

**EVALUACIÓN DEL ENSAYO BASE 120 PARA ADAPTACIÓN AL ESTRÉS
ABIÓTICO EN HABICHUELA (*Phaseolus vulgaris* L.) MEDIANTE LA UTILIDAD DE
UN CARRO PARA RECOLECCIÓN DE DATOS DE DETECCIÓN PROXIMAL**

Por

Giovanni Lorenzo Vázquez

Tesis sometida en cumplimiento parcial
de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

en

Agronomía

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ
2017

Aprobado por:

James S. Beaver, Ph.D.
Presidente, Comité Graduado

Fecha

Consuelo Estévez de Jensen, Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Timothy G. Porch, Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Elvin Román Paoli, Ph.D.
Director del Departamento

Fecha

Leyda Ponce de León, Ph.D.
Representante de Escuela Graduada

Fecha

Resumen

Las altas temperaturas y la baja fertilidad del suelo son factores abióticos importantes que limitan la producción de la habichuela (*Phaseolus vulgaris* L.) en los trópicos de baja altitud (<1,000 msnm). El Ensayo de Evaluación de Estrés Abiótico de Habichuela (BASE 120) fue sembrado en la Subestación de Isabela de la Universidad de Puerto Rico en junio y noviembre de 2015 y junio de 2016. El objetivo principal del ensayo BASE 120 fue identificar líneas de frijol con mejor adaptación para niveles moderados de estrés térmico y la baja fertilidad del suelo. Los ensayos de campo incluyeron 118 líneas de habichuela y dos líneas de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* L.) de Zamorano, CIAT, USDA-ARS, Universidad de Puerto Rico y la Universidad Estatal de Michigan. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cinco repeticiones. No se aplicó fertilizante, aunque las semillas de las líneas se inocularon con la cepa 632 de *Rhizobium etli* y la cepa 899 de *R. tropici*. A los 45 días después de la siembra, se evaluó la nodulación usando una escala 1-9 CIAT. El contenido de clorofila en las hojas se midió usando un medidor portátil. Se evaluaron las características agronómicas de las líneas y se midió el rendimiento de semilla de cada uno de los tratamientos. Además, se utilizó la metodología "shovelomics" para estudiar las características de las raíces. Se utilizó un carro de detección proximal para tomar datos sobre la temperatura de la planta y datos asociados con biomasa (altura, NDVI y NDRE). Se identificaron líneas con mayor vigor, nodulación y rendimiento de semilla. Entre las mejores líneas se encuentra genotipos que también poseen resistencia al *Virus del Mosaico Dorado Amarillo del Frijol* y al *Virus del Mosaico Común Necrótico del Frijol*, además resistencia a pudrición de raíces y al tizón ceniciento del tallo. Se obtuvieron correlaciones negativas y significativas entre lecturas de pudrición de las raíces y el rendimiento de semilla, entre lecturas de nodulación y días de floración, y entre NDVI (biomasa) y lecturas de nodulación. Estos resultados demuestran que es posible desarrollar líneas de producción de frijol de alto rendimiento que combinen resistencia a los factores limitantes bióticos y abióticos. Las líneas de mayor rendimiento tuvieron valores intermedios de floración, días de madurez y biomasa. La rotación de cultivos y la resistencia a las pudriciones de las raíces promovieron el crecimiento vigoroso de las plantas y permitieron a las plantas absorber más eficientemente los nutrientes del suelo.

Abstract

High temperatures and low soil fertility are major abiotic factors that limit the production of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in the lowland tropics (< 1000 m). The Bean Abiotic Stress Evaluation (BASE 120) trial was planted at the Isabela Substation of the University of Puerto Rico in June and November of 2015 and June of 2016. The principal objective of the BASE 120 Trial was to identify common bean lines with better adaptation to moderate heat stress and low soil fertility. The field trials included 118 common bean and two tepary bean (*Phaseolus acutifolius* L.) lines from the Zamorano, CIAT, USDA-ARS, University of Puerto Rico and Michigan State University programs. A randomized complete block design with five replicates was used. Fertilizer was not applied although seeds of the lines were inoculated with *Rhizobium etli* strain 632 and *R. tropici* strain 899. At 45 days after planting, nodulation was evaluated using the 1-9 CIAT scale. The chlorophyll content in the leaves was measured using a portable meter. The agronomic characteristics of the lines were evaluated and the seed yield of each of the treatments was measured. In addition, the "shovelomics" methodology was used to study root characteristics. A proximal detection cart was used to take data on plant temperature and traits associated with biomass (height, NDVI and NDRE). Lines that had greater vigor, nodulation and seed yield were identified. Among the most promising lines from the BASE 120 Trial are genotypes that also showed resistance to *Bean Golden Yellow Mosaic Virus*, *Bean Common Mosaic Necrosis*, root rot and charcoal rot. These results demonstrate that it is possible to develop high-yielding bean breeding lines that combine resistance to both biotic and abiotic constraints. The highest yielding lines had intermediate values for days to flowering, days to maturity, and biomass. Negative and significant correlations between root rot scores and seed yield, between nodulation scores and days to flowering, and between NDVI (biomass) and nodulation scores were observed. Crop rotation and root rot resistance promoted plant vigor and allowed the plant to more effectively absorb soil nutrients.

Dedicatoria

Presento la dedicación de este título universitario a mi madre Damaris O. Vázquez Badillo que ha dedicado su vida y su arduo trabajo para cumplir y satisfacer mis necesidades y las de mis hermanas. A mis tíos Awilda I. Vázquez y Jorge L. Pagán por su ayuda incondicional durante toda mi vida escolar y universitaria. A mi abuelo Gerardo Vázquez, por su soporte y apoyo en todo momento y a quien considero mi padre. A mis hermanas Sullyvette Barreto y Julivette Nieves, por su amor y su comprensión. A la memoria de mi abuela Julia Badillo porque desde niño me cuidó y veló por mí y porque antes de su partida se aseguró de que tanto mis hermanas como yo tuviéramos el apoyo necesario para continuar nuestra preparación académica. Al resto de mi familia porque todos creyeron en mí y siempre pude contar con sus consejos y ánimo en los momentos difíciles. Sin su empuje y buenos deseos hubiera sido imposible poder lograr y alcanzar este grado universitario.

Agradecimientos

Agradezco inmensamente a Dios por haberme permitido culminar esta etapa de mi formación universitaria, porque me capacitó y preparó para poder cumplir con este trabajo y porque en Él encontré la fortaleza para poder lograrlo. Al Dr. James S. Beaver por su incondicional ayuda, por compartir su conocimiento y por brindarme la oportunidad de realizar este trabajo bajo su supervisión. Al Dr. Timothy G. Porch por su colaboración y por su confianza para hacer de este trabajo uno muy relevante y de gran valor. A la Dra. Consuelo Estévez por su continua disposición para llevar a cabo este proyecto y por su instrucción en el salón de clases.

Muy agradecido de Abiezer González y Kemuel Pérez por su compromiso, entrega y dedicación desde el inicio para con este trabajo. Agradezco al personal de la Subestación Experimental Agrícola de Isabela: Eric, Oscar, Jonathan, Elvin, Orlando, Alfredo por su excelente labor en el campo para el manejo del ensayo. A Jesús Linares por su ayuda en el uso y manejo del carrito de recolección de datos. Agradezco a todos mis profesores y personal del departamento de Ciencias Agroambientales del recinto. Agradezco a mis compañeros de clases en especial Bernardo Mateo y Héctor Martínez por su apoyo en esta etapa.

Agradezco infinitamente a toda mi familia por ser mi inspiración para completar este grado de maestría. Por el ánimo que me brindaron en momentos difíciles, por estar al pendiente de mí y nunca dejarme solo. Todo mi agradecimiento para todas estas personas antes mencionadas porque reconozco que sin su ayuda este logro no hubiera sido posible ya que todos aportaron significativamente, mi eterno agradecimiento a todos.

Lista de contenido

Resumen.....	ii
Abstract.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de contenido.....	vi
Lista de tablas.....	vii
Lista de figuras.....	viii
Introducción.....	1
Objetivos.....	3
Revisión de Literatura.....	3
Materiales y Métodos.....	25
Resultados y Discusión.....	37
Conclusiones.....	79
Literatura citada.....	81

Lista de Cuadros

Cuadro 1. Genotipos de habichuela del ensayo BASE 120 sembradas en Isabela, Puerto Rico en junio y noviembre de 2015 y junio de 2016.....	26
Cuadro 2. Resultados de análisis de suelo del ensayo BASE 120 en junio y noviembre de 2015 y junio de 2016.....	38
Cuadro 3. Medias de cuadrados medios de las características de los 20 genotipos con los mayores rendimientos del ensayo BASE 120 sembrado en Isabela, Puerto Rico en junio de 2015.....	40
Cuadro 4. Medias de los cuadrados medios de las características de los 20 genotipos con los mayores rendimientos del ensayo BASE 120 sembrado en Isabela, Puerto Rico en noviembre de 2015.....	43
Cuadro 5. Medias de los cuadrados medios de las características de los 20 genotipos con los mayores rendimientos del ensayo BASE 120 sembrado en Isabela, Puerto Rico en junio de 2016.....	45
Cuadro 6. Prueba tipo III de efectos fijos para rendimiento de semilla.....	46
Cuadro 7. Prueba tipo III de efectos fijos para días a la florecida.....	47
Cuadro 8. Prueba tipo III de efectos fijos para número de días de la florecida a la cosecha.....	47
Cuadro 9. Prueba tipo III de efectos fijos para nodulación.....	50
Cuadro 10. Prueba tipo III de efectos fijos para calificación de pudrición radicular.....	50

Cuadro 11. Prueba tipo III de efectos fijos para calificación de tizón cenizo del tallo.....	52
Cuadro 12. Prueba tipo III de efectos fijos para BRGA.....	52
Cuadro 13. Prueba tipo III de efectos fijos para contenido de clorofila (SPAD).....	54
Cuadro 14. Medias de cuadrados medios de las características de los genotipos del ensayo BASE 120 sembrado en Isabela, Puerto Rico en junio y noviembre de 2015 y junio de 2016.....	55
Cuadro 15. Medias de cuadrados medios de las características de los 20 genotipos con los mayores rendimientos generales de las tres épocas de siembra del ensayo BASE 120 sembrado en Isabela, Puerto Rico en junio y noviembre de 2015 y junio de 2016.....	59
Cuadro 16. Correlaciones Spearman y valores P de las características de los genotipos del ensayo BASE 120 sembrado en Isabela, Puerto Rico en junio y noviembre de 2015 y junio de 2016.....	60
Cuadro 17. Media de los cuadrados medios de las características de los genotipos del ensayo BASE 120 sembrado en Isabela, Puerto Rico en junio de 2016.....	65
Cuadro 18. Correlaciones Pearson y valores P de las características de los genotipos del ensayo BASE 120 sembrado en Isabela, Puerto Rico en junio de 2016.....	68
Cuadro 19. Prueba tipo III de efectos fijos para NDRE.....	72
Cuadro 20. Prueba tipo III de efectos fijos para NDVI.....	72
Cuadro 21. Prueba tipo III de efectos fijos para temperatura en la copa de las plantas.....	72

Cuadro 22. Prueba tipo III de efectos fijos para altura de plantas.....72

Lista de figuras

Figura 1. Carrito para la toma de datos de detección proximal.....	34
Figura 2. Granos de varias líneas con buena clasificación por rendimiento.....	41
Figura 3. Síntomas iniciales de pudrición radicular causada por <i>Fusarium spp.</i>	44
Figura 4. Lote experimental de la tercera época de siembra (junio 2016).....	44
Figura 5. Nódulos de <i>Rhizobium spp.</i> en raíces de habichuela (clasificación de 1 en la escala del CIAT).....	48
Figura 6. Diferentes niveles de pudrición radicular en líneas de habichuela.....	50
Figura 7. Temperatura ambiental durante el mes de junio de 2016 en la Subestación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico.....	69
Figura 8. Temperatura ambiental durante el mes de julio de 2016 en la Subestación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico.....	69
Figura 9. Temperatura ambiental durante el mes de agosto de 2016 en la Subestación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico.....	70
Figura 10. Análisis de componentes principales de características agronómicas (rendimiento, días a la florecida, días a la madurez).....	73
Figura 11. Análisis de componentes principales de las características de rendimiento, altura de plantas y NDVI.....	74
Figura 12. Análisis de componentes principales de rendimiento enfermedades.....	75

Figura 13. Análisis de componentes principales de rendimiento y nodulación.....76

Figura 14. Análisis de componentes principales de rendimiento, temperatura en la copa de las plantas y altura de plantas.....78

Introducción

La habichuela (*Phaseolus vulgaris* L.) pertenece a la familia de las leguminosas. Esta familia de plantas tiene la capacidad de llevar a cabo el proceso de fijación biológica de nitrógeno al asociarse a bacterias del género *Rhizobium*. Estudios realizados para determinar el origen de la habichuela indican que este cultivo se originó de las Américas. Se ha encontrado evidencia arqueológica en el área de los Andes, Perú y Mesoamérica que apoya esta teoría (Gepts & Debouck, 1991). Luego de su domesticación en el sur de Centroamérica y el norte de Suramérica dieron origen independiente a las variedades Andinas y Mesoamericanas domesticadas (Cortés, 2013). Mundialmente la habichuela es una de las leguminosas de grano de mayor producción. Según datos estadísticos de la Organización de Alimentos y Agricultura de las Naciones Unidas (FAO por sus siglas en inglés), en el año 2013 la producción mundial de habichuela seca alcanzó 23.1 millones de toneladas métricas en un área cultivada de 29.2 millones de hectáreas y 20.7 millones de toneladas métricas en un área de 1.5 millones de hectáreas de habichuela verde para el año 2012. Los principales países productores de habichuela son Brasil, China, India, México y Estados Unidos, donde los rendimientos de semilla varían entre 600 kg/ha en México hasta 1,600 kg/ha en Estados Unidos (Fernandez-Luqueño et al., 2010). Este cultivo es la fuente principal de proteínas en muchos países de escasos recursos donde se utiliza como sustituto de la carne. Debido a la amplia diversidad genética de las características anatómicas, agronómicas y fenológicas de la habichuela, este grano es cultivado en una diversidad de sistemas de producción donde muchos agricultores de escasos recursos carecen de acceso al riego, abonos y otros insumos para la producción de habichuela.

Como cualquier otro cultivo, la habichuela es afectada por factores abióticos que intervienen en el desarrollo del cultivo en el campo. Uno de los factores que más perjudica este

cultivo en los trópicos húmedos son las altas temperaturas. Entre las limitaciones asociadas a los cambios climáticos, las altas temperaturas y la sequía son las que mayor impacto tienen en la productividad de la habichuela (Porch et al., 2013). Según Ramírez-Villegas et al. (2012), se espera que para el año 2050 las temperaturas globales aumenten entre 0.5 y 1 °C en el mejor escenario y entre 3 y 6 °C en el peor de los casos. La habichuela es de gran importancia como fuente de proteína en países tropicales que frecuentemente tienen suelos poco fértiles y habitantes que no tienen la capacidad económica ni acceso a los insumos. Por lo tanto, es muy importante contar con nuevas variedades de habichuela que poseen mejor adaptación al estrés abiótico.

