on different cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Plant Soil 204: 147-154.

Vekemans X, Hardy O, Berken B, Fofana B, Baudoin JP (1998) Use of PCR-RFLP on chloroplast DNA to investigate phylogenetic relationships in the genus *Phaseolus* Biotechnol. Agron Soc Environ 2: 128-134.

Vessey JK (1992) Cultivar differences in assimilate partitioning and capacity to maintain N₂ fixation rate in pea during pod-filling. Plant Soil 139: 185-194

Voisin AS, Bourion V, Duc G, Salon C (2007) Using an ecophysiological analysis to dissect genetic variability and to propose an ideotype for Nitrogen nutrition in pea. Ann Bot 100: 1525-1536.

Voisin AS, Munier-Jolain G, Salon C (2010) The nodulation process is tightly adjusted to plant growth an analysis using environmentally and genetically induced variation of nodule. Plant Soil 337: 399-412.

Wakelin SA, Macdonald LM, Rogers SL, Gregg AL, Bolger TP, Baldock JA (2008) Habitat selective factors influencing the structural composition and functional capacity of microbial communities in agricultural soils. Soil Biol Biochem 40: 803-813.

Wakrim R, Wahbi S, Tahi H, Aganchich B, Serraj R (2005) Comparative effects of partial root drying (PRD) and regulated deficit irrigation (RDI) on water relations and water use efficiency in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Agric Ecosyst Environ 106: 275-287.

Wallace DH, Baudoin JB, Beaver JS, Coyne DP, Halseth DE, Masaya PN, Munger HM, Myers JR, Silbernagel M, Yourstone KS, Zobel RW (1993) Improving efficiency of breeding for higher crop yield. Theor Appl Genet 86:27-40.

Wang N, Hatcher DW, Tyler RT, Toews R, Gawalko EJ (2010) Effect of cooking on the composition of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and chickpeas (*Cicer arietinum* L.) Food Res Int 43: 589-594.

Welsh W, Bushuk W, Roca W, Singh SP (1995) Characterization of agronomic traits and markers of recombinant inbred lines from intra- and interracial populations of *Phaseolus vulgaris* L. Theor Appl Genet 91: 169-177.

White JW, Gonzalez A (1990) Characterization of the negative association between seed yield and seed size among genotypes of common bean. Field Crop Res 23: 159-175.

White JW, Singh SP (1991) Breeding for adaptation to drought. En: Shoonhoven A van, Voysest O (eds) Common beans: Research for crop improvement. CABI, Walingford y CIAT, Cali pp 501-560.

White JW, Singh SP, Pino C, Rios MJ, Buddenhagen I (1992) Effects of seed size and photoperiod response on crop growth and yield of common bean. Field Crop Res 23: 159-175.

White JW, Ochoa RM, Ibarra RM, Singh SP (1994) Inheritance of seed yield, maturity and seed weight of common bean (*Phaseolus vulgaris*) under semi-arid rainfed conditions. J Agr Sci 122: 265-273.

White JW, Montes-R C (2005) Variation in parameters related to leaf thickness in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Field Crop Res 91: 7-21.

Wolyn DJ, Attwell J, Ludden PW, Bliss FA (1998) Indirect measures of N₂ fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under field conditions: The role of lateral root nodules. Plant Soil 113: 181-187.

Yasar F, Uzal O, Ozpay T (2010) Changes of the lipid peroxidation and chlorophyll amount of green bean genotypes under drought stress. *Afr J Agric Res* 5: 2705-2709.

Zlatev ZS, Lidon FC, Ramalho JC, Yordanov IT (2006) Comparison of resistance to drought of three bean cultivars. *Biol Plantarum* 50: 389-394.

Phaseolus xanthotrichus



Anexos

9. Anexos

Anexo 1: Datos meteorológicos

Experimento 1:

A pesar que las temperaturas medias en ambas localidades fueron similares y cercanas al óptimo productivo (**Figura A1.1**), en Salceda las plantas han sufrido un adelanto de la floración, debido a que estuvieron expuestas a temperaturas más altas, como ha ocurrido en otros trabajos (Muñoz-Perea et al., 2007; Porch et al., 2009; 2010).