Otro problema asociado a la producción agrícola en los países desarrollados es el uso excesivo de fertilizantes nitrogenados. Esta práctica tiene un efecto adverso no solo en desperdicio de dinero sino sobre el agua subterránea (Attar et al., 2012) y los cuerpos de agua cercanos a las áreas de producción. Además, se ha comprobado que la adición de cantidades excesivas de fertilizantes no aumenta los rendimientos de las cosechas (Novotny, 2009).

La simbiosis de las leguminosas con bacterias diazotróficas, comúnmente denominados como rizobios, implica beneficios significativos a bajo costo para los agricultores en países de América del Sur y Central y en África donde la habichuela representa la fuente más importante de proteínas para muchas comunidades rurales (Oliveira, 2011).

Objetivos

1. Identificar genotipos del ensayo BASE 120 que tengan mejor adaptación en ambientes de altas temperaturas y en suelos de baja fertilidad.
2. Identificar las características morfológicas y fenológicas relacionados a una mejor adaptación a las altas temperaturas y/o la baja fertilidad de suelo.
3. Evaluar la utilidad de coleccionar datos fenotípicos utilizando el carro de detección proximal del programa de investigación de habichuela del USDA-ARS-TARS.

Revisión de Literatura

Efectos del estrés térmico

Como consecuencia del cambio climático registrado en los pasados años, se estima un aumento en la temperatura global de entre 3 y 5° C para el año 2100, lo que resultará en períodos de altas temperaturas más frecuentes en EE.UU. y otras áreas templadas y un estrés térmico constante para la producción de habichuelas en América Central, el Caribe y otras regiones del mundo (Porch & Griffiths, 2012). Este cambio en temperatura se debe mayormente a aumentos en la concentración de CO₂ en la atmósfera y su efecto de invernadero.

La temperatura es un factor climático que afecta la fenología de las plantas. Se sabe que incrementos en la temperatura de la atmósfera pueden ser detectados fácilmente en los datos fenológicos (Alvarado et al., 2002). Ming et al. (2011), tienen la hipótesis de que temperaturas elevadas estimulan el desarrollo y floración temprano de las plantas y reduce la producción final de biomasa. Bajo condiciones de elevadas concentraciones de CO₂ podría incrementar las tasas

fotosintéticas (Drake et al., 1997) y la acumulación de biomasa (Jackson et al., 1995) durante la etapa de crecimiento vegetativo.

La hipertermia y otros tipos de estrés presentan una seria amenaza a la sobrevivencia ya que causa un despliegue y mal plegamiento de proteínas lo que resulta en perturbación de homeostasis de proteínas intracelulares (Kapoor & Roy, 2015). La exposición a estrés de calor puede causar una serie de cambios en la morfología, anatomía y fisiología de las plantas, provocando reajustes metabólicos en la célula lo que a su vez afecta negativamente el crecimiento, desarrollo y por consecuencia pérdidas en rendimiento (Khanna-Chopra et al., 2015).

Algunos mecanismos posibles que influyen en la abscisión de los órganos reproductivos bajo estrés térmico en habichuela son la disponibilidad reducida de fotoasimilados, la interrupción de las relaciones fuente-sumidero, la disminución de la actividad metabólica de los órganos reproductivos, la infertilidad y el fracaso del desarrollo embrionario (Rainey & Griffiths, 2005a). Debido a esto el estrés térmico de alta temperatura es uno de los factores ambientales que más afecta la etapa reproductiva de las plantas. La floración es considerada una de las etapas fenológicas más sensibles a temperaturas elevadas y es que durante la antesis las altas temperaturas reducen la producción de semillas (Rainey & Griffiths, 2005b).

Durante el desarrollo reproductivo la exposición a altas temperaturas en cualquier fase, antes o durante la antesis, causa un daño mayor conduciendo a una reducción de semillas en diversos cultivos incluyendo el trigo (*Triticum aestivum*), arroz (*Oryza sativa*) y maíz (*Zea mays*) (Wahid et al., 2007). En un estudio llevado a cabo por Suzuki et al. (2001), en el que se evaluó la habilidad de tinción de polen utilizando el tinte acetocarmín, se analizó la relación entre la habilidad de tinción (viabilidad) de polen y la producción de vainas en habichuela verde luego de

la exposición a estrés térmico. Los autores llegaron a la conclusión de que la disminución en la capacidad de tinción (viabilidad) del polen debido a las altas temperaturas conduce a un desprendimiento de los órganos reproductivos de las plantas, lo que resulta en una reducción del rendimiento.

Los períodos de climas calientes que imponen estrés de temperaturas altas o sequías durante el desarrollo reproductivo están usualmente asociados con grandes pérdidas en rendimiento de semilla y estas pérdidas están atribuidas a un aumento en la abscisión de flores y vainas y reducción de número de semillas/vaina, peso y calidad de semilla (Konsens et al., 1991). El estrés térmico causa un desbalance en procesos metabólicos celulares ya que diferentes enzimas envueltas en estos procesos poseen diferentes temperaturas óptimas (Khanna-Chopra & Semwal, 2015).

Uno de los mecanismos utilizados para estudiar el efecto de las temperaturas es mediante la medición de la temperatura en la copa de las plantas. Investigaciones previas sugieren la temperatura de la copa de las plantas como parámetro para determinar las consecuencias de sequías en cultivos e identificar genotipos de habichuela (Ambachew et al., 2015) y gandules (*Cajanus cajan*) (Patel et al., 2001) con mayor tolerancia a este estrés abiótico. La sequía se relaciona con las mayores temperaturas de la copa de hojas debido a menos disponibilidad de agua y una reducción en transpiración que produce aumentos en la temperatura del follaje de las plantas (Percy et al., 1971).

Con el desarrollo de nuevas tecnologías en los últimos años se ha propuesto aplicar estos avances a la agricultura como una herramienta que permita obtener datos reales en lotes experimentales de mayor tamaño. Existe un sinnúmero de equipos adaptados para medir el efecto de los factores ambientales que causan estrés abiótico en las plantas. Han sido adaptados

instrumentos para la detección proximal en diferentes cultivos; uva (*Vitis spp.*) (Kotsaki, 2016), cebada (*Hordeum vulgare*) (Leufen et al., 2014) y trigo (*Triticum spp.*) (Schirrmann & Garz, 2015). Las mediciones que se llevan a cabo con estos instrumentos se hacen por medio de sensores que miden las variables fenotípicas de interés. El fenotipo de plantas basado en sus características en el campo (“field-based phenotyping”) puede transformar la caracterización de poblaciones de plantas para la investigación genética y el mejoramiento de los cultivos mediante el uso de vehículos con múltiples conjuntos de sensores (White et al., 2012). El uso de esta tecnología en vehículos o carros de detección proximal reduce el tiempo que toma la recopilación de datos en lotes experimentales extensos. Según Eitel et al. (2010), los sensores que operan a nivel de la copa de las plantas tienen una eficiencia considerablemente mayor en la toma de datos comparado con el uso de sensores para toma de datos a nivel de hojas individuales. Bai et al. (2016), reportaron el desarrollo de un sistema de múltiples sensores con el objetivo de recolectar mediciones representativas de características a nivel de parcelas de plantas. Estos nuevos procedimientos buscan relacionar el genoma de plantas con su fenoma para tener un panorama sobre los efectos que ejercen los factores ambientales en el desarrollo de los cultivos. El interés generado en el uso de estos instrumentos es debido a que las técnicas para la toma de datos fenotípicos requieren un gran número de plantas, lo que provoca que el tiempo que se debe dedicar a la toma de datos sea muy extenso. Como resultado, estas evaluaciones de campo para el desempeño de plantas son mucho más rápidas y promueven mediciones dinámicas a través de todo el ciclo de las plantas y no depende de ensayos periódicos destructivos (Furbank & Tester, 2011). Muchas de las respuestas fenotípicas de interés para el mejoramiento de cultivos, especialmente las que están relacionadas al potencial de rendimiento y tolerancia a estrés abiótico, implican un conjunto de rasgos que se miden mejor según lo expresado entre

comunidades de plantas que crecen en condiciones edáficas y climáticas agrónomicamente relevantes (Andrade-Sánchez et al., 2014).

Las plantas han desarrollado mecanismos que le permiten tolerar y evadir ciertos factores causantes de estrés. Algunas adaptaciones fisiológicas ante el estrés causado por altas temperaturas incluyen cambios en la orientación de las hojas, pérdida de calor por aumento en transpiración, expresión de proteínas relacionadas al estrés y alteraciones en la composición de lípidos de las membranas (Hasanuzzaman et al., 2013). Es importante conocer la fenología de los cultivos en cuanto a los cambios en las condiciones ambientales que los rodean. Según Alvarado et al. (2002), los datos fenológicos proporcionarán información adicional acerca de las condiciones climáticas, incluso cuando los datos meteorológicos no estén disponibles o sean inadecuados y la fenología ha sido definida como el estudio de la secuencia temporal de eventos biológicos recurrentes, con la finalidad de interpretar las causas bióticas y abióticas de tales secuencias.

Mejoramiento para estrés térmico

Las temperaturas altas, mayores de 30°C en el día y/o mayores de 20°C en la noche, durante el desarrollo reproductivo reduce el rendimiento de la habichuela (Rainey & Griffiths, 2005b). Según Konsens & Kigel (1991), la tendencia de calentamiento con el aumento más acelerado de las temperaturas mínimas comparado con las temperaturas máximas plantea una amenaza para la habichuela debido a su mayor sensibilidad al aumento en temperaturas nocturnas. Debido al aumento registrado en las temperaturas es muy importante el desarrollo de líneas tolerantes a altas temperaturas con el objetivo de mantener buenos materiales genéticos en los bancos de germoplasma. Las altas temperaturas son ahora una de las principales preocupaciones para la producción de cultivos y se han establecido metas importantes para lograr

avances que permitan mantener altos rendimientos de los cultivos en ambientes con estrés térmico (Hasanuzzaman et al., 2013).

Desde hace varios años se han creado esfuerzos para desarrollar investigaciones que puedan contribuir a la identificación, selección y mejora de características que permitan tolerar el efecto de las altas temperaturas en la habichuela. Medidas de la biomasa sobre la superficie del suelo, así como el rendimiento y sus componentes, son importantes en la determinación de respuestas genotípicas al estrés por altas temperaturas y sequía y será un objetivo clave en el mejoramiento; además, evaluaciones de características agronómicas tradicionales como biomasa aérea, días hasta la florecida y días hasta la madurez han sido en el pasado asociados a tolerancia a estrés por sequía y altas temperaturas (McClellan et al., 2011).

El fitomejoramiento de la habichuela envuelve la colaboración de diversos sectores alrededor del mundo. Es importante contar con una amplia reserva de germoplasma (variación genética), áreas geográficamente representativas, el empleo de medidas directamente relacionadas al efecto del estrés abiótico, así como el uso de técnicas más avanzadas como lo son los marcadores moleculares para realizar la selección asistida por marcadores. Prácticas de selección de genotipos tolerantes a altas temperaturas comprenden evaluaciones de campo bajo diferentes condiciones ambientales. Según Porch (2006), se han desarrollado pocos índices de estrés para la evaluación de altas temperaturas en plantas. En un ensayo llevado a cabo por Porch (2006), se evaluó el desempeño de 15 genotipos diferentes de habichuela. Mediante el uso de variables catalogadas como índices de estrés se relaciona el efecto del estrés con el rendimiento y se han podido lograr avances en la selección de genotipos superiores. Algunas de estas variables incluyen la media geométrica de rendimiento de semilla, el índice de tolerancia y

el índice de susceptibilidad al estrés son indicadores del desempeño de los genotipos a través de los años o los ambientes.

El fitomejoramiento ha sido una herramienta clave para aumentar el potencial y mejorar la estabilidad de los rendimientos de los cultivos y por ende la producción de alimentos a nivel mundial. Resulta necesario e indispensable contar con cultivares capaces de desempeñarse eficientemente bajo diversas condiciones. El objetivo principal de un buen programa de fitomejoramiento consiste en alcanzar una respuesta eficiente de parte del cultivo a los diferentes factores que afectan los diversos estados fenológicos de la planta. El estado fenológico que más se ve afectado por estrés de altas temperaturas es la florecida. Mediante el mejoramiento de la tolerancia de la habichuela a estrés térmico se aumenta la estabilidad de los rendimientos y se extiende el área geográfica cultivable (Rainey & Griffith, 2005b). La selección de genotipos tolerantes a altas temperaturas envuelve la exposición de materiales a condiciones de estrés que permitan la expresión de diferencias significativas entre las líneas bajo evaluación.

Shonnard & Gepts (1994), evaluaron en condiciones de campo un total de 187 líneas de habichuela. El ensayo se realizó en dos localidades que mostraban un rango de temperaturas máximas/mínimas entre 34°C/13°C. Las características que se utilizaron para medir el efecto del estrés fueron el aborto de yemas florales, flores, polen, vainas y granos. Entre los componentes de rendimiento que se evaluaron fueron vainas/planta, semillas/vainas y peso seco. En un estudio llevado a cabo por Rosas et al. (2000), se obtuvieron resultados que mostraban la sensibilidad de los genotipos al estrés térmico. Uno de los efectos provocados por las altas temperaturas fue un número reducido de vainas y menor número de granos en las vainas; además se obtuvo baja calidad del grano, presentando granos arrugados con características no comerciales. En este

estudio el rendimiento de semilla y el valor agronómico fueron utilizados para seleccionar genotipos tolerantes a altas temperaturas.

Por medio de estudios de selección de genotipos tolerantes a altas temperaturas se puede descubrir el tipo de herencia que tiene esta característica en el cultivo de la habichuela. Estudios realizados para determinar el tipo de herencia consisten en seleccionar parentales tolerantes y susceptibles y sus respectivas generaciones producto de los cruces de éstos parentales. Se ha establecido que la tolerancia a las altas temperaturas es una característica cuantitativa a la que se debe prestar mayor atención (Shonnard & Gepts, 2004). El desarrollo de variedades tolerantes al estrés causado por excesivo calor permitiría el cultivo del frijol en algunas regiones tropicales de poca altitud con condiciones más favorables de suelo y lluvias, donde se podría producir en épocas en que no compitieran con otros cultivos de mayor valor económico, usándose al frijol como cultivo de rotación o en sistemas múltiples intercalados (Rosas et al., 2000). Aunque el genotipo complete su ciclo de vida es importante que su rendimiento de semilla sea aceptable para ser catalogado como un genotipo tolerante a las altas temperaturas.