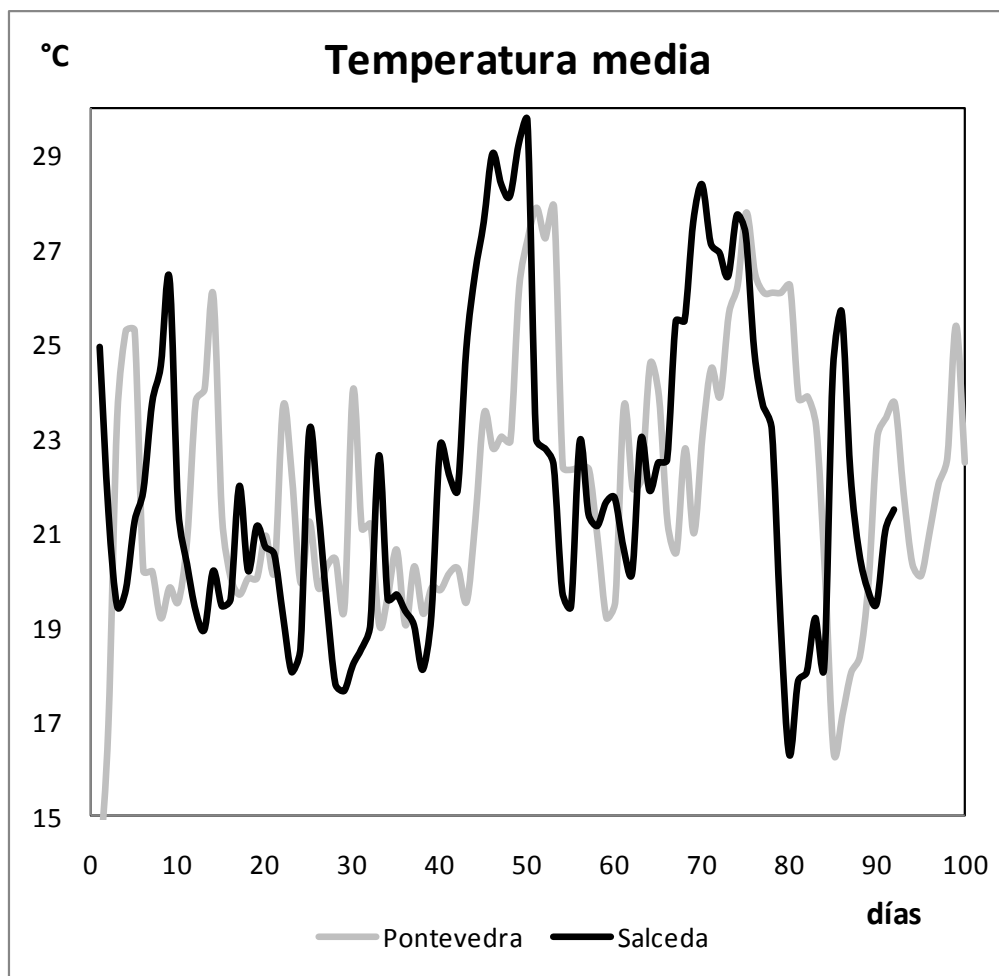


Figura A1.1: Temperatura media (°C) y días post-siembra en Salceda y Pontevedra.

Durante el período de floración la temperatura nocturna apenas descendía. En Pontevedra solo hubo un día a partir del inicio de floración en el que la temperatura mínima fue superior a 20° C (Figura A1.2). En cambio en Salceda este límite se superó 8 días.

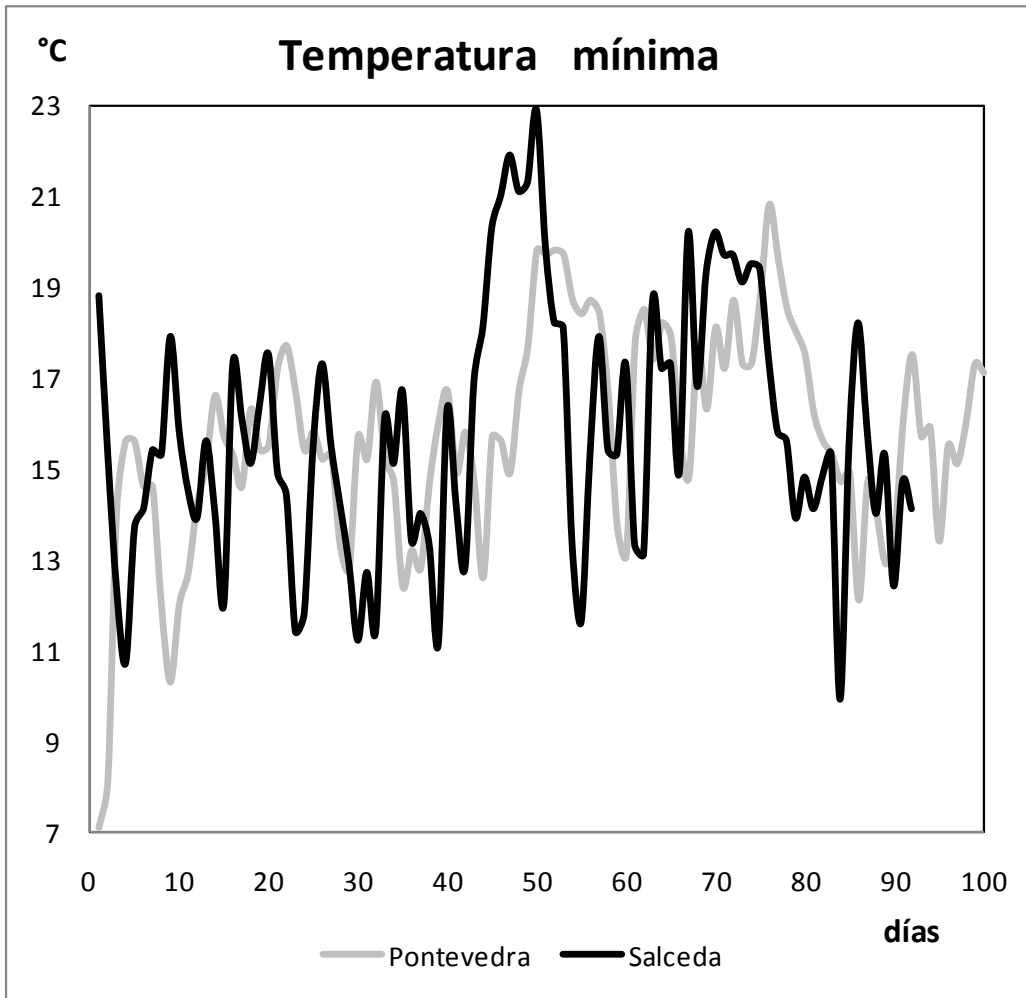


Figura A1.2: Temperatura mínima (°C) en Pontevedra y Salceda.

9. Anexos

Experimento 2:

Las plantas del experimento 2 al inicio del cultivo sufrieron altas temperaturas por coincidir con los últimos días de calor del verano. En otoño las temperaturas se acercaron más al óptimo productivo (**Figura A1.3**).

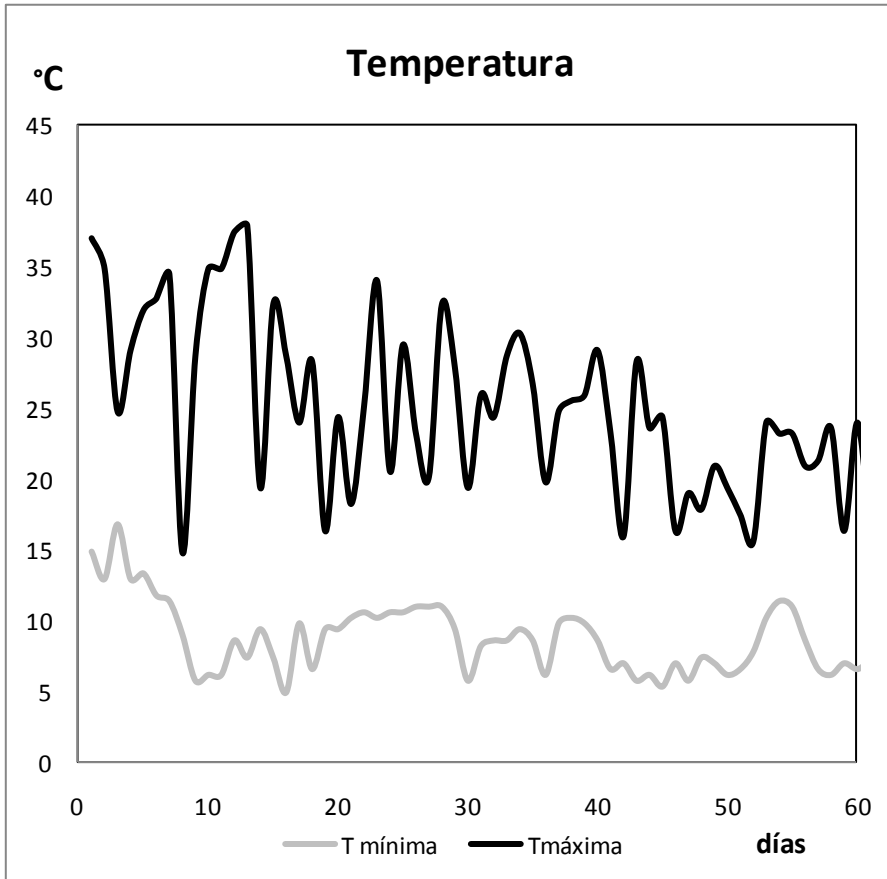


Figura A1.3: Temperatura mínima y máxima (°C) en el experimento 2.

Experimento 3:

Durante el período de cultivo se registraron 15 días con temperaturas máximas superiores a 30°C (**Figura A1.4**), pero al bajar las temperaturas durante la noche las plantas podían recuperarse. Durante el ciclo de cultivo solo hubo un día con temperaturas mínimas superiores a 20°C, que pudieron afectar de forma negativa a la producción de semilla de las variedades que eran sensibles al estrés térmico (Porch, 2006).

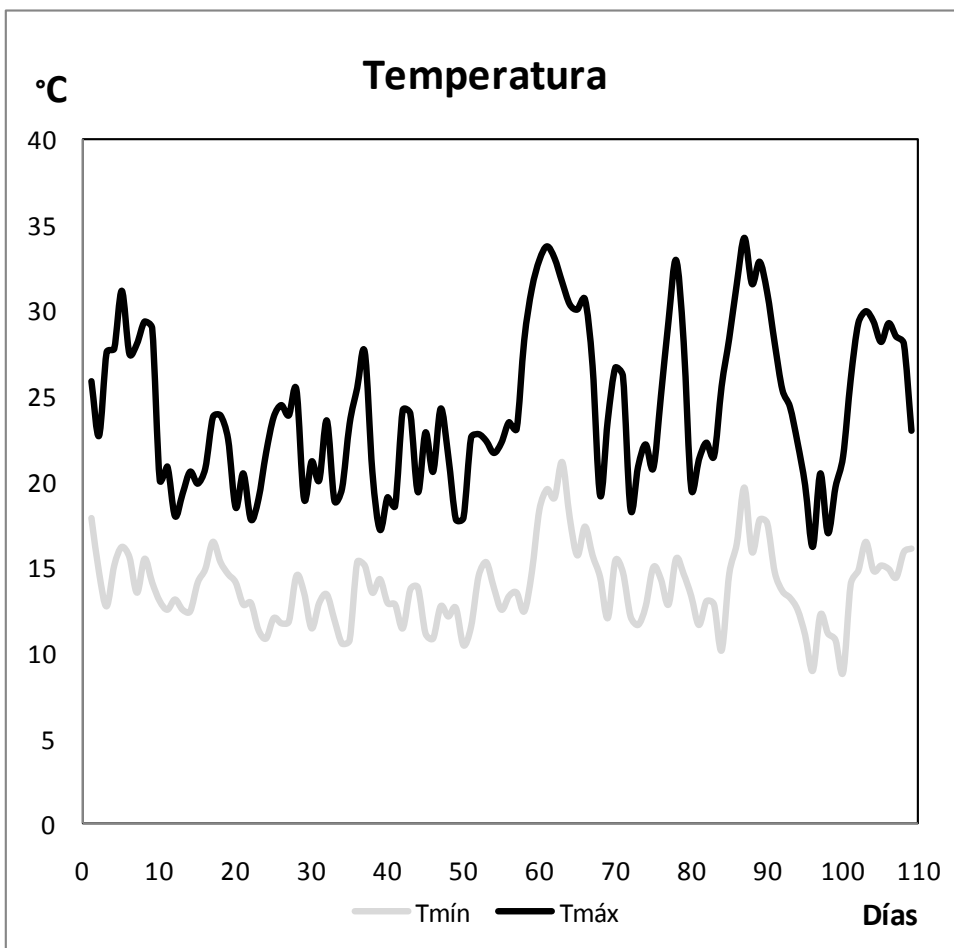


Figura A1.4: Temperatura mínima y máxima (°C) en el experimento 3.

9. Anexos

Anexo 2: Análisis del balance hídrico

Experimento 1:

Antes de realizar cualquier análisis de los datos de campo, se comprobará el grado de estrés hídrico sufrido por las plantas de cada parcela y si este nivel de estrés es coherente con el tratamiento planteado en el ensayo. Al no existir un registro de la humedad del suelo en los diferentes campos de ensayo, se procederá al cálculo del balance hídrico del suelo como mejor forma de estimar la situación hídrica de la planta.

En primer lugar se calculará la evapotranspiración del cultivo de referencia (ET_o), utilizando la ecuación FAO Penman-Monteith (Allen et al., 1998):

$$ET_o = \frac{0,408 \Delta (R_n - G) + \gamma \frac{900}{T + 273} u_2 (e_s - e_a)}{\Delta + \gamma (1 + 0,34 u_2)}$$

R_n radiación extraterrestre (mm día-1)

G flujo del calor de suelo (MJ m-2 día-1)

T temperatura media del aire a 2 m de altura (°C)

u_2 velocidad del viento a 2 m de altura (m s-1)

e_s presión de vapor de saturación (kPa)

e_a presión real de vapor (kPa)

$e_s - e_a$ déficit de presión de vapor (kPa)

Δ pendiente de la curva de presión de vapor (kPa °C-1)

γ constante psicrométrica (kPa °C-1)

Los datos meteorológicos son bastante representativos debido a la proximidad de las parcelas a las estaciones meteorológicas. Los valores de capacidad de campo y el punto de marchitamiento se determinaron experimentalmente (**Tabla A2.1 y Figura A2.1**)

Tabla A2.1: Valores de campo utilizados para la determinación de Θ_{fc} : capacidad de campo. Θ_{wp} : punto de marchitamiento.