Los trabajos de identificación de materiales genéticos superiores son muy útiles para el descubrimiento de fuentes de resistencia a enfermedades y tolerancia a factores abióticos adversos. A través de esfuerzos cooperativos entre instituciones de investigación en América Central y el Caribe se han desarrollado líneas y variedades de habichuela con características superiores para la resistencia a múltiples de enfermedades y factores ambientales. Debido a su buen desempeño a través de la región, varios cultivares mejorados han sido liberados en América Central y el Caribe en relativamente períodos cortos de tiempo (Rosas et al., 2004). La liberación de cultivares mejorados, como la variedad de habichuela blanca ‘Verano’ en Puerto Rico y la variedad rojo pequeño ‘CENTA EAC’ en El Salvador han sido fuentes alternas para la

producción de este grano en Centroamérica y el Caribe. Según Beaver et al. (2008), 'Verano' tiene tolerancia a altas temperaturas y resistencia al virus del mosaico dorado amarillo (BGYMV), virus del mosaico común (BCMV) y al tizón bacteriano común lo que permite la producción de habichuela en Puerto Rico durante épocas más cálidas y húmedas.

Fijación biológica de nitrógeno

El nitrógeno, en forma elemental de N_2 , es el gas más abundante en la atmósfera terrestre. Sin embargo, el nitrógeno es el nutrimento más limitante para la producción agrícola. El nitrógeno en la atmósfera no puede ser utilizado directamente por las plantas y por esto las plantas lo absorben del suelo en forma de nitratos y amonio. Este elemento juega un papel muy importante en la composición de moléculas vitales como lo son los aminoácidos, las proteínas, las enzimas y la clorofila, que están relacionadas con la expansión de la lámina foliar, el aumento de las tasas fotosintéticas, el aumento en el crecimiento y el desarrollo de la planta (Okumura et al., 2011). El nitrógeno es uno de los elementos esenciales en la planta debido a su rol en la producción de clorofila, que es fundamental para los procesos fotosintéticos (Muñoz-Huerta et al., 2013). Rondon et al. (2006) evaluaron el contenido de clorofila de las hojas como una medida indirecta para determinar la deficiencia de nitrógeno en las hojas. Las dos principales fuentes de nitrógeno para la producción agrícola son los fertilizantes sintéticos y la fijación biológica de nitrógeno por plantas leguminosas (Peoples et al., 2009). Debido a su importancia para el crecimiento y desarrollo de las plantas se hacen aplicaciones de fertilizantes ricos en nitrógeno alcanzando muchas veces la sobre aplicación en campos de producción agrícola.

La fijación biológica de nitrógeno (FBN) envuelve la intervención de microorganismos capaces de establecer una simbiosis con plantas leguminosas. La relación simbiótica es

controlada genéticamente tanto por la planta como por la bacteria. El establecimiento de una interacción exitosa requiere el reconocimiento de señales entre ambos organismos simbióticos, debido a esto la evolución de especificidad del hospedero envuelve genes de ambos organismos: el rizobio y la planta hospedera (Wang et al., 2012). Como cualquier otra característica de las plantas, la fijación biológica de nitrógeno interactúa con factores ambientales que influyen su eficiencia. Algunos factores ambientales que afectan la fijación biológica de nitrógeno son la temperatura, humedad, acidez y varios componentes químicos del suelo tales como el contenido de nitrógeno, fósforo, calcio y molibdeno (Hardarson, 1993).

Existe relativamente un pequeño grupo de especies de microorganismos que fijan nitrógeno mediante la simbiosis con plantas hospederas. Entre ellos se pueden identificar bacterias y actinomicetos; algunos son de vida libre lo que quiere decir que éstos fijan el nitrógeno para su propio beneficio. Además, existen organismos que crean la simbiosis con plantas donde ambos organismos son beneficiados por esta interacción. En el caso de las bacterias, la simbiosis consiste en la invasión del tejido radicular de la planta por lo que ambos organismos deben estar presentes en el suelo.

Los rizobios son bacterias gram-negativas limitadas a un pequeño grupo de clados, mayormente pertenecientes a *Alphaproteobacteria* (Dwivedi et al., 2015). Estas bacterias pertenecientes a la familia *Rhizobiaceae* llevan a cabo un proceso para transformar el nitrógeno elemental (N_2) reduciéndolo, para luego ser fijado en iones de amonio o nitratos. Mediante la excreción de compuestos orgánicos por las raíces de las leguminosas, los rizobios activan los genes *nod* (Kasuzi, 2013), creando estructuras en las raíces de la planta leguminosa conocidos como nódulos donde, por medio de la enzima nitrogenasa, se reduce el N_2 atmosférico. La relación entre la bacteria y el hospedero es muy específica ya que la planta produce los

compuestos orgánicos que le permiten al rizobio reconocerla e iniciar la producción de una serie de exopolisacáridos para acceder a la planta y dar paso a la asociación entre ambos organismos. Se pueden identificar varios géneros de bacterias fijadoras de nitrógeno, entre las especies más prominentes se encuentran: *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium* y *Sinorhizobium* (Rogel et al., 2010). Entre las especies de *Rhizobium* que crean simbiosis con *Phaseolus vulgaris* se destacan *R. tropici* y *R. etli* y sus cepas superiores identificadas y utilizadas en las últimas décadas como cepa CIAT-899 (*R. tropici*), la cual es originaria de Colombia, puede tolerar rangos de pH entre 5 y 7 y tiene la capacidad de proliferar a temperaturas de hasta 40°C (Martínez-Romero et al., 1991). Además *R. tropici* tiene mayor capacidad de formar nódulos en genotipos de habichuela de origen andino (Nodari et al., 1993). Según Martínez-Romero et al. (1998), los genotipos de habichuela de origen mesoamericanas con alta capacidad de fijación de nitrógeno nodulan pobremente con cepas de *R. tropici*. Además, *R. tropici* obstruyó la nodulación por *R. etli* cuando ambas cepas se encontraban presentes. La cepa de la especie *R. etli* identificada como superior y utilizada ampliamente es la cepa CIAT-632. *R. etli* bv. *phaseoli* ha sido encontrada como la más común en nódulos de habichuela en México, Ecuador-Perú y Argentina (Martínez-Romero, 2003). El propósito de utilizar una mezcla de estas dos especies es tener materiales que tengan la habilidad de nodular con los genotipos de origen mesoamericano y andino.

Los programas de fitomejoramiento para aumentar la habilidad de fijación biológica de nitrógeno han sido desarrollados con el objetivo de disminuir la dependencia a los fertilizantes sintéticos. La selección de genotipos con alta habilidad de fijación biológica está ligada al interés económico de reducir los costos por aplicaciones de abonos nitrogenados. Se han evaluado diferentes variables con el objetivo de identificar genotipos de habichuela con mayor habilidad

de fijación biológica de nitrógeno. Ghasemi et al. (2006) evaluaron el número de nódulos por planta, peso de nódulos, número de vainas por planta y peso de vainas como los criterios más importantes para mejorar la fijación biológica de nitrógeno en cultivares de habichuela. Además, para determinar el potencial de nodulación de cultivares y líneas genéticamente diferentes, los fitomejoradores deben observar diferentes características que afectan la fijación biológica de nitrógeno (Reza & Ghasemi, 2011). A través de la medición del contenido de ureídos (forma en que se acumula el nitrógeno en el tejido aéreo de la planta) es posible distinguir indirectamente genotipos con mayor actividad de nodulación (Kabahuma, 2013). Graham & Vance (2000), identificaron algunas prácticas para aumentar la eficiencia de selección para mayores niveles de la fijación biológica de nitrógeno. Los trabajos para mejorar la fijación de N_2 no se pueden llevar a cabo en aislamiento, se deben tomar en consideración factores tales como arquitectura de las raíces y tolerancia a baja disponibilidad de P en el suelo. Se debe tomar en consideración la eficiencia del cultivo en repartir el N obtenido y la translocación al grano. Graham & Vance (2000), identificaron un cultivar de soya que acumuló 3.0 g N por planta en un suelo de bajo N pero sólo el 50% de éste fue translocado al grano. En cambio, otro cultivar de soya acumuló 1.7 g N por planta y translocó 80% a la semilla. Se debe seleccionar la nodulación de plantas con cepas de rizobios locales teniendo en cuenta la excreción de flavonoides por parte de la planta hospedera y su especificidad con el rizobio. Por último, se puede lograr avances en la selección para mayor fijación biológica de nitrógeno utilizando marcadores moleculares aunque es considerada una característica de herencia cuantitativa. Se ha logrado mejorar esta característica mediante programas de retrocruces que son comunes para características que envuelven pocos genes (Graham & Vance, 2000).

Mineralogía de suelo y fijación biológica de nitrógeno

Está ampliamente comprobado que los nitratos en el suelo inhiben el desarrollo de nódulos y la actividad de la nitrogenasa (Dwivedi et al., 2015). La habichuela puede obtener el nitrógeno tanto de fuentes orgánicas como de fuentes inorgánicas aplicadas como fertilizantes o en forma de N_2 fijado obtenido de manera simbiótica (Park & Buttery, 1989). En comparación con la aplicación de nitrógeno proveniente de fertilizantes inorgánicos, la fijación biológica de nitrógeno no necesariamente resulta en aumentos en los rendimientos de la habichuela. Según Buttery et al. (1987), las aplicaciones de N generalmente causan una reducción en la nodulación y en la fijación de N_2 . La relación entre los niveles de nitratos en el suelo y la tasa de fijación de nitrógeno es compleja. Niveles bajos de nitratos promueven la actividad de los nódulos, pero niveles altos de nitratos inhiben severamente la formación y actividad de los nódulos.

En un estudio llevado a cabo por Akter et al. (2014), 22 genotipos de habichuela fueron evaluados para identificar los que poseen características deseables de nodulación que puedan ser utilizados como parentales en programas de mejoramiento. Los genotipos fueron expuestos a cuatro diferentes tratamientos: 1) bajo en nitrógeno no inoculado, 2) bajo en nitrógeno inoculado con el inoculante comercial de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, Nitrastik-D® , 3) bajo en nitrógeno inoculado con el inoculante comercial de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*, Nodulator®, y 4) alto en nitrógeno no inoculado (+N). Según sus resultados se comprobó que existe interacción entre los tratamientos y los genotipos ya que ambos tratamientos de inoculación y +N resultaron en mejor crecimiento radicular comparado con el tratamiento bajo en N no inoculado. Varios genotipos aumentaron peso seco de las raíces entre un 27-70% con Nitrastik-D® y entre 34-110% con Nodulator® comparado con el tratamiento no inoculado bajo en nitrógeno. El peso seco de nódulos fue significativamente mayor con cualquiera de los dos inoculantes comparado

con el tratamiento sin inoculación bajo en nitrógeno o +N. Comparado con la inoculación, la aplicación de fertilizante (+N) redujo significativamente el número y el peso seco de los nódulos.

Park & Buttery (1989), identificaron 16 líneas con buena capacidad de nodulación y fijación de nitrógeno en condiciones de suelos fértiles con cantidades adecuadas de nitrógeno. Las líneas fueron inoculadas con una suspensión de *Rhizobium phaseoli* cepa TAL182 al momento de la siembra y fueron evaluadas bajo 3 tratamientos (N=0, N=3.5mM N y N=10.5mM N). En el ensayo se tomaron datos visuales de nodulación, los cuales reflejaron que a medida que se aumentó el nivel de aplicación de N la puntuación de nodulación disminuyó. Además, se identificaron 3 genotipos de habichuela ('Italian Barlotti', 'California Light Red Kidney' y 'Kentucky Wonder A') cuya puntuación de nodulación sufrió leves cambios a medida que aumentó el nivel de N. Estos genotipos tuvieron las mejores puntuaciones en nodulación cuando el nivel de N=0 y son los más tolerantes a diversas concentraciones de N en el suelo. El contenido de N (mg pl^{-1}) fue medido, según los datos se concluyó que bajo los 3 niveles de aplicación de N uno de los 3 genotipos antes mencionados (Italian Barlotti) tuvo la concentración máxima de N por planta. En resumen, los autores llegaron a la conclusión de que cuando la aplicación de nitratos no se traduce en aumento en biomasa implica que la función de los nódulos es óptima para mantener el crecimiento de un genotipo en particular.

Formar y mantener la asociación simbiótica entre el rizobio y la planta hospedera conlleva un gasto de energía por parte de la planta. Se estima que por cada gramo de N_2 fijado por *Rhizobium* la planta hospedera fija entre 1 y 20 gramos de C mediante la fotosíntesis (Mulongoy, 1992). El proceso de fijación biológica de nitrógeno es energéticamente costoso ya que se requieren al menos 16 moléculas de ATP por cada molécula de N_2 reducida (Cárdenas-Navarro et al., 2004).

El fósforo es el segundo elemento esencial más limitante para la producción de cultivos. Según Runge-Metzer (1995), 30-40% de la tierra destinada a la producción de alimentos tiene rendimientos limitados por la disponibilidad de fósforo. La limitada disponibilidad de este nutriente se debe a la formación de complejos insolubles con cationes en el suelo, específicamente con cationes de hierro y aluminio en condiciones ácidas del suelo (Vance et al., 2003). Además, las leguminosas son particularmente afectadas por la acidez del suelo que limita tanto la sobrevivencia como la persistencia de la bacteria noduladora, y el proceso de nodulación (Graham & Vance, 2000). La deficiencia de P puede ser una limitación crítica para este cultivo, ya que la elevada exigencia de P en las legumbres es consistente con la participación de P en las altas tasas de transferencia de energía que deben tener lugar en el nódulo simbiótico (Attar et al., 2012). La deficiencia de este nutriente puede limitar la fijación de N₂ mediante sus efectos de crecimiento y sobrevivencia del rizobio, la formación de los nódulos, su funcionamiento y el crecimiento de la planta hospedera; pero la respuesta de las plantas leguminosas que dependen de N₂ a un suministro reducido de P ha sido poco estudiado (Tang et al., 2001). Además de los altos requerimientos de ATP para el funcionamiento de la nitrogenasa, más la necesidad de P para la traducción de señales, la biosíntesis de membranas, el desarrollo de los nódulos y su función contribuyen a requerimiento de P (Graham & Vance, 2000).

En un ensayo llevado a cabo por Attar et al. (2012) se estudió el efecto de tres niveles de fertilización con P sobre el crecimiento, nodulación y rendimiento y la capacidad de la planta para fijar nitrógeno por los nódulos de las raíces de varias líneas recombinantes de habichuela. Tang et al. (2001) estudiaron el efecto de dos niveles de fertilización con fósforo (5 y 25µM de P) en dos genotipos de habichuela (BAT 477 y DOR 364) sobre el nitrógeno total fijado en los días 14-42 después del trasplante. Según sus resultados la cantidad de nitrógeno fijado por la

línea BAT 477 aumentó de 30.2 mg N/planta con una aplicación de 5 μ M P a 53.2 mg N/planta con aplicación de 25 μ M P. La línea DOR 364 también fijó una mayor cantidad de nitrógeno total en el tratamiento de 25 μ M P. Este dato fue significativamente diferente entre tratamientos de P no así entre genotipos. Sin embargo, no se observaron diferencias en el funcionamiento de nódulos ya que las medidas de la actividad de la enzima nitrogenasa no disminuyó cuando se disminuyó la aplicación de P de 25 μ M P a 5 μ M P. Según Kouas et al. (2005), la formación y funcionamiento de nódulos en respuesta a deficiencias de P parecen estar relacionadas a la especie de la leguminosa, a la línea del material y a las condiciones experimentales; además puede depender de la duración y la severidad del estrés.