Muestra	Peso (g)	Peso seco (g)		Humedad (%)		Densidad Seco kg/l	Peso m ³ en c campo (Kg)	Litros agua por m ³	Θ_{fc} (mm)
	Litro c. campo	muestra	promedio	muestra	promedio				Θ_{wp} (mm)
SALF11	1392	1164		16,4					
SALF12	1391	1158	1172,3	16,8	16,618	1,172	1406	233,6	0,234
SALF13	1435	1195		16,7					0,047
SALF21	1365	1081		20,8					
SALF22	1232	949	1040,0	23,0	22,139	1,040	1336	295,7	0,296
SALF23	1409	1090		22,6					0,059
PONF11	1310	1000		23,7					
PONF12	1248	989	981,3	20,8	23,569	0,981	1284	302,6	0,303
PONF13	1261	955		24,3					0,061
PONF21	1200	1009		15,9					
PONF22	1191	1004	1021,0	15,7	26,466	1,021	1388	367,5	0,367
PONF23	1247	1050		15,8					0,073



Figura A2.1: Ensayo para la determinación de Θ_{wp} : punto de marchitamiento.

9. Anexos

Para los cálculos de la ET_o se utilizaron las fórmulas y coeficientes de Allen et al., 1998. A continuación se calcula la evapotranspiración corregida para las condiciones de estrés hídrico (ET_{caj}) según Allen et al., 1998:

$$ET_{caj} = (K_s K_{cb} + K_e) ET_o$$

K_e coeficiente de evaporación del suelo

K_{cb} coeficiente de evaporación del cultivo

K_s coeficiente de estrés hídrico

Tabla A2.2: Parámetros utilizados para el cálculo de ET_{caj} . Θ_{fc} : capacidad de campo. Θ_{wp} : punto de marchitamiento. **A**FE: agua fácilmente evaporable. **A**ET: agua evaporable total. **A**DT: agua disponible total. **A**FA: agua fácilmente disponible. **Kcb ini**: coeficiente de cultivo inicial. **Kcb med**: coeficiente de cultivo medio. **Kcb**: coeficiente de cultivo final. **P**: fracción de agotamiento de agua fácilmente disponible a una ET_o de 5 mm día⁻¹.

	Pontevedra		Salceda	
	Regadío	Sequía	Regadío	Sequía
Θ_{fc} (mm)	0,36	0,31	0,23	0,30
Θ_{wp} (mm)	0,07	0,06	0,05	0,06
A FE (mm)	9,0	9,0	9,0	9,0
A ET (mm)	32,5	27,7	21,0	26,6
A DT o T A W (mm)	202,2	172,6	130,8	165,6
A FA o R A W (mm)	91,0	77,7	58,9	74,5
Kcb ini			0,15	
Kcb med			1,10	
Kcb fin			0,25	
P (5 mm día ⁻¹)			0,45	

En la **Tabla A2.2** se relacionan los valores de los parámetros utilizados para el cálculo de de ET ajustada. El coeficiente de cultivo inicial (**Kcb ini**) se aplica desde siembra hasta la fase del primer foliolo y el coeficiente de cultivo medio (**Kcb med**) se aplica desde inicio de floración hasta 1ª vaina seca. En el período que va desde primer foliolo al inicio de floración se calcula un coeficiente variable por interpolación, que

tiene el valor del coeficiente K_{cb} ini en la fase de primer foliolo y termina con el valor del coeficiente K_{cb} med en inicio de floración. La misma interpolación se efectúa entre la fase 1ª vaina y la cosecha con los coeficientes K_{cb} med y el coeficiente de cultivo de fin de cosecha (**K_{cb} fin**) respectivamente. Según Allen et al. 1998, la planta de judía extrae el agua a una profundidad de 0,70 m aunque existan otros autores como Muñoz-Perea et al., 2006, que sitúan el horizonte de extracción en los primeros 0,45 ó 0,50 m.

Con la $ET_{c_{aj}}$ y la pluviometría se establece el balance hídrico del suelo, que se muestra en las **Figuras A2.2, A2.3, A2.4 y A2.5**. En las gráficas se representan en negro la fracción de agotamiento (P), que se define como el porcentaje de agua total disponible en el suelo que puede ser consumida en la zona radicular antes de que se produzca estrés hídrico. Por debajo de la línea negra, la planta empieza a sufrir estrés. El agua total disponible por la planta (ADP), que es la cantidad de agua presente en el suelo, se representa con una línea gris oscuro. Y finalmente, en gris claro, se representan las cuatro fases de crecimiento de la planta: inicial, desarrollo del cultivo, fase reproductiva y madurez. La fase inicial comprende desde la siembra hasta el primer foliolo. El desarrollo del cultivo va desde el primer foliolo hasta el inicio de la floración y coincide con el período de la mayor tasa de acumulación de biomasa (Rosales-Serna et al., 2004). La fase de madurez comprende desde la primera vaina seca a la recolección.

En la **Figura A2.2**, las plantas de la parcela de secano de Pontevedra de 2006 sufrieron un estrés hídrico que se prolongó a lo largo del periodo más crítico, el período reproductivo (29 días). En cambio en la **Figura A2.3** se puede comprobar que en la parcela de regadío, las plantas dispusieron de agua durante todo el período de cultivo. En esta gráfica existe un aumento repentino en la cantidad de agua disponible al principio del período reproductivo que corresponde con el único riego que se efectuó.

9. Anexos

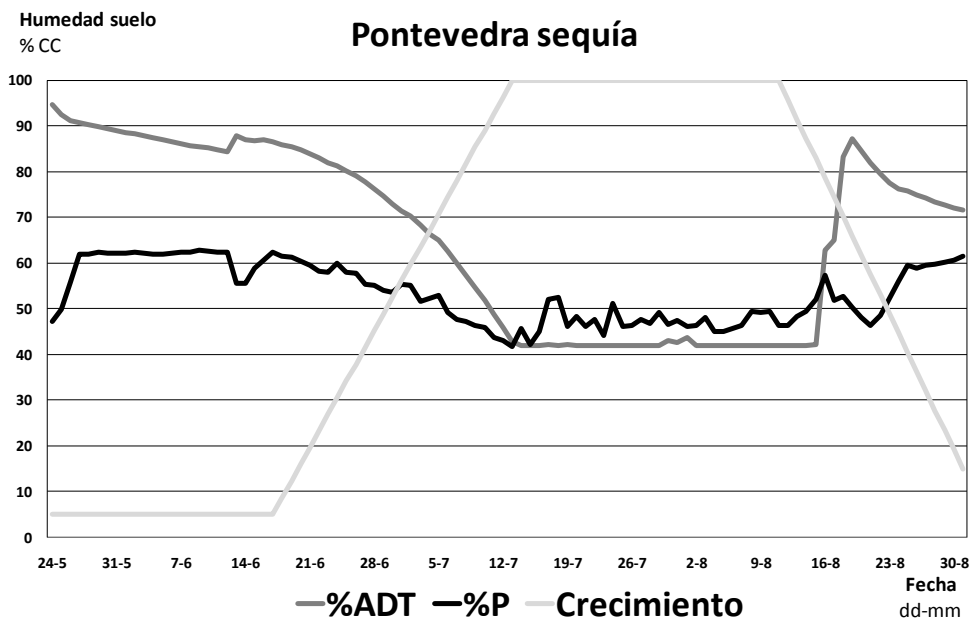


Figura A2.2: Balance hídrico Pontevedra en sequía.

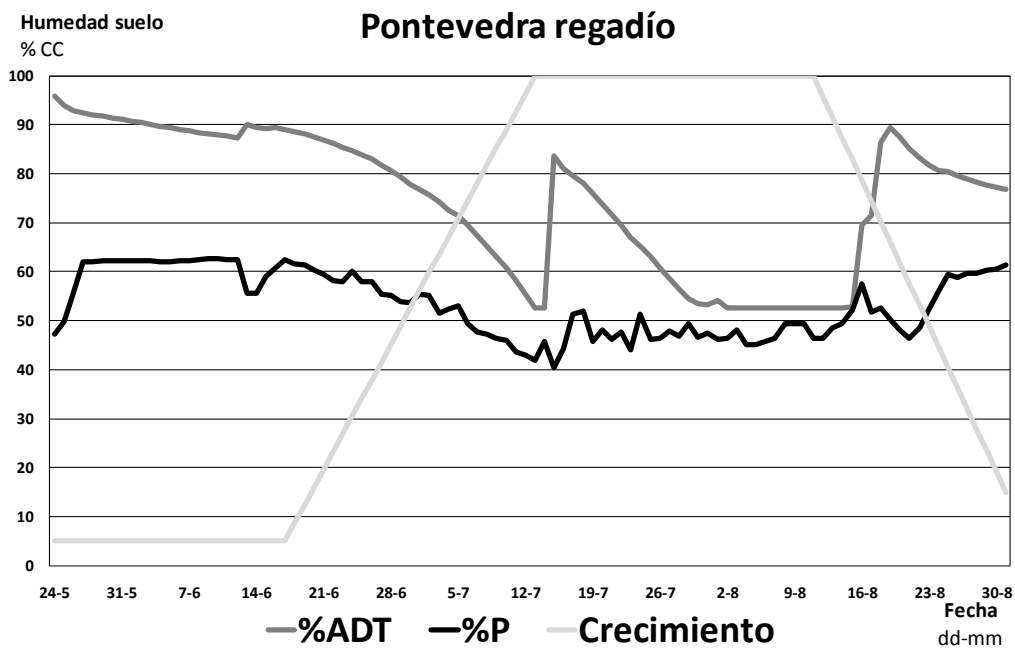


Figura A2.3: Balance hídrico Pontevedra en regadío.

En la **Figura A2.4** se observa que en Salceda a lo largo de todo el período reproductivo y de madurez las plantas (26 días) se encontraron en condiciones de estrés hídrico, lo cual provocó una disminución importante de las producciones, llegando en algunas variedades a ser nulas. En la **Figura A2.5** se comprueba la existencia en Salceda de un pequeño período de estrés hídrico al inicio de la maduración (1 día). Según Boutraa y Sanders (2001b), la producción de grano, disminuye más si el estrés se produce durante la fase de floración que si se produce durante la fase de maduración.

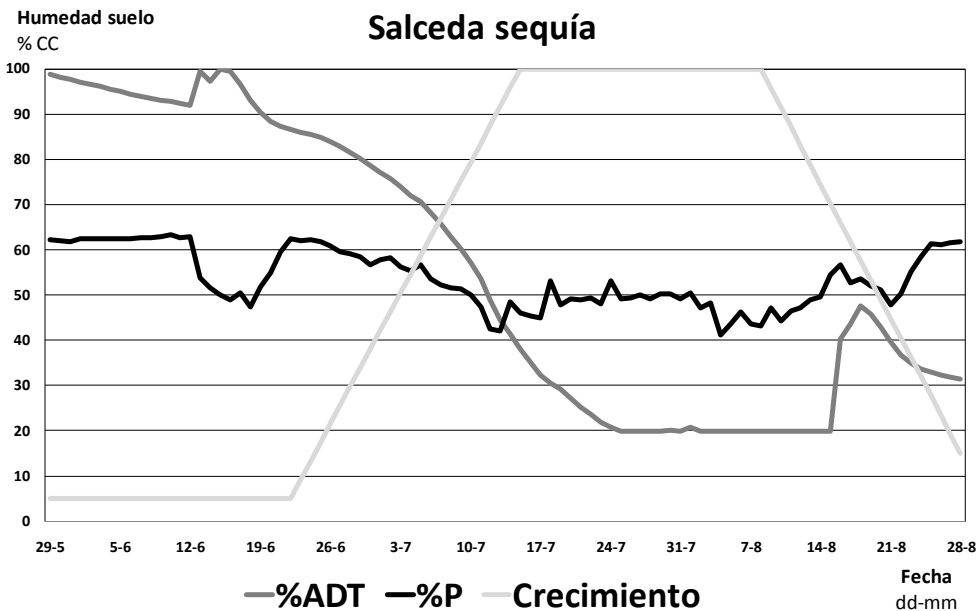


Figura A2.4: Balance hídrico Salceda en sequía.