En la actualidad los sistemas de producción de la habichuela han alcanzado una gran diversidad de ambientes con características climáticas que frecuentemente son sub-óptimas para la producción de este cultivo. Los agricultores tienen la opción de sembrar nuevos cultivares con diferentes características. Sin embargo, las áreas de cultivo de frijol hoy en día se extienden mucho más allá de la actual distribución de frijol silvestre (Toro et al., 1990). Es importante conocer la habichuela silvestre y sus ecosistemas nativos para elucidar patrones de adaptación de la habichuela cultivada e identificar los retos a los que fitomejoradores y agrónomos se enfrentan para combatir los efectos de estrés ambiental (Beebe et al., 2013b).

Mejoramiento para fijación biológica de nitrógeno

Los programas de fitomejoramiento necesitan desarrollar métodos más eficientes para seleccionar para mayores niveles de fijación biológica de nitrógeno (FBN). Muchos factores climáticos y nutricionales del suelo afectan la nodulación. Por lo tanto, es esencial mejorar la capacidad genética de nodulación para mejorar la fijación biológica de nitrógeno bajo las

condiciones ambientales a los que está expuesto el cultivo (Redden et al., 1990). Según Bliss (1991), sólo se han reportado escasos adelantos para aumentar la FBN a pesar de sus grandes beneficios.

La fijación biológica de nitrógeno es considerada una característica de herencia cuantitativa (Graham & Vance, 2000). La manera más simple y directa para mejorar esta característica es mediante la identificación de cultivares criollos bien adaptados con alta capacidad de fijación de nitrógeno (Bliss, 1993). Bliss (1991), argumentó que una selección efectiva para aumentar la fijación de N_2 en leguminosas depende de los siguientes factores: 1) selección de características como criterios de selección que puedan ser medidas precisas y económicas y que permitan discriminar entre genotipos superiores e inferiores; 2) variabilidad en el germoplasma; 3) identificación de parentales genéticamente variables que también tengan características agronómicas deseables; 4) el uso de unidades de selección que faciliten una cuantificación precisa de los criterios de selección y permitan la producción de una progenie de las plantas seleccionadas; y 5) el empleo de un programa de mejoramiento que provea una ganancia genética máxima por año para aumento en la fijación de N_2 y recombinación con características agronómicas deseables. No cabe duda de que el genotipo de la planta, la cepa de la bacteria, y características del suelo como la temperatura y la disponibilidad de nitrógeno y otros nutrientes son factores clave que afectan la fijación biológica de nitrógeno. Por esto es importante implementar criterios efectivos que permitan medir la habilidad de fijación de la planta. Además, es imperativo tener un método que permita distinguir entre el N obtenido del suelo y la fijación biológica de nitrógeno.

Uno de los métodos ampliamente utilizados para distinguir entre el nitrógeno fijado y el nitrógeno obtenido del suelo es la determinación de N^{15} . El N tiene un peso atómico de 14 (N^{14}),

lo que significa que posee 7 protones y 7 neutrones. Otros átomos de N pueden tener 6 neutrones (N^{13}) u 8 neutrones (N^{15}). La abundancia isotópica de N^{15} usualmente se expresa como un porcentaje del N total y es rutinariamente medida por espectrometría de masa (Unkovich et al., 2008). Según Boddey et al. (2000), teóricamente el uso de la técnica del isótopo N^{15} permite separar la identificación del N derivado del suelo del N derivado del aire y es posible diferenciar entre especies no fijadoras de N creciendo solo con el N disponible en el suelo ya que estas especies mostrarán una abundancia de N^{15} significativamente diferente a las especies que utilizan N_2 para la FBN. Este método ha sido útil en identificar diferencias entre cultivares de soya (George et al., 1993; Houghnandan et al., 2008). Además Boddey et al. (2000) utilizaron este método para estimar la tasa de fijación de N_2 *in situ* en diferentes especies de árboles perennes. El método se basa además en la identificación adecuada de especies no fijadoras de N_2 como referencia que utilicen la misma fuente de N del suelo que las especies fijadoras de N_2 (Pons et al., 2007). Nyemba & Dakora (2010), investigaron la dependencia de la fijación de N_2 de varias especies de leguminosas para su nutrición de N y cuantificaron y compararon la cantidad de N fijado por cada especie. El proceso consistió en tomar muestras de plantas completas de los cultivos de interés y de las malezas asociadas a estos cultivos en diferentes regiones de Zambia en África, luego secaron la biomasa aérea de los cultivos y las malezas y se procedió a realizar el análisis para N^{15} . Los cultivos muestreados fueron el maní bambara (*Vigna subterranea* L. Verdc), caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp), maní (*Arachis hipogaea* L.) y habichuela común (*Phaseolus vulgaris* L.). Valores altos de δN^{15} significan menor %Ndfa (nitrógeno derivado del ambiente). En la región norte de Zambia el %Ndfa y el N fijado fue mayor en el maní (69.7% y 566.0 mg N por planta), seguido por el maní bambara (62.9% y 440.1 mg N por planta) y la habichuela (2.6% y 2.4 mg N por planta).

La selección para un mayor potencial de fijación de nitrógeno en leguminosas debe ser abordada con relación al hospedero/*Rhizobium* claramente en mente (McFerson et al., 1982). Se ha documentado una alta variación en genotipos de habichuela para la capacidad de fijación biológica de nitrógeno. Algunos de los parámetros comúnmente evaluados para determinar la habilidad de nodulación de plantas y su selección son la cantidad y masa de nódulos que han sido positivamente correlacionados con aumento en la fijación de nitrógeno en varias especies de plantas, incluyendo la habichuela (Bliss, 1991). El lugar de desarrollo de los nódulos en la raíz también tiene un efecto en fijación biológica de nitrógeno. Pereira et al. (1993) demostraron que una gran porción del nitrógeno fijado en líneas de habichuela con alta habilidad de fijación de nitrógeno ocurre en nódulos formados en las raíces laterales y contabilizaron la cantidad y el peso de nódulos entre los días 21 y 28 después de la siembra de plantas, etapa previa a la antesis. Las plantas en el campo fueron muestreadas en la etapa R3 (plena floración) y en R9 (madurez de cosecha) para determinar el contenido de nitrógeno. La etapa en la cual se alcanza la mayor cantidad de nódulos es la etapa previa a la florecida. Además, la localización de los nódulos tiene un efecto sobre la eficiencia de fijación ya que nódulos más cercanos al tallo serán más eficientes. En este estudio se llevó a cabo un análisis dialélico y selección recurrente y se demostró que la habilidad de nodulación es un componente simbiótico hereditario muy importante. Pereira et al. (1993) realizaron tres ciclos de selección recurrente para seleccionar un mayor número de nódulos y obtuvieron líneas con mayor habilidad de nodulación.

Temperatura y Fijación Biológica de Nitrógeno

En el medio ambiente se encuentran factores abióticos que afectan la formación de la simbiosis entre la planta y la bacteria. Entre los diferentes estreses ambientales que limitan esta asociación se encuentra la privación de fotosintatos, estrés hídrico, salinidad, nitratos en el suelo,

temperatura, presencia de metales pesados y biocidas (Walsh, 1995). Aunque se han trabajado grandemente con la selección de genotipos tolerantes a altas temperaturas, se conoce muy poco sobre la fijación biológica de nitrógeno en las líneas tolerantes a las altas temperaturas. La fijación biológica de nitrógeno en habichuela es generalmente débil, esto puede ser debido a la sensibilidad de la simbiosis a varios estreses ambientales incluyendo la temperatura del suelo (Piha & Munns, 1987). En el caso de la temperatura; el funcionamiento de los nódulos en la habichuela es óptimo en temperaturas entre 25 y 30°C y se ve obstaculizado por temperaturas en la raíz de entre 30 y 33°C (Hussein, 1999). La temperatura del suelo es un factor fundamental para el establecimiento de la simbiosis. Se han encontrado cepas de rizobios asociadas con plantas en regiones de altas temperaturas. En un estudio llevado a cabo por Michaels et al. (1994) la síntesis de proteínas de *Rhizobium tropici* cepa CIAT-899 es menos termosensitiva ya que se observó una mayor sobrevivencia de células bajo temperaturas moderadas en comparación con la cepa CNPAF512 de *Rhizobium leguminosarum*. La síntesis de proteínas a una temperatura de 40°C no se vio afectada en *R. tropici* cepa-899 durante las primeras 5 horas de tratamiento pero sí fue drásticamente reducida en *R. leguminosarum*. En un ensayo llevado a cabo por Fernández et al. (1997) se evaluaron 30 líneas de habichuela y una línea no noduladora en presencia y ausencia de nitrógeno. El ensayo se realizó en experimentos de campo bajo temperaturas moderadas (menor a 30°C/20°C: máxima/mínima) y temperaturas altas (mayor a 30°C/20°C: máxima/mínima) y no fueron inoculados con *Rhizobium* para permitir que cepas nativas adaptadas a las temperaturas formaran la simbiosis. Se tomaron datos de peso de nódulos, rendimiento de plantas (medida indirecta) y rangos de temperatura mínima y máxima del ambiente. Los resultados confirmaron la hipótesis de que las temperaturas altas afectan el desarrollo de nódulos ya que la media del peso de éstos fue mayor en ambientes con temperatura

moderada en comparación con temperaturas altas. Además, el tamaño de los nódulos fue menor bajo condiciones de altas temperaturas. Sin embargo, las líneas 92BG-402 y XAN-176 produjeron la mayor cantidad y peso de nódulos en ambos ambientes.

Genética de la fijación biológica de nitrógeno

Existe evidencia concreta de los efectos que tienen los diversos factores abióticos sobre la fijación biológica de nitrógeno y sus limitaciones en la sobrevivencia de la bacteria rizobio en el suelo. En adición a los factores abióticos que interfieren en la fijación biológica de nitrógeno se conoce que la relación hospedero-rizobio es esencial en el éxito de este proceso ya que algunas especies de rizobio tienen un estrecho rango de hospederos comparados con otras especies de la bacteria (Dwivedi et al., 2015). El proceso de infección comienza con la presencia del microbio en la rizósfera y la transferencia de señales entre ambos organismos. Durante la etapa inicial en las fases de nodulación existen señales moleculares que activan puntos de control. Estas señales son compuestos flavonoides y factores Nod (Perret et al., 2000). Una vez se ha formado la asociación entre el microorganismo y el hospedero la fijación biológica de nitrógeno envuelve la activación de genes que dan comienzo al proceso de fijación. La nodulación es un procedimiento de múltiples pasos que envuelve la expresión de genes específicos tanto de la bacteria como de la planta hospedera (Hungria & Stacey, 1997). Los organismos fijadores de N_2 contienen una enzima especial llamada dinitrogenasa que posee dos componentes: proteína MoFe (dinitrogenasa) y una proteína de hierro (dinitrogenasa reductasa) (Akter et al., 2014). Los genes *nifH* codifican para la enzima dinitrogenasa reductasa (Laguerre et al., 2001). En el proceso de fijación ocurren varios eventos que incluyen la activación de las enzimas que son las responsables de catalizar la reducción biológica del dinitrógeno en amonía. Esta reacción tiene un alto costo energético y es muy sensitiva a la concentración de oxígeno (Dixon & Kahn, 2004).

Según Perret et al. (2000), aunque muchas plantas hospederas y rizobios eficientes tienen la habilidad de establecer la simbiosis con más de una especie de organismo, sólo ciertas combinaciones de simbioses resultan en la formación de nódulos fijadores de nitrógeno, las asociaciones ineficientes producen nódulos vacíos o con bacteroides no fijadores de nitrógeno. En el caso de la habichuela, ésta tiene la capacidad de establecer simbiosis con un amplio grupo de especies nativas de rizobios, debido a esto es considerada como un cultivo con baja capacidad de fijación biológica de nitrógeno (Franco et al., 2001).

Mediante técnicas moleculares de reacción en cadena de la polimerasa en transcripción reversa (RT-PCR), Akter et al. (2014), identificaron genotipos de habichuela que pueden ser utilizados como parentales en programas de mejoramiento y la cuantificación de la expresión del gen *nifH*. Fueron evaluadas 9 líneas de habichuelas entre las que se incluyó la línea no nodulante R99. La intensidad de la banda del fragmento *nifH* en el gel 2% de agarosa fue diferente en cada genotipo mostrando así que existe preferencia en la amplificación en algunos de los genotipos. La expresión del gen fue cinco veces mayor en el genotipo con la mayor fijación de N₂ entre todos los genotipos que crecieron en condiciones de bajo nitrógeno. Encontraron una correlación positiva entre la expresión del gen *nifH* y una alta fijación de N₂ que podría ser utilizado como un indicador que permite detectar genotipos con buenas habilidades de fijación biológica de nitrógeno (Dixon & Kahn, 2004).

Materiales y Métodos

La investigación se realizó en la Subestación de Isabela de la Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico. Sus coordenadas geográficas son: Latitud N 18°27'732", Longitud W 067°03'355", ubicada a 128 metros sobre el nivel del mar (msnm). El suelo donde se realizó el experimento es arcilloso de color rojizo y pertenece al orden Oxisol. En la Subestación Experimental de Isabela la temperatura mínima/máxima promedio anual es de 22.2/ 27.8°C, con una precipitación anual promedio de 1,630 milímetros.

Los ensayos se sembraron en tres épocas: la primera durante el mes cálido de junio de 2015; la segunda durante el mes de noviembre de 2015 y la tercera durante el mes de junio de 2016 en un predio diferente al que se ocupó para las primeras dos épocas. Esto permitió llevar a cabo una comparación del desempeño de los genotipos en condiciones de estrés de alta temperatura con el desempeño en condiciones de temperaturas moderadas y diferentes condiciones de fertilidad del suelo. Como parte de la evaluación del comportamiento de los genotipos de habichuela y su habilidad de establecer simbiosis y fijar nitrógeno atmosférico, no se realizó fertilización. El propósito fue evaluar las plantas y el sistema radicular y seleccionar genotipos con mejores características para la absorción de nutrientes.

Los ensayos de campo incluyeron 118 genotipos de habichuela y dos líneas de fríjol tépari (*Phaseolus acutifolius* L.) del ensayo 'Bean Abiotic Stress Evaluation' (BASE 120), (Cuadro 1). El ensayo estuvo compuesto por líneas elite de diferentes programas de investigación de habichuela y genotipos de habichuela que mostraron buenas adaptaciones en un ensayo BASE 120 llevado a cabo en la Subestación de Isabela durante el año 2014. Se evaluaron materiales provenientes de la Escuela Agrícola Panamericana (Zamorano) en Honduras, el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), la Universidad de Puerto Rico, el USDA-ARS

Cuadro 1. Genotipos de habichuela del ensayo BASE 120 sembrados en Isabela, Puerto Rico en junio y noviembre de 2015 y junio de 2016.