9. Anexos

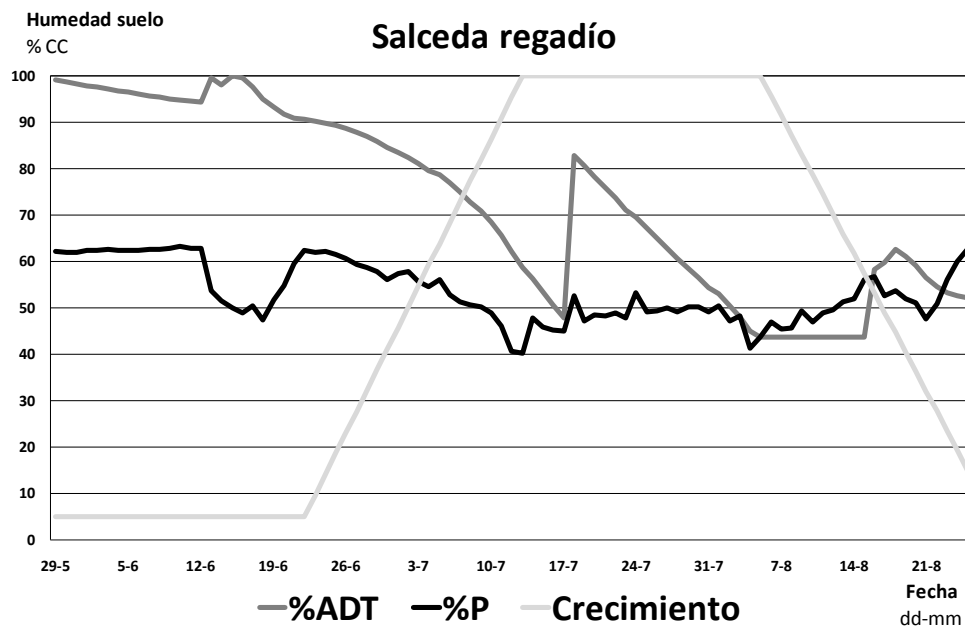


Figura A2.5: Balance hídrico Salceda en regadío.

Como se pudo observar en el análisis del experimento 1, los campos de ensayo de Lalín 2005 y 2006 no se incluyeron. Cuando se hizo el primer análisis de datos se observó que no existían diferencias significativas entre los tratamientos de regadío y sequía en ambos años. Solo cuando se realizó el estudio del balance hídrico (**Figura A2.6 y A2.7**) se observó que en la parcela de condiciones de estrés hídrico (sin riego) las plantas no habían sufrido estrés en todo el ciclo de la planta, lo cual explicaba la falta de diferencias entre tratamientos. En el extremo opuesto se encontraría el campo de ensayo de Xinzo 2005. En las **Figuras A2.8 y A2.9** se pueden observar como en la parcela de regadío hubo 21 días de estrés hídrico, a pesar del riego aplicado. Y en la parcela de sequía hubo estrés hídrico desde el inicio de la floración lo que supuso 67 parcelas sin dato, por lo que este ensayo tampoco se incluyó en el experimento 1.

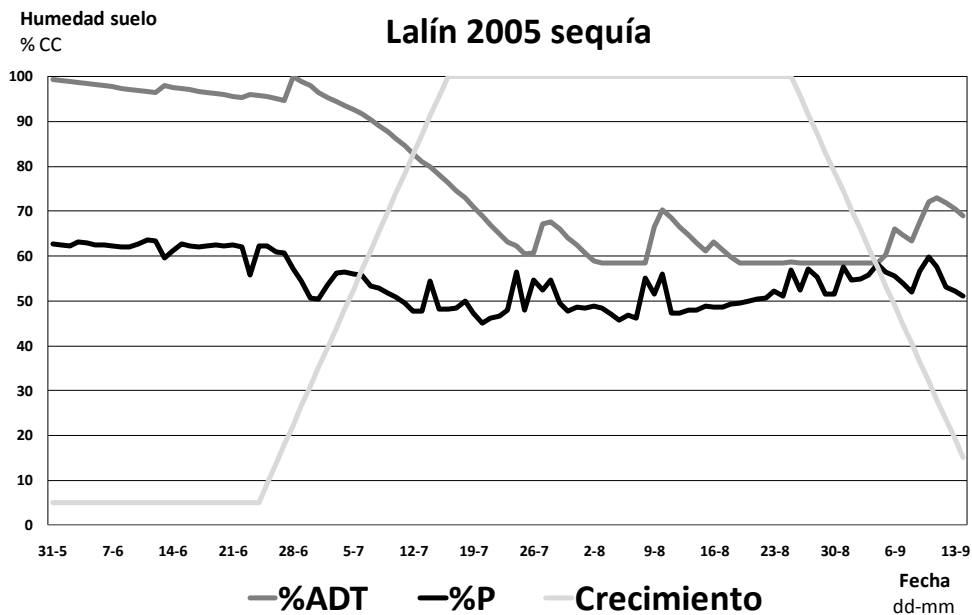


Figura A2.6: Balance hídrico Lalín 2005 en sequía.

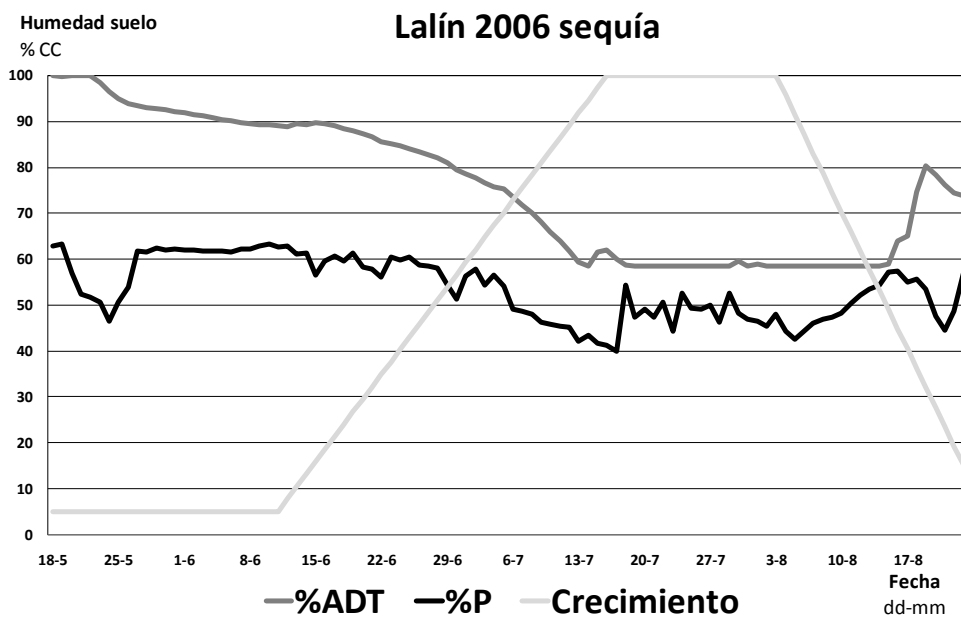


Figura A2.7: Balance hídrico Lalín 2006 en sequía.

9. Anexos

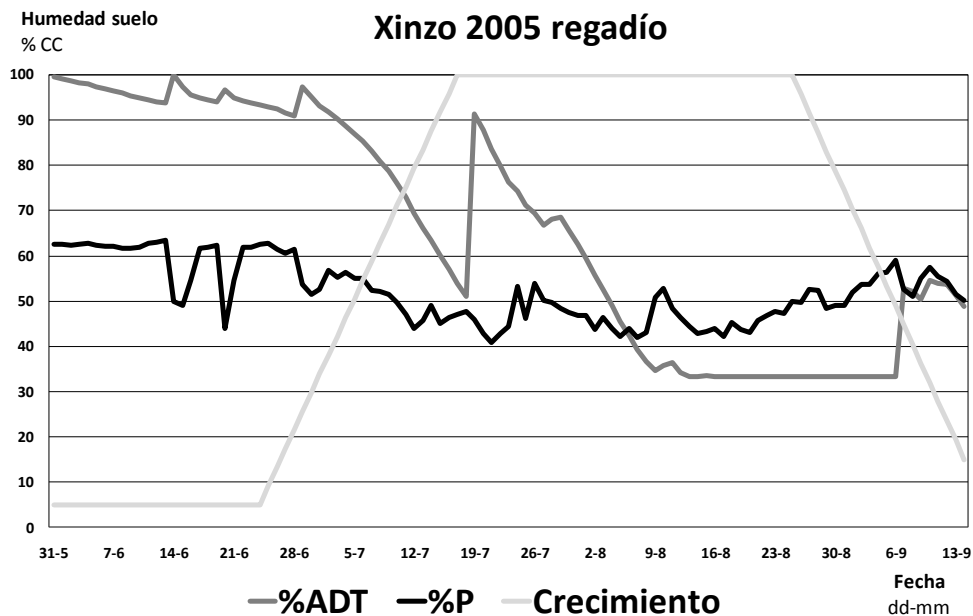


Figura A2.8: Balance hídrico Xinzo 2005 en regadío.

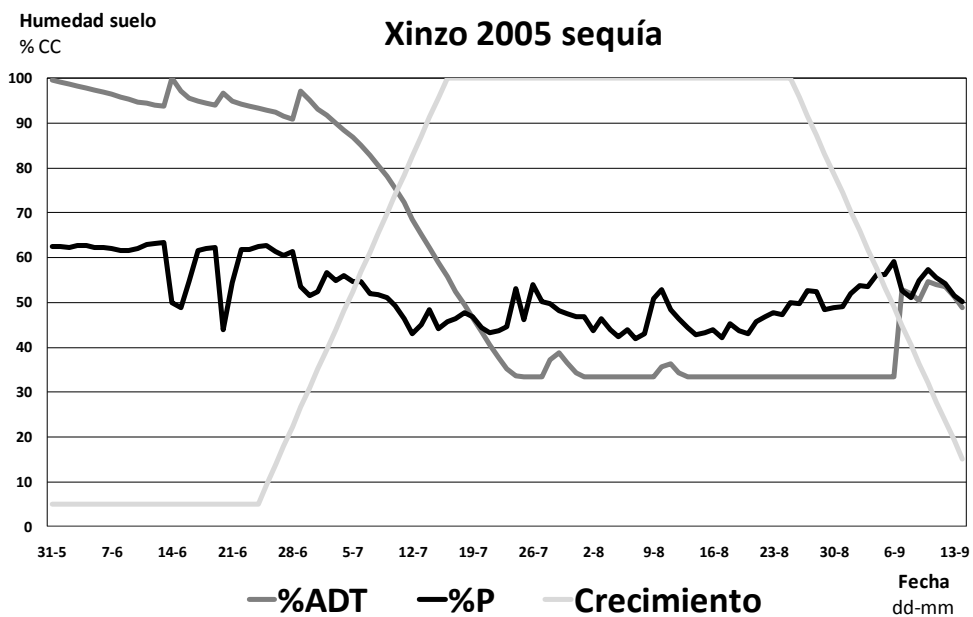


Figura A2.9: Balance hídrico Xinzo 2005 en sequía.

Experimento 2:

El riego, durante el experimento 2, se mantuvo en saturación hasta la emergencia de todas las plantas, de ahí la aparición de valores superiores al 100% de la capacidad de campo. A partir de la emergencia las parcelas de regadío se mantuvieron a capacidad de campo (101,0% de media). Las macetas en ambiente con estrés hídrico se mantuvieron a capacidad de campo hasta la aparición de primer foliolo, luego se redujo paulatinamente hasta el 60% de la capacidad de campo, humedad que se mantuvo hasta el final del experimento (62,4% de media) (**Figura A2.10**).