Línea (nombre)	Línea (número)	Tipo de Semilla	Origen
Aifi Wuriti SS	1	Negra, pequeña	Zamorano
ALB 213	2	Roja, pequeña	CIAT
ALB 74	3	Roja, pequeña	"
ALS 0532-6	4	Roja, pequeña	Zamorano
Amadeus 77	5	Roja, pequeña	"
B12724	6	Negra, pequeña	Universidad del Estado de Michigan
B14302	7	Negra, pequeña	"
B14303	8	Negra, pequeña	"
B14311	9	Negra, pequeña	"
BAT 477	10	Crema, pequeña	CIAT
BAT 881	11	Crema, pequeña	"
Benítez	12	Blanca, pequeña	UPR
BFS 139	13	Roja, arriñonada	Zamorano
BFS 29	14	Roja, arriñonada	"
BFS 81	15	Roja, arriñonada	"
BFS 87	16	Roja, arriñonada	"
BFS 94	17	Roja, arriñonada	"
BFS 95	18	Roja, arriñonada	"
BIOF 2-106	19	Roja, pequeña	"
BIOF 4-70	20	Negra, pequeña	"
BK9-2	21	Negra, pequeña	"
Bribri	22	Roja, pequeña	"
BRT 103-182	23	Roja, pequeña	"
BRT 943-20	24	Negra, pequeña	"
Calima	25	Rosada, moteada	CIAT
Cardenal	26	Roja, pequeña	Zamorano
Carioca	27	Crema, rayada	CIAT
Carrizalito	28	Violeta, pequeña	Zamorano
Cedrón	29	Roja, pequeña	"
Centa Pipil	30	Violeta, pequeña	"
Croissant	31	Crema, moteada	Universidad del Estado de Colorado
DEHORO	32	Roja, pequeña	Zamorano
DOR 364	33	Violeta, pequeña	CIAT
DOR 390	34	Negra, pequeña	"
DPC40	35	Negra, pequeña	IDIAF
FBN 1203-43	36	Roja, pequeña	Zamorano

FBN 1203-47	37	Roja, pequeña	"
FBN 1205-31	38	Negra, pequeña	"
FBN 1210-48	39	Negra, pequeña	"
G21212	40	Negra, pequeña	CIAT
GN9-4	41	Blanca, arriñonada	"
I9365-31	42	Negra, pequeña	USDA-ARS-TARS
ICA Pijao	43	Negra, pequeña	CIAT
ICB 301-204	44	Roja, pequeña	"
ICTAZAM ML	45	Negra, pequeña	Zamorano
IJR	46	Rosada, rayada	CIAT
INB 835	47	Crema, moteada	"
INB 841	48	Crema, moteada	"
INTA Precoz	49	Roja, pequeña	Zamorano
Jamapa	50	Negra, pequeña	CIAT
Matambú	51	Negra, pequeña	Zamorano
Matterhorn	52	Blanca, arriñonada	Universidad del Estado de Michigan
MEN 2201-64 ML	53	Negra, pequeña	Zamorano
MER 2212-28	54	Roja, pequeña	"
MHN 322-49	55	Negra, pequeña	"
Morales	56	Blanca, pequeña	UPR
MSU BNF Entry 86	57	Negra, pequeña	Universidad del Estado de Michigan
NCB 280	58	Negra, arriñonada	CIAT
Paraisito	59	Rosada, pequeña	Zamorano
Pérola	60	Crema, rayada	CIAT
PR 0401-259	61	Marrón, pequeña	UPR
PR 0443-151	62	Negra, pequeña	"
PR0806-81	63	Blanca, pequeña	"
PR1147-1	64	Negra, pequeña	"
PR1147-3	65	Negra, pequeña	"
PR1147-6	66	Negra, pequeña	"
PR1147-8	67	Negra, pequeña	"
PR1165-3	68	Negra, pequeña	"
PR1217-1	69	Blanca, pequeña	"
PR1217-16	70	Blanca, pequeña	"
PR1418-15	71	Negra, pequeña	"
PR1483-105	72	Negra, pequeña	"
PR9920-171	73	Rosada, moteada	"
Quimbaya	74	Roja, arriñonada	CIAT
RCB 593	75	Roja, pequeña	"

Rosetta	76	Crema, pequeña	Universidad del Estado de Michigan
RRH 336-28	77	Roja, pequeña	Zamorano
Sayaxché ML	78	Negra, pequeña	"
SB 747	79	Blanca, pequeña	USDA-ARS-TARS
SB 754	80	Roja, mediana	"
SB 761	81	Violeta, mediana	"
SB 770	82	Violeta, mediana	"
SB 774	83	Violeta, mediana	"
SB 781	84	Negra, pequeña	"
SB 787	85	Crema, moteada	"
SB 793	86	Negra, pequeña	"
SB 815	87	Crema, moteada	"
SB DT1	88	Negra, pequeña	"
SEF 10	89	Roja, mediana	CIAT
SB2-4	90	Crema, moteada	USDA-ARS-TARS
SEF 15	91	Rosada, pequeña	CIAT
SEF 16	92	Roja, mediana	"
SEF 17	93	Roja, mediana	"
SEF 71	94	Roja, mediana	"
SEQ 342-39	95	Negra, pequeña	Zamorano
SEQ 342-89	96	Negra, pequeña	"
SER 113	97	Roja, mediana	CIAT
SER 118	98	Roja, mediana	"
SER 125	99	Roja, mediana	"
SER 16	100	Violeta, mediana	"
SER 78	101	Roja, pequeña	"
SJC 730-79	102	Roja, pequeña	Zamorano
SB2-46	103	Crema, moteada	USDA-ARS-TARS
SB2-96	104	Blanca, arriñonada	"
SB2-105	105	Crema, moteada	"
SXB 405	106	Crema, pequeña	CIAT
SXB 412	107	Crema, pequeña	"
TARS HT-1	108	Negra, pequeña	USDA-ARS-TARS
SB2-170	109	Rosada, pequeña	"
TARS-LFR1	110	Roja, pequeña	"
TARS-MST1	111	Negra, pequeña	"
Tepary G40001	112	Blanca, pequeña	"
TARS Tep-22	113	Blanca, pequeña	"
Tio Canela 75	114	Violeta, pequeña	Zamorano

USRM 20	115	Roja, arriñonada	USDA-ARS-TARS
VAX 6	116	Violeta, pequeña	CIAT
Verano	117	Blanca, pequeña	UPR
XRAV-40-4	118	Negra, pequeña	"
Zenith	119	Negra, pequeña	Universidad del Estado de Michigan
Zorro	120	Negra, pequeña	"

Tropical Agriculture Research Station y la Universidad del Estado de Michigan. Aunque la gran mayoría de las entradas del ensayo fueron genotipos de origen mesoamericano, el BASE 120 incluyó los cultivares andinos ‘Calima’, ‘Indeterminate Jamaica Red’ (IJR) y ‘Quimbaya’.

Para el establecimiento de las tres siembras se utilizaron dos campos experimentales, uno de los campos se ocupó dos veces (para la primera y la segunda época de siembra), los predios estuvieron en barbecho durante 5 meses. Anteriormente el predio que se ocupó para las primeras dos siembras tenía una siembra comercial de habichuela de la variedad ‘Beníquez’ y en el predio que se ocupó para la tercera época de siembra había una siembra experimental de yautía (*Xanthosoma spp.*).

Se llevó a cabo un análisis químico del suelo en el lote experimental para conocer la disponibilidad de nutrientes previo a las siembras. El muestreo de suelo para el análisis consistió en tomar muestras en diferentes puntos del predio utilizando un patrón de muestreo establecido conocido como “M” o “Zigzag”. En cada parada se tomó una sub-muestra utilizando un sacabocado. Éste se introdujo a una profundidad de 30 centímetros en el suelo, de las cuales se removieron los primeros 5 centímetros de suelo con el propósito de evitar el material vegetal que podría estar presente en la primera capa del suelo ya que esto contaminaría la muestra. Las submuestras se mezclaron en una bolsa para preparar una muestra compuesta, similar a Estefan et al., (2013). El análisis del suelo incluyó un diagnóstico de nutrientes esenciales y

micronutrientes, contenido de materia orgánica y pH y fue realizado en AgSource Harris Laboratories en Lincoln, Nebraska, EE.UU.

Además, antes de sembrar los ensayos se realizaron conteos de los rizobios en el suelo utilizando el método del número más probable (Somasegaran & Hoben, 1985). Con el objetivo de conocer el número aproximado de rizobios en el suelo se realizó un conteo utilizando plantas de habichuela en fundas de crecimiento (Somasegaran & Hoben, 1985). Desde la muestra de suelo del sitio experimental se realizaron diluciones en serie desde 10^{-2} hasta 10^{-10} . En 100 gramos de la muestra de suelo se le añadió 90 mililitros de agua estéril y se colocó en un vórtex para mezclar durante 30 minutos. Se utilizó la variedad de habichuela ‘Verano’ para realizar el conteo de *Rhizobium* y la línea TARS Tep-22 de frijol tépari para realizar el conteo de *Bradyrhizobium*. Las semillas fueron previamente esterilizadas y germinadas en medio de agar al 1%. Se utilizaron 40 bolsas de crecimiento; 20 para la habichuela ‘Verano’ y 20 para el frijol tépari. Las bolsas de crecimiento contenían solución nutritiva libre de nitrógeno de Broughton & Dilworth (1970). Las semillas pre-germinadas se transfirieron a las bolsas de crecimiento tres días luego de la germinación, se transfirieron dos plántulas por cada bolsa de crecimiento. Se emplearon dos bolsitas para cada dilución, desde 10^{-2} hasta 10^{-10} incluyendo dos controles sin dilución de suelo. En cada funda de crecimiento se añadieron 30 mililitros de solución nutritiva. Luego de transferir las plántulas se añadió 1 mililitro de cada dilución de suelo en cada una de las plántulas. Las bolsas se dejaron en temperatura ambiente y diariamente se verificó la solución nutritiva. Al cabo de los 10 días se hizo una evaluación de la presencia de nódulos en las cuatro réplicas y se obtuvo el número de unidades noduladas.

Aunque no se les aplicó fertilizante en los ensayos, las líneas del ensayo fueron inoculadas a razón de 1 mililitro de la suspensión de dos cepas de *Rhizobium*; *R. etli* (CIAT 632)

y *R. tropici* (CIAT 899), a concentración de 10^7 células de rizobio por mililitro al momento de la siembra de la primera época. La inoculación se repitió una semana después de la germinación. El inóculo fue aplicado directamente a las semillas y plántulas, utilizando bombas de espalda. La inoculación en la segunda y tercera época se realizó similar a la guía de Inoculación de Leguminosas para una Fijación Máxima de Nitrógeno del servicio de extensión de la Universidad de Pennsylvania (2017), utilizando un inóculo a base de turba. Este fue un inoculante con las mismas cepas de *Rhizobium* utilizadas anteriormente. El procedimiento consistió en aplicar 1ml/kg de semillas de PREMAX (protector bacteriano). Se mezcló agitando el inóculo en un envase que contenía las semillas de cada genotipo con el objetivo de que el protector cubriera la totalidad de las semillas. Luego se dio paso a aplicar el inóculo a base de turba que contenía una mezcla de ambas cepas de *Rhizobium*. Al utilizar esta técnica de inoculación fue necesario que las semillas queden uniformemente cubiertas por el inoculante. Las semillas inoculadas permanecieron en reposo bajo condiciones de temperatura moderada, alrededor de los 22°C aproximadamente por 12 horas y al día siguiente se realizó la siembra.

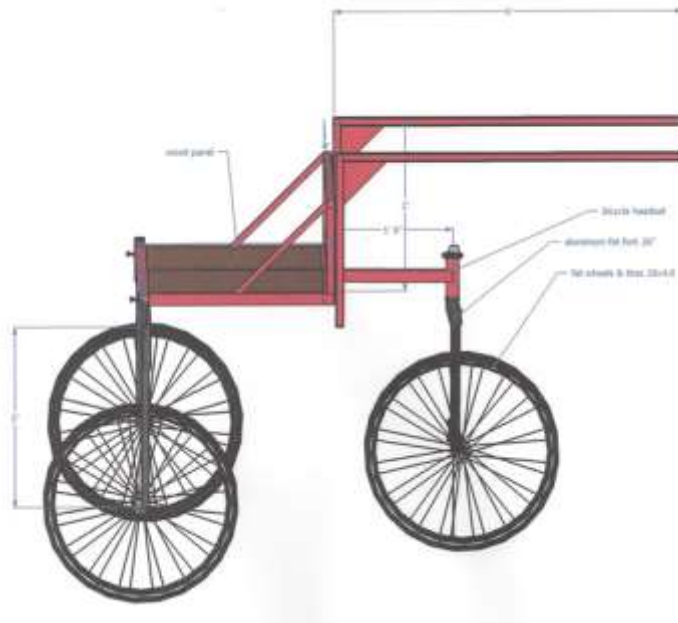
El experimento tuvo un diseño en bloques completos aleatorizados (DBCA) con cinco repeticiones. Las unidades experimentales fueron surcos sencillos de 3 metros con distancia de 0.76 metros entre cada unidad experimental. La densidad de siembra fue de 14 semillas por metro lineal. El ensayo de campo tuvo riego aéreo suplementario de acuerdo a los requerimientos del cultivo. El control de malezas fue mediante desyerbos manuales empleando el uso de azadas. Dos veces por semana se realizó un monitoreo de la siembra para detectar presencia e incidencia de plagas y enfermedades, de esta manera se tomaron medidas preventivas en los casos en que se encontró una alta densidad de plagas y/o enfermedades.

Las tres fechas de siembra de los ensayos BASE 120 fueron el 27 de mayo y el 5 de noviembre de 2015 y el 1 de junio de 2016 respectivamente. A los siete días después de siembra se tomaron datos de germinación de plántulas. Los datos de floración se recopilaron comenzando a los 25 días después de la siembra; para adjudicar la fecha de florecida se realizó al 50% de las plantas en el surco tienen por lo menos una flor (Van Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987). Estos incluyeron el número de días desde siembra hasta florecida y color de flor. La nodulación y otras características de las raíces fueron evaluadas durante la floración (aproximadamente 45 días después de la siembra) de dos plantas por parcela. El contenido de clorofila se midió en las hojas centrales de las plantas aproximadamente a los 50 días después de siembra. Para este procedimiento se utilizó el medidor de clorofila SPAD marca Minolta Chlorophyll Meter SPAD-502 y se muestrearon 3 hojas por unidad experimental escogidas al azar. El hábito de crecimiento al igual que el parámetro de carga de vainas fue medido aproximadamente a los 50 días después de siembra. El hábito de crecimiento se catalogó como determinado o indeterminado (Van Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987). El parámetro de carga de vainas se midió visualmente de acuerdo a la cantidad aproximada de vainas en cada parcela. Considerando el número de vainas, este valor fluctuó con valores entre uno (1) y nueve (9) donde uno representó plantas con carga muy abundante y muchas vainas y 9 representó ausencia de vainas (Van Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987). Por último, se midió la fecha de maduración de plantas, calculado como días después de siembra cuando el 50% de las plantas alcanzaron su madurez fisiológica (Van Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987). Este permitió calcular el periodo de crecimiento reproductivo, o sea el número de días entre las fechas de floración y la madurez.

Datos de temperatura de las hojas y altura y biomasa de las plantas

La recopilación de datos de temperatura de las hojas y altura y biomasa de las plantas se llevó a cabo con un carrito para detección proximal (“Proximal Sensing Cart”) (Figura 1). Este instrumento es un prototipo de un sistema utilizado en la Universidad del Estado de Arizona pero fue la primera vez que se utilizó en Puerto Rico. El carro se adaptó de un prototipo desarrollado por White & Conley (2013). El carro posee 2 extensiones hacia la parte de al frente. En cada extensión se colocó un sensor de biomasa, un sensor de altura de plantas y dos sensores de temperatura. Las primeras dos siembras se establecieron en parcelas que alineadas completamente hacia el norte, las parcelas de la tercera siembra se alinearon completamente hacia el oeste, ya que los datos fueron tomados junto con coordenadas RTK-GPS (“Real Time Kinematics-Global Positioning System”) una técnica utilizada para aumentar la precisión de los datos derivada de sistemas de posicionamiento con satélites. El carrito posee una caja de mando en la cual se controló la toma de datos, en la caja se encuentra una memoria en la cual se guardaron los datos. Esta memoria extraíble se colocó en una computadora con el programa Logger Net® instalado. Además, se utilizó el programa Quantum GIS® para crear los mapas con las parcelas experimentales, en este mismo programa se introdujeron los datos procesados por el programa Logger Net®. La toma de datos simultáneos con el carrito se llevó a cabo una vez por semana a partir de una semana antes de la florecida, aproximadamente 25 días después de siembra. El recorrido de toma de datos se realizó a una velocidad constante para tomar la misma cantidad de datos en todos los surcos, en un período de tiempo entre las 10 AM y la 1 PM, esto para que los datos fueran lo más representativos posibles de las temperaturas más altas del día. Las corridas se hicieron hasta que las plantas alcanzaron la senescencia. Este equipo permitió la toma de datos de que permitieron calcular el NDVI (Índice de Vegetación de Diferencias

Figura 1. Carrito para toma de datos de detección proximal



Normalizadas, en inglés, “Normalized Difference Vegetation Index”) y el NDRE (Diferencias Normalizadas de Borde Rojo, en inglés, “Normalized Difference Red-Edge”); además la altura y la temperatura en la copa de las plantas. Similar a Cabrera-Bosquet et al., (2011), el NDVI = $(R_{NIR} - R_{red}) / (R_{NIR} + R_{red})$, donde R_{NIR} y R_{red} es la reflectancia a 760nm y la reflectancia entre 659 y 681nm. El NDRE se calculó de la siguiente forma $NDRE = (R_{NIR} - R_{Red\ Edge}) / (R_{NIR} + R_{Red\ Edge})$, donde R_{NIR} es la reflectancia a 760nm y $R_{Red\ Edge}$ es la reflectancia entre 720 y 740nm. Otros instrumentos han sido utilizados para medir estas variables en diferentes cultivos (Kotsaki, 2016; Cabrera-Bosquet et al., 2011, Debuisson et al., 2010).

Análisis radicular

Las raíces de los 120 genotipos de habichuela fueron evaluadas para determinar la cantidad de nódulos formados. Además, se evaluó el ángulo de crecimiento de las raíces (BRGA-siglas en inglés), la severidad de la pudrición radicular y del tizón ceniciento del tallo ocasionada por el hongo *Macrophomina phaseolina*. Esta evaluación se realizó entre los 40-45 días después

de siembra, durante la etapa de floración, cuando hay mayor actividad de fijación del nitrógeno en la planta (Van Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987). El proceso consistió en tomar una muestra de dos plantas por cada unidad experimental. Se tomaron plantas localizadas aproximadamente a 0.75 metros de ambos extremos de cada parcela. La cantidad de nódulos fueron contabilizados y se asignó un valor del 1 al 9 siguiendo la escala de CIAT, donde 1 significa más de 80 nódulos y 9 significa menos de 10 nódulos (Van Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987). El ángulo de crecimiento radicular consistió en colocar cada planta sobre una superficie con ángulos marcados y observar la distribución de las raíces.

La evaluación de pudrición radicular y el análisis de daño ocasionado por *Macrophomina phaseolina* se llevó a cabo haciendo un análisis visual de síntomas. Los síntomas típicos de *M. phaseolina* son lesiones de color gris ceniciento en el tallo, el pecíolo y las vainas, que corresponden a estructuras de supervivencia del hongo conocidas como picnidios (Castellanos et al., 2013). Esta pudrición radicular es un factor causante de pérdidas muy significativas en rendimiento, particularmente en ambientes cálidos y/o secos. Se utilizó la escala entre 1 y 9 donde 1 significa la ausencia de síntomas visibles y 9 significa aproximadamente 50% del hipocótilo y tallo cubierto de lesiones y estructuras del hongo (Van Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987).

Rendimiento de semilla

La cosecha para el rendimiento de semilla se realizó al momento en que todas las plantas mostraron la mayoría de sus vainas completamente secas, a la madurez fisiológica. Se cosechó cada parcela completa de 3 metros con el propósito de estimar rendimiento de semilla. Las plantas cosechadas de cada parcela fueron contadas y desgranadas. Se midió el peso de semilla

de cada surco cosechado y el peso de 100 semillas tan pronto que la semilla alcanzó una humedad menor a 13%.

El análisis estadístico se realizó utilizando un modelo GLIMMIX de SAS (SAS Institute, Cary, NC), para calcular los efectos principales y las interacciones y comparar las medias de cuadrados mínimos. Las fechas de siembra y los genotipos de habichuela se consideraron como efectos fijos mientras que la replicación se consideró un efecto aleatorio dentro de las fechas de siembra. Se utilizó un nivel de probabilidad del 95% para establecer las diferencias estadísticas. Las correlaciones de Spearman se calcularon utilizando SAS entre las medias de las características promediados sobre las tres fechas de siembra. Se utilizó un nivel de probabilidad del 95% para declarar diferencias estadísticas. PRINQUAL en SAS se utilizó para identificar los componentes principales que, después de la transformación lineal, representaron la mayor variabilidad entre los rasgos que se correlacionaron significativamente con el rendimiento de la semilla e para identificar grupos de genotipos en el ensayo BASE 120 que tuvieron un comportamiento similar. Los análisis fueron llevados a cabo con el paquete estadístico SAS (SAS Institute, Cary, NC).

Resultados y Discusión

Análisis de suelo

La fertilidad del suelo es uno de los factores ambientales más importantes que afectan el rendimiento de los cultivos. Los resultados de los análisis de suelo realizados previo a cada siembra mostraron que la disponibilidad de los tres macronutrientes principales, nitrógeno en forma de nitratos, fósforo y potasio, fue menor en cada época de siembra (Cuadro 2). Los valores de pH registrados en los ensayos BASE 120 en las tres épocas de siembra fueron 6.6 en las primeras dos épocas y 5.7 en la tercera época de siembra. Estos valores se encuentran dentro de los niveles óptimos de pH para la producción de habichuela (Fageria et al., 1989).

Se considera que niveles de nitrógeno en el suelo menores de 10 ppm son bajos, que niveles medianos de nitrógeno son entre 10 y 20 ppm, niveles altos entre 20 y 30 ppm y niveles mayores de 30 ppm son excesivos (Fulton et al., 2010). Los resultados de los análisis de suelo indican que el nivel de nitrógeno en la primera siembra de ensayo de BASE 120 fue alto mientras los niveles de nitrógeno en la segunda y en la tercera siembra fueron bajos para la producción de habichuela (Cuadro 2).

Según Brown & Westermann (2000), cuando los niveles de P son mayores a 12 ppm no es necesaria la aplicación de este nutriente para el cultivo de la habichuela. Heinrich et al. (2016), sugieren que cuando el análisis de suelo indique que en el suelo contiene entre 0 y 15 ppm de P se debe aplicar entre 80 y 100 lb/a de P, si el análisis de suelo indica que en el suelo hay entre 15 y 50 ppm de P se debe aplicar entre 30 y 80 lb/a de P y si la cantidad de P es mayor a 50 ppm de P en el suelo, indican que no se debe aplicar P. Según Araújo et al. (2000), un aumento de 12 a 50 kg/ha de P (equivalente a un aumento de 4.8 a 20 ppm de P), solo resultó en un aumento de 6% en el rendimiento de habichuela bajo condiciones de campo en Brasil. Se

Cuadro 2. Resultados de análisis de suelo del ensayo BASE 120 en junio y noviembre de 2015 y junio de 2016.

Parámetro	Junio de 2015	Noviembre de 2015	Junio de 2016
pH	6.6	6.6	5.7
M.O. (%)	4.4	4.2	4.1
Nitratos (ppm)	23.0	8.0	3.0
P (ppm)	16.6	11.3	7.4
K (ppm)	239.0	177.0	93.0

puede concluir que la tercera época de siembra (junio de 2016) el suelo tuvo un nivel sub-óptimo de P lo que posiblemente influyó en el desempeño de los genotipos. El contenido de materia orgánica al igual que la disponibilidad de nutrientes mostró una disminución en cada época de siembra. La materia orgánica del suelo ha sido reconocida por mucho tiempo como un elemento clave para la calidad del suelo (Reeves, 1997). Según Burke et al. (1989), la materia orgánica del suelo es un componente principal de ciclos biogeoquímicos de los elementos mayores y la cantidad y calidad de la materia orgánica refleja y controla la producción primaria. Niveles apropiados de materia orgánica aseguran la fertilidad del suelo y minimiza el impacto en el medio ambiente debido a la secuestración de carbono (C), reduciendo así la erosión y preservando la biodiversidad (Six et al., 2002). Rhoton et al. (2002), observaron que implementar prácticas de no labranza reduce la pérdida de suelo por escorrentías y los tratamientos de no labranza tuvieron estadísticamente mayores concentraciones de materia orgánica que los tratamientos de labranza convencional. Es importante implementar prácticas de manejo cultural para asegurar niveles óptimos de materia orgánica en el suelo y promover la adición de compuestos orgánicos que ayuden a aumentar los niveles de materia orgánica de los suelos. El conteo de los rizobios del suelo realizado en junio de 2015 registró 6 células de rizobio por gramo de suelo lo cual representa una población muy baja comparado con lo que reportó

Andrade et al., (2002) quienes reportaron una población de rizobios de entre 7.6×10^4 y 1.53×10^3 .

Rendimiento de semilla

Se identificaron 20 genotipos del ensayo BASE 120 superiores por su rendimiento en la siembra de junio de 2015 (Cuadro 3). Entre los genotipos que produjeron los mayores rendimientos de semilla resaltan nueve líneas de la Universidad de Puerto Rico (UPR). El mejor rendimiento en la primera época de siembra se obtuvo con la línea PR1147-3 que produjo un rendimiento promedio de 1,812 kg/ha. Otras líneas de Puerto Rico con buenos rendimientos de semilla incluyeron PR1147-1, PR1217-16, PR1418-15, PR1147-8 y PR1483-105 (Figura 2). Todas estas líneas tienen semillas pequeñas de color negro a excepción de PR1217-16 que tiene semillas de color blanco. En promedio estas líneas de Puerto Rico tuvieron un rendimiento de semilla de 1,526 kg/ha. Además, estas líneas poseen otras características como resistencia al virus de mosaico dorado amarillo (BGYMV), resistencia al virus del mosaico común necrótico (BCMNV), tolerancia a altas temperaturas y tolerancia a baja fertilidad de suelo. En adición a las líneas de Puerto Rico, la línea B12724 se posicionó en segundo lugar con un rendimiento por encima del rendimiento de semilla promedio de los 20 mejores genotipos con 1,699 kg/ha. Esta línea es proveniente de la Universidad del Estado de Michigan (MSU) y fue seleccionada por su alto potencial de rendimiento en Michigan. Otras líneas que combinaron una buena clasificación en rendimiento de semilla fueron SB2-170 y SB2-105 desarrolladas por la Estación Experimental de Agricultura Tropical del USDA-ARS para tolerancia a sequía. Además, las líneas provenientes de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano en Honduras, Sayaxché ML, FBN 1203-43, BRT 103-182, DEHORO, CENTA Pipil y Aifi Wuriti SS también tuvieron buenos

Cuadro 3. Medias de cuadrados mínimos de las características de los 20 genotipos con los mayores rendimientos del ensayo BASE 120 sembrado en Isabela, Puerto Rico en junio de 2015.

Entrada	Rend. ¹ (kg/ha)	Rend. (rango)	Flor. ² (días)	Período Rep. ³ (días)	Mad. ⁴ (días)	SPAD ⁵	Nod. ⁶ (1-9)	Pud. Raíz ⁷ (1-9)	Macro. ⁸ (1-9)	BRGA ⁹ (grados)
PR1147-3	1812	1	36	39	75	46.6	8.0	2.0	1.0	56
B12724	1699	2	37	35	72	42.7	8.0	1.8	1.2	54
PR1147-1	1652	3	35	39	73	34.6	7.8	2.8	1.4	54
PR1217-16	1652	4	35	40	75	48.3	8.0	2.2	1.0	58
PR1418-15	1606	5	37	37	74	39.9	7.0	2.0	1.0	56
PR1147-8	1540	6	35	36	72	43.0	9.0	2.6	1.0	56
PR1483-105	1418	7	34	39	73	41.3	7.2	2.2	1.0	50
PR1147-6	1396	8	36	39	75	42.0	8.0	2.4	1.2	60
SB2-170	1391	9	35	40	75	40.2	8.6	2.0	1.0	62
PR1217-1	1387	10	37	39	76	33.5	7.6	2.6	1.0	52
SB2-105	1332	11	35	38	73	41.5	8.6	2.6	1.8	62
Sayaxché ML	1326	12	40	36	76	36.8	8.4	2.2	1.2	56
FBN 1203-43	1291	13	34	37	71	49.2	7.8	2.0	1.0	60
PR 0443-151	1274	14	40	34	74	47.4	8.8	2.2	1.2	62
BRT 103-182	1262	15	35	38	73	48.4	7.2	2.2	1.0	52
B14302	1249	16	41	36	78	36.9	8.8	2.4	1.8	48
DEHORO	1248	17	35	38	73	43.8	7.8	2.6	1.0	60
Centa Pipil	1246	18	37	36	72	46.9	9.0	2.6	1.0	50
Carrizalito	1242	19	35	38	73	46.6	6.6	3.2	1.0	56
Aifi Wuriti SS	1204	20	34	36	70	35.6	9.0	2.4	2.0	62
Promedio	1411		36	38	74	42.3	8.1	2.4	1.2	56

¹ Rendimiento de semilla (kg/ha); ² Días entre la siembra hasta la floración; ³ Días entre el inicio de floración hasta la madurez; ⁴ Días entre la siembra hasta la madurez; ⁵ Lectura del metro SPAD - una medida indirecta de contenido de clorofila de la hoja, expresada en unidades SPAD; ⁶ Calificación de nodulación basada en la escala del CIAT donde 1 ≥ 81 nódulos y 9 ≤ 10 nódulos por planta; ⁷ Calificación de pudrición radicular basada en la escala del CIAT donde 1= ausencia de síntomas y 9= síntomas muy severos; ⁸ Calificación de síntomas de tizón ceniza del tallo basada en la escala del CIAT donde 1= ausencia de síntomas y 9= síntomas muy severos; ⁹ Ángulo de crecimiento de las raíces expresado en grados (°).