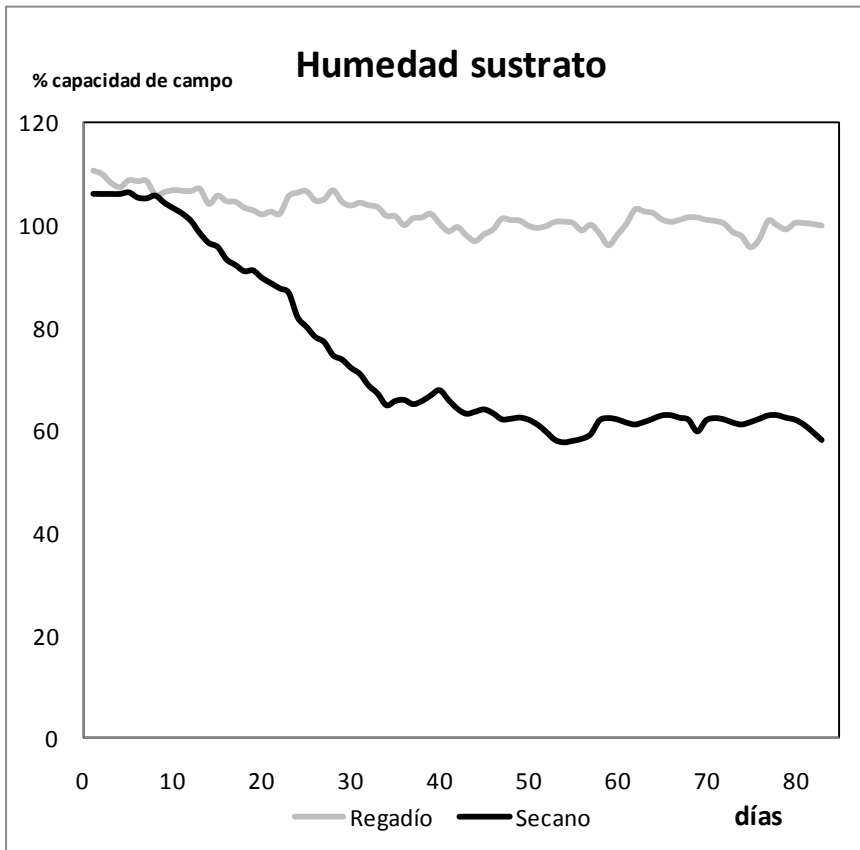


Figura A2.10. Experimento 2: Registro de las sondas de humedad de regadío y sequía en porcentaje de humedad referido a capacidad de campo (CC).

9. Anexos

Experimento 3:

En la **Figura A2.11** se pueden apreciar la evolución de la humedad del suelo en función del porcentaje de la capacidad de campo. Los picos de sierra corresponden a las precipitaciones o a los riegos realizados en la parcela de regadío, lo que pone de manifiesto, que los ensayos al aire libre limita la capacidad de conseguir un rango de humedades uniforme.

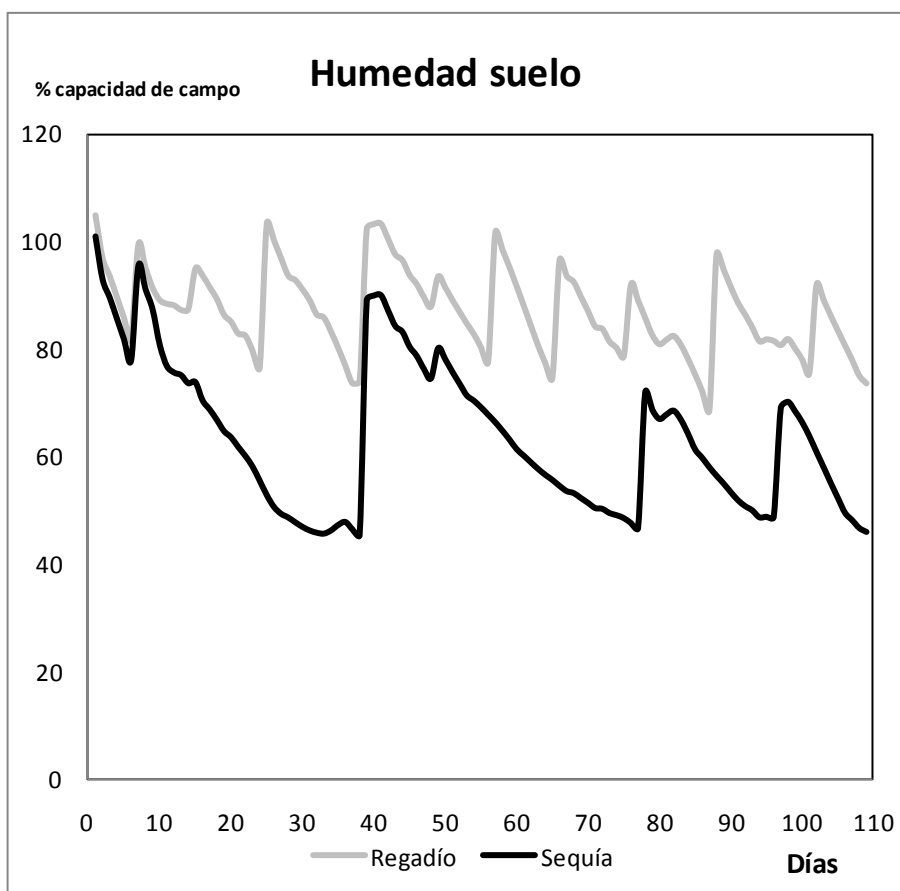


Figura A2.11. Experimento 3: Registro de las sondas de humedad de regadío y sequía en porcentaje de humedad referido a capacidad de campo (CC).

Anexo 3: Análisis de suelos

Experimento 1 y 3:

De cada uno de las parcelas se recogieron 3 muestras de suelo que fueron analizadas por la Estación Fitopatológica de Areeiro, y los valores medios obtenidos se muestran en la **Tabla A3.1**. Los valores altos de materia orgánica, suponen un aporte de nitrógeno no despreciable sobre todo en Salceda. En Salceda el suelo era ligeramente ácido y en Pontevedra fue corregida con una enmienda de calizas sin magnesio de 1500 kg/ha. El fósforo no fue un factor limitante ya que los niveles de fósforo disponible en Salceda y Pontevedra fueron altos.

Tabla A3.1: Valores medios del análisis de suelos de las parcelas utilizadas en el ensayo 1 y 3.

	Pontevedra 2006		Salceda 2006		Salceda 2009	
	Regadío	Sequía	Regadío	Sequía	Regadío	Sequía
PH H ₂ O (1:2,5)	5,4	5,5	6,5	6,2	6,2	6,4
PH KCl (1:2,5)	4,2	4,1	5,5	5,4	5,3	5,6
% Materia orgánica	4,5	4,4	8,7	5,4	7,7	6,3
Fósforo disponible (ppm)	163	135	46	36	32	23
Potasio asimilable (ppm)	234	196	258	282	388	330
Magnesio cambiante (ppm)	66	50	170	342	156	150
Ca ²⁺ (cmol/kg)	3,20	2,20	14,30	9,80	7,10	8,00
Mg ²⁺ (cmol/kg)	0,53	0,40	1,36	2,74	1,25	1,20
Na ⁺ (cmol/kg)	0,09	0,07	0,14	0,17	0,16	0,20
K ⁺ (cmol/kg)	0,58	0,49	0,64	0,70	0,97	0,82
Al ⁺³ (cmol/kg)	1,60	1,60	0,10	0,20	0,20	0,10