Figura 2. Granos de varias líneas con buena clasificación por rendimiento.

		
<p>PR1147-1</p>	<p>PR1217-16</p>	<p>B12724</p>
		
<p>SB2-170</p>	<p>SB2-105</p>	<p>FBN 1203-43</p>

rendimientos (> 1,200 kg/ha). Algunas características que poseen estas líneas son resistencia al BGYMV, buena fijación biológica de nitrógeno (mayor número de nódulos), tolerancia a las temperaturas moderadamente altas, tolerancia a baja fertilidad de suelo y con alto potencial de rendimiento.

Entre las líneas que tuvieron una clasificación entre las mejores 20 por rendimiento de semilla se en el ensayo BASE 120 sembrado en noviembre de 2015 se destacan: PR1147-8, SB2-170, B14302, PR1147-6, PR1217-16 y PR0443-151 (Cuadro 4). Además, las líneas MSU BNF Entry 86, XRAV-40-4, TARS-MST1, TARS-LFR1, FBN 12010-48, SEQ 342-39, SXB 412, Zorro, SEF 10 e I9365-31 se posicionaron dentro de las primeras 20 mejores líneas por rendimiento de semilla que no estuvieron entre las mejores de la primera época. Esta segunda época de siembra tuvo la presión ambiental más severa de las tres épocas ya que durante la etapa inicial (V3-V4) hubo un evento de mucha precipitación, alrededor de 100 mm de lluvia cayeron en el transcurso de una semana. Esto favoreció el desarrollo de la pudrición radicular causada por un complejo de patógenos, entre ellos *Fusarium solani* cuya presencia fue confirmada (Figura 3). No se hizo rotación de cultivos ya que el predio ocupado para la segunda época fue el mismo que se ocupó para la primera época. Esto concuerda con lo estipulado por Abawi y Pastor-Corrales (1990), quienes argumentan que la incidencia de pudrición radicular aumenta cuando el drenaje de los suelos es pobre, cuando los suelos son compactados y cuando no hay rotación de cultivos.

Los promedios de los rendimientos de semilla de los mejores 20 genotipos de la siembra del ensayo BASE 120 en junio de 2016 fue el mayor tomando en consideración las tres épocas de siembra. Solo las líneas PR1147-3 y PR1217-16 se mantuvieron dentro de la clasificación de las mejores 20 por rendimiento de semilla en las tres épocas de siembra (Cuadro 5). El mayor rendimiento de semilla en esta época de siembra lo ocupó la línea BRT 943-20 con 1,929 kg/ha. Seguido por SB-DT1 desarrollada en el USDA-ARS-TARS con tolerancia a las sequías con 1,808 kg/ha. En general, fenotípicamente las plantas sembradas durante esta época de siembra produjeron el mayor vigor de plantas dentro del ciclo completo del cultivo (Figura 4). La rotación de los cultivos redujo la pudrición de las raíces y permitió que los sistemas radiculares

Cuadro 4. Medias de cuadrados mínimos de las características de los 20 genotipos con los mayores rendimientos del ensayo BASE 120 sembrado en Isabela, Puerto Rico en noviembre de 2015.

Entrada	Rend. ¹ (kg/ha)	Rend. (rango)	Flor. ² (días)	SPAD ³	Nod. ⁴ (1-9)	Pud. Raíz ⁵ (1-9)	Macro. ⁶ (1-9)	BRGA ⁷ (grados)
PR1147-8	1020	1	39	53.0	7.0	1.0	1.2	64
PR 0443-151	983	2	40	48.4	7.2	1.4	1.0	67
PR1147-6	975	3	40	52.4	8.4	1.0	1.2	64
PR1147-3	969	4	40	48.6	7.0	1.6	1.4	57
MSU BNF Entry 86	968	5	40	45.1	7.0	1.8	1.6	69
XRAV-40-4	917	6	41	46.4	6.2	1.4	1.6	60
TARS-MST1	902	7	40	57.8	6.4	1.2	1.6	65
Zenith	899	8	41	44.5	7.8	1.4	1.4	66
FBN 1210-48	874	9	36	44.3	7.6	1.6	1.2	56
PR1217-16	869	10	42	52.6	6.0	3.0	1.2	65
PR1147-1	855	11	39	48.7	7.4	1.0	1.2	62
SEQ 342-39	852	12	41	46.1	4.8	1.8	1.2	63
SB2-170	834	13	39	47.7	7.8	1.4	1.4	63
SXB 412	815	14	39	46.4	7.7	2.4	1.4	61
TARS-LFR1	799	15	40	46.2	5.8	1.2	1.6	56
Zorro	787	16	43	44.8	7.4	1.8	2.0	66
B14302	783	17	43	38.2	6.6	3.0	1.2	68
SEF 10	775	18	39	50.4	6.6	1.6	1.4	57
PR1217-1	775	19	40	48.8	5.6	3.0	1.4	62
I9365-31	768	20	39	52.7	7.0	2.6	1.2	64
Promedio	871		40	48.2	6.9	1.8	1.4	63

¹ Rendimiento de semilla (kg/ha); ² Días entre la siembra hasta la floración; ³ Lectura del metro SPAD - una medida indirecta de contenido de clorofila de la hoja, expresada en unidades SPAD; ⁴ Calificación de nodulación basada en la escala del CIAT donde 1 \geq 81 nódulos y 9 \leq 10 nódulos por planta; ⁵ Calificación de pudrición radicular basada en la escala del CIAT donde 1= ausencia de síntomas y 9= síntomas muy severos; ⁶ Calificación de síntomas de tizón ceniza del tallo basada en la escala del CIAT donde 1= ausencia de síntomas y 9= síntomas muy severos; ⁷ Ángulo de crecimiento de las raíces expresado en grados (°).

Figura 3. Síntomas iniciales de pudrición radicular causada por *Fusarium spp.*



Figura 4. Lote experimental de la tercera época de siembra (junio de 2016).



aumentar su capacidad de absorber los nutrientes disponibles en el suelo. El análisis de varianzas para la variable de rendimiento de semilla de las líneas del ensayo BASE 120 mostró que tanto la época como el genotipo y la interacción entre estas dos fuentes de variación fueron significativas para esta variable ($p < 0.05$) (Cuadro 6).

Cuadro 5. Medias de cuadrados mínimos de las características de los 20 genotipos con los mayores rendimientos del ensayo BASE 120 sembrado en Isabela, Puerto Rico en junio de 2016.

Entrada	Rend. ¹ (kg/ha)	Rend. (rango)	Flor. ² (días)	Periodo Rep. ³ (días)	Mad. ⁴ (días)	SPAD ⁵	Nod. ⁶ (1- 9)	Pud. Raíz ⁷ (1- 9)	Macro. ⁸ (1- 9)	BRGA ⁹ (grados)
BRT 943-20	1929	1	37	37	74	55.1	6.0	1.4	1.2	50
SB DT1	1808	2	36	35	71	43.8	5.6	1.8	1.8	62
BRT 103-182	1802	3	36	38	74	47.6	4.6	1.2	1.8	58
Matambú	1799	4	36	36	72	42.4	5.6	2.0	1.4	64
BIOF 2-106	1796	5	36	35	71	40.0	5.6	1.2	1.2	62
SER 113	1767	6	37	35	72	42.5	6.4	2.2	1.6	58
PR1418-15	1732	7	38	37	75	42.3	5.2	1.6	1.7	52
TARS-MST1	1729	8	37	35	72	53.3	6.8	2.2	1.6	66
PR1483-105	1725	9	36	38	74	45.1	6.8	1.4	1.4	59
SER 118	1681	10	36	34	69	43.8	6.2	2.0	1.6	56
SEF 71	1667	11	36	37	74	57.9	5.2	2.0	2.4	58
SB 781	1655	12	35	34	70	34.6	6.8	1.8	1.6	58
PR1147-3	1618	13	36	37	74	42.8	6.2	2.0	2.0	64
BFS 95	1598	14	35	36	71	50.5	5.6	1.8	1.4	59
SER 78	1582	15	35	33	68	38.2	4.8	2.2	1.8	62
BFS 94	1581	16	37	33	70	52.1	6.0	2.0	1.6	51
PR1217-16	1574	17	36	40	76	42.8	4.4	1.8	1.2	66
BIOF 4-70	1561	18	36	34	70	38.4	6.4	1.6	1.4	54
NCB 280	1518	19	36	35	71	44.5	6.6	1.8	2.0	62
MER 2212-28	1516	20	38	37	74	54.3	6.2	1.8	2.2	54
Promedio	1682		36	36	72	45.6	5.9	1.9	1.6	59

¹ Rendimiento de semilla (kg/ha); ² Días entre la siembra hasta la floración; ³ Días entre el inicio de floración hasta la madurez; ⁴ Días entre la siembra hasta la madurez; ⁵ Lectura del metro SPAD - una medida indirecta de contenido de clorofila de la hoja, expresada en unidades SPAD; ⁶ Calificación de nodulación basada en la escala del CIAT donde 1 ≥ 81 nódulos y 9 ≤ 10 nódulos por planta; ⁷ Calificación de pudrición radicular basada en la escala del CIAT donde 1= ausencia de síntomas y 9= síntomas muy severos; ⁸ Calificación de síntomas de tizón ceniza del tallo basada en la escala del CIAT donde 1= ausencia de síntomas y 9= síntomas muy severos; ⁹ Ángulo de crecimiento de las raíces expresado en grados (°).

Cuadro 6. Prueba Tipo III de Efectos Fijos para rendimiento de semilla.

Fuente de variación	GL Num.	GL Den.	F	Pr > F
Época (E)	2	12	75.27	<.0001
Genotipo (G)	115	1299	10.11	<.0001
G x E	230	1299	4.47	<.0001

Características Agronómicas y Fenológicas

En promedio los 20 genotipos con los mayores rendimientos de semilla en el ensayo BASE 120 sembrado en junio de 2015, mostraron una maduración cerca de 74 días y prácticamente la mitad de este tiempo fue dedicada al crecimiento vegetativo (36 días) y el resto del tiempo en promedio fue destinado al crecimiento reproductivo (38 días) (Cuadro 3). Las líneas más tempranas cuanto a maduración fueron dos genotipos de Zamorano, Aifi Wuriti SS y FBN 1203-43, con 70 y 71 días a la maduración, respectivamente.

Las 20 líneas con los mayores rendimientos del ensayo BASE 120 sembrado en junio de 2016 tuvieron un ciclo con una duración promedio de 72 días. Las líneas SER 78 (68 días) y SER 118 (69 días) tuvieron ciclos menores a la mayoría de las líneas del ensayo. Como observamos en la primera siembra del BASE 120, las 20 líneas con mayor rendimiento dedicaron la mitad del tiempo al crecimiento vegetativo y la mitad del tiempo con crecimiento reproductivo (Cuadro 5). Según el análisis de varianzas realizado para las variables de días a la florecida y días a la maduración se puede observar que tanto los efectos de la época de siembra como el genotipo y la interacción entre estas dos fuentes de variación fueron significativos ($p < 0.05$) (Cuadros 7 y 8).

Cuadro 7. Prueba tipo III de efectos fijos para florecida.

Fuente de variación	GL Num.	GL Den.	F	Pr > F
Época (E)	2	12	33.45	<.0001
Genotipo (G)	119	1394	9.62	<.0001
G x E	238	1394	3.27	<.0001

Cuadro 8. Prueba tipo III de efectos fijos para número de días de florecida a cosecha.

Fuente de variación	GL Num.	GL Den.	F	Pr > F
Época (E)	1	8	20.30	0.0020
Genotipo (G)	118	916	7.56	<.0001
G x E	118	916	1.42	0.0033

Nodulación

Según Araújo et al., (2000), en su evaluación bajo diferentes niveles de P en la habichuela, todos los genotipos evaluados presentaron una reducción en el número de nódulos al evaluarlas luego de la florecida. Los días a madurez podrían influenciar la actividad de fijación biológica de nitrógeno ya que se esperaría que líneas tardías lleven a cabo una mayor producción de nódulos que líneas tempranas en madurez, como lo estipula Hardarson et al. (1993b). El número y el peso de nódulos son indicadores confiables de la actividad de fijación de nitrógeno (Fernández-Luqueño et al., 2008). La cantidad de nódulos es una medida muy útil para estimar la fijación biológica de nitrógeno aunque está influenciada por la precocidad de los genotipos. La nodulación de las 20 líneas con los mayores rendimientos de semilla del BASE 120 sembrada en junio de 2015 tuvieron un promedio de 8.1 en la escala de nodulación (Van Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987). Se destacaron los genotipos Carrizalito y PR1418-15 con valores de 6.6 y 7.0 respectivamente (Cuadro 3), (Figura 5). En contraste a estas dos últimas líneas, los

Figura 5. Nódulos de *Rhizobium spp.* en raíces de habichuela (evaluación de 1 en la escala de CIAT).



genotipos PR1147-8, CENTA Pipil y Aifi Wuriti SS tuvieron una puntuación de nodulación de 9.0, o sea menos de 10 nódulos por planta.

Los 20 genotipos del BASE 120 sembrado en noviembre de 2015 tuvieron una puntuación promedio de 6.9 en nodulación. Se identifican SEQ 342-39 y PR1217-1 como los mejores en cuanto al número de nódulos por planta, con valores de 4.8 y 5.6, o sea entre 21 y 40 nódulos por planta (Cuadro 4). La línea PR1147-8 que alcanzó el mayor rendimiento de esta época tuvo un valor promedio de 7.0 en nodulación. Varias líneas con buenos rendimientos de semilla no mostraron daños de las pudriciones de las raíces que permitirían que las raíces absorbieran los nutrientes y el agua disponible en el suelo.

Las 20 líneas con los mayores rendimientos en el ensayo BASE 120 sembrado en junio de 2016 tuvieron un promedio de lecturas de nodulación de 5.9 que representa la mayor cantidad de nodulación observada para las tres épocas (Cuadro 5). La línea con el mayor valor de nodulación fue SER 78 con 4.8 y otras líneas con las mejores calificaciones de nodulación fueron

TARS-MST1, PR1483-105 y SB 781 con valores promedios de 6.8. El análisis de varianza para la variable de nodulación muestra que los efectos de la época de siembra, el genotipo y la interacción entre la época y los genotipos fueron significativos (Cuadro 9).

Pudrición Radicular

En promedio, las lecturas de pudrición radicular durante la siembra de junio de 2015 mostraron menos síntomas con un valor promedio de 2.4 (Figura 6) en la escala 1-9 (Van Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987). Las líneas que alcanzaron los valores promedios más bajos de pudrición radicular fueron B12724, PR1147-3, PR1418-15, SB2-70 y FBN 1203-43 con valores promedios ≤ 2.0 (Cuadro 3). Durante la siembra de noviembre de 2015, los 20 genotipos con mayor rendimiento registraron un promedio de 1.8 en pudrición radicular (Cuadro 4). Las líneas PR1147-1, PR1147-6 y PR1147-8 registraron valores de 1.0 lo que indica que no mostraron síntomas de pudrición radicular. A pesar de la alta incidencia de pudrición radicular, los 20 genotipos con mayor rendimiento mostraron pocos o ningún síntoma de esta enfermedad ya que la mayor puntuación de pudrición de las líneas fue de 3.0.

El promedio de pudrición radicular durante la siembra de junio de 2016 fue 1.9 (Cuadro 5). Mediante un análisis de varianzas realizado para la variable de pudrición radicular causada por *Fusarium solani* se concluye que los resultados de pudrición radicular están significativamente afectados por la época de siembra, el genotipo de habichuela y la interacción entre estos dos componentes ($p < 0.05$) (Cuadro 10).

Las evaluaciones de síntomas de tizón ceniciento del tallo para la siembra de junio de 2015 tuvieron un promedio de 1.2 (Cuadro 3) basado en la escala del 1-9 (Van Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987) esto es prácticamente ausencia de síntomas de la enfermedad. En esta

Cuadro 9. Prueba tipo III de efectos fijos para nodulación.

Fuente de variación	GL Num.	GL Den.	F	Pr > F
Época (E)	2	12	21.17	0.0001
Genotipo (G)	114	1300	2.7	<.0001
G x E	228	1300	1.23	0.0175

Figura 6. Diferentes niveles de pudrición radicular en líneas de habichuela.



Cuadro 10. Prueba tipo III de efectos fijos para calificación de pudrición radicular.

Fuente de variación	GL Num.	GL Den.	F	Pr > F
Época (E)	2	12	5.45	0.0207
Genotipo (G)	114	1300	2.96	<.0001
G x E	228	1300	2.09	<.0001

evaluación los 20 genotipos con los mayores rendimientos tuvieron valores ≤ 2.0 . La línea con el mayor rendimiento de esta época, PR1147-3, tuvo una puntuación de 1.0 mientras que el genotipo que ocupó el lugar número 20, Aifi Wuriti, tuvo la mayor severidad de tizón ceniciento del tallo de 2.0 (Cuadro 3).

Durante la siembra de noviembre de 2015, los 20 genotipos con los mayores rendimientos tuvieron una escala de severidad de tizón ceniciento del tallo de ≤ 2.0 (Cuadro 4). Mientras que en la época de siembra de junio de 2016 el promedio de la puntuación de tizón ceniciento del tallo de los mejores 20 genotipos de esta época fue de 1.6 (Cuadro 5). El análisis de varianza confirma que hubo efectos significativos de época de siembra, genotipo y la interacción entre época y genotipo sobre la puntuación de tizón ceniciento del tallo causada por *Macrophomina phaseolina* ($p < 0.05$) (Cuadro 11).

Ángulo de las Raíces Basales

En promedio los 20 genotipos con el mayor rendimiento durante la siembra de junio de 2015 tuvieron un ángulo de crecimiento de las raíces basales de 56° . El genotipo con el menor ángulo fue B14302 con 48° y el mayor ángulo fue 62° alcanzado por las líneas SB2-170, SB2-105, PR0443-151 y Aifi Wuriti SS (Cuadro 3). Durante la siembra de noviembre de 2015 los 20 genotipos con los mayores rendimientos tuvieron en promedio un ángulo de crecimiento de raíces basales de 63° . Las líneas con los mayores ángulos de las raíces basales fueron TARS-LFR1, PR1147-3 y SEF 10 (Cuadro 4).

Las 20 líneas con el mayor rendimiento durante la siembra de junio de 2016 tuvieron un promedio de 59° en ángulo de crecimiento (Cuadro 5). Se destacaron las líneas BRT 943-20, BFS 94 y PR1418-15 con ángulos $\leq 52^\circ$. Se realizó un análisis de varianzas para esta variable, al igual que las características antes discutidas se concluye que hubo un efecto significativo de época, genotipo y la interacción entre época y genotipo sobre el ángulo de crecimiento de las raíces de plantas de habichuela ($p < 0.05$) (Cuadro 12).

Cuadro 11. Prueba tipo III de efectos fijos para calificación de tizón cenizo del tallo.

Fuente de variación	GL Num.	GL Den.	F	Pr > F
Época (E)	2	12	4.55	0.0339
Genotipo (G)	114	1300	1.53	0.0004
G x E	228	1300	1.23	0.0166

Cuadro 12. Prueba tipo III de efectos fijos para BRGA.

Fuente de variación	GL Num.	GL Den.	F	Pr > F
Época (E)	2	12	13.98	0.0007
Genotipo (G)	113	1292	1.97	<.0001
G x E	226	1292	1.50	<.0001

Contenido de clorofila en las hojas

Las líneas del ensayo BASE 120 fueron evaluadas por su contenido de clorofila en las hojas a los 50 días después de siembra. Los resultados de contenido de clorofila se expresaron en unidades SPAD, tal y como lo presentan Fernández-Luqueño et al. (2010) en su experimento con el objetivo de investigar el efecto de la aplicación de 4 diferentes fuentes de N en las características y el rendimiento de la habichuela. En promedio los 20 genotipos con mayor rendimiento en la época de siembra de junio de 2015 tuvieron un contenido promedio de clorofila de 42.3 unidades SPAD. El contenido máximo fue alcanzado por las líneas BRT 103-182 y PR1217-16 que mostraron con valores de 48.4 y 48.3 unidades de SPAD, respectivamente (Cuadro 3). Durante la siembra de noviembre de 2015, el contenido de clorofila promedio de las 20 líneas con mejor rendimiento fue de 48.2 unidades SPAD. El contenido máximo fue alcanzado por las líneas TARS-MST1 y PR1147-8 con 57.8 y 53.0 unidades SPAD, respectivamente (Cuadro 4).

El contenido de clorofila registrado en la siembra de junio de 2016 tuvo un promedio de 45.6 unidades SPAD. Los contenidos máximos alcanzados fueron 57.9, 55.1 y 54.3 unidades SPAD por las líneas SEF 71, BRT 943-20 y MER 2212-28, respectivamente (Cuadro 5). Al comparar estos resultados con los resultados obtenidos por Fernández-Luqueño et al. (2010) con el tratamiento de adición de nitrógeno inorgánico en forma de urea, se obtuvo un contenido mayor de clorofila en las líneas de BASE 120 a pesar de no haber sido fertilizadas con nitrógeno inorgánico. Según el análisis de varianzas para la variable de contenido de clorofila en hojas se concluye que el contenido de clorofila está afectado solo por el genotipo de plantas de habichuela, y que la época de siembra y la interacción entre la época y el genotipo no tienen un efecto significativo sobre el contenido de clorofila en hojas de habichuela ($p < 0.05$) (Cuadro 13). Por lo tanto, el contenido de clorofila en las hojas es una variable estable en diferentes ambientes.

Promedios de las tres épocas de siembra

En el cuadro 14 se presentan los promedios de todas las características de las 120 líneas sobre las tres épocas de siembra. El rendimiento de semilla promedio alcanzado fue 832 kg/ha. PR1147-3 tuvo un rendimiento superior con un promedio de 1,466 kg/ha, seguido por PR1217-16 con 1,365 kg/ha. TARS-MST1, BIOF 2-106, B12724 y VAX 6 también se encuentran entre las 20 líneas con más alto rendimiento de semilla en las tres épocas. Las líneas Calima, SB 761, SB 815 y USRM 20, tuvieron poco o ningún rendimiento por lo que no se incluyeron en el análisis de los datos. En condiciones de campo en América Latina el rendimiento promedio de la habichuela está en el rango entre 600-950 kg/ha (Beebe et al., 2013a). Broughton et al. (2003), establecen que muchos países registran rendimientos de la habichuela de entre 500 y 800 kg/ha. El rendimiento promedio alcanzado por los mejores 20 genotipos durante las tres épocas de

Cuadro 13. Prueba tipo III de efectos fijos para contenido de clorofila (SPAD).

Fuente de variación	GL Num.	GL Den.	F	Pr > F
Época (E)	2	10	0.66	0.5364
Genotipo (G)	118	1147	1.68	<.0001
G x E	236	1147	1.01	0.4561

siembra fue de 1,201 kg/ha (Cuadro 15). Este rendimiento es muy superior comparado con el rendimiento promedio de la habichuela en América Latina. Sin embargo, en el año 2014 en los Estados Unidos de América donde hay mayor uso de insumos como fertilizantes, agroquímicos y riego, el rendimiento promedio de la habichuela seca fue de 1,965 kg/ha (FAO, 2016).

Según el análisis de correlaciones de las medias de las 120 líneas en las tres épocas de siembra, se encontraron correlaciones negativas y significativas entre las lecturas de pudrición de raíces, entre el tizón ceniciento del tallo y el rendimiento de semilla (Cuadro 16). Por lo general, líneas con menor severidad causada por pudrición radicular y tizón ceniciento del tallo, produjeron mayores rendimientos. Esto concuerda con la literatura (Naseri, 2008) ya que las enfermedades causadas por patógenos provenientes del suelo causan cuantiosas pérdidas en cuanto a la densidad de plantas en los campos. Las pérdidas en rendimiento son el resultado de la interferencia del patógeno en el sistema radicular que limita la absorción de agua y nutrientes del suelo (Abawi & Pastor-Corrales, 1990). Además, muestras de plántulas con síntomas de pudrición radicular fueron examinadas en la Clínica de Enfermedades de Plantas en la Estación Experimental Agrícola de Juana Díaz, Puerto Rico donde se confirmó la presencia de *Fusarium solani* y *Fusarium spp.* Según Abawi & Pastor-Corrales (1991), los patógenos frecuentemente asociados a la pudrición radicular de la habichuela son *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium spp.* y *Aphanomyces euteiches* f. sp. *phaseoli* y

Cuadro 14. Medias de cuadrados mínimos de las características de los genotipos del ensayo BASE 120 sembradas en Isabela, Puerto Rico en junio y noviembre de 2015 y junio de 2016.

Entrada (nombre)	Entrada (número)	Rend. ¹ (kg/ha)	Flor. ² (días)	Periodo Rep. ³ (días)	Mad. ⁴ (días)	SPAD ⁵	Nod. ⁶ (1-9)	Pud. Raíz ⁷ (1-9)	Macro. ⁸ (1-9)	BRGA ⁹ (grados)
Aifi Wuriti SS	1	932	37	36	72	38.1	7.6	2.3	1.9	61
ALB 213	2	583	38	40	75	39.5	7.8	2.2	1.7	67
ALB 74	3	508	35	38	73	43.0	7.9	2.4	1.3	59
ALS 0532-6	4	823	41	40	77	39.8	7.9	2.9	1.3	59
Amadeus 77	5	706	38	37	74	46.5	6.9	2.2	1.7	DP
B12724	6	1158	41	36	75	39.9	6.9	2.3	1.5	60
B14302	7	1075	43	35	78	39.5	6.5	2.3	1.6	57
B14303	8	843	43	35	76	43.4	6.9	2.1	1.6	59
B14311	9	788	40	36	76	39.0	6.2	2.0	1.6	61
BAT 477	10	863	39	36	73	37.0	6.9	1.9	1.7	62
BAT 881	11	570	44	34	77	46.6	7.1	2.2	2.4	55
Beniquez	12	780	41	39	77	42.6	5.9	2.5	1.6	54
BFS 139	13	607	37	43	78	40.5	7.3	2.2	1.9	57
BFS 29	14	648	36	38	74	50.9	DP	DP	DP	DP
BFS 81	15	534	35	38	72	51.4	7.6	2.1	1.8	62
BFS 87	16	673	36	41	75	42.4	7.7	2.0	1.6	57
BFS 94	17	793	38	36	72	44.2	7.5	2.3	1.5	53
BFS 95	18	825	38	37	74	46.3	7.3	2.3	1.9	54
BIOF 2-106	19	1231	38	37	74	49.9	6.7	1.9	1.1	60
BIOF 4-70	20	1088	37	36	71	38.6	7.5	2.3	1.6	56
BK9-2	21	448	39	36	74	47.4	8.1	2.2	1.9	57
Bribri	22	856	38	38	75	46.1	7.0	2.3	1.3	61
BRT 103-182	23	1125	37	38	74	48.3	6.3	1.8	1.4	57
BRT 943-20	24	1057	38	37	74	48.8	7.5	1.7	1.5	55
Calima	25	DP	38	DP	DP	39.3	7.4	3.3	1.6	53
Cardenal	26	809	37	46	83	48.9	7.1	2.3	1.6	55
Carioca	27	623	40	37	74	44.8	6.9	2.5	1.6	63
Carrizalito	28	1074	38	38	75	45.4	6.5	3.1	1.8	57

Cedrón	29	812	40	36	75	47.0	8.2	2.2	2.0	66
Centa Pipil	30	1107	39	36	73	48.8	7.6	2.7	1.2	59
Croissant	31	497	37	37	71	47.5	8.0	2.7	1.3	64
DEHORO	32	1049	37	37	73	44.9	6.9	2.6	1.4	62
DOR 364	33	764	40	36	75	42.1	7.9	2.0	1.8	61
DOR 390 (ck)	34	760	41	36	76	47.8	6.5	2.3	1.7	61
DPC40	35	987	38	37	74	45.5	7.0	1.6	1.2	56
FBN 1203-43	36	1044	37	37	72	48.6	6.7	2.3	1.3	59
FBN 1203-47	37	787	37	38	73	41.7	5.7	2.5	1.7	59
FBN 1205-31	38	645	39	46	85	47.4	6.1	1.9	1.6	63
FBN 1210-48	39	1095	37	41	79	37.3	7.0	1.7	1.7	59
G21212	40	559	39	34	74	44.3	DP	DP	DP	DP
GN9-4	41	482	37	37	72	46.7	7.3	2.7	1.4	55
I9365-31	42	958	40	33	73	47.1	7.1	2.3	1.8	63
ICA Pijao	43	607	42	37	77	44.7	5.2	2.6	1.5	63
ICB 301-204	44	1012	38	36	71	42.0	5.7	2.7	1.2	65
ICTAZAM ML	45	893	38	38	73	43.9	6.9	2.0	1.3	65
IJR	46	468	41	33	70	38.0	7.6	3.7	1.8	65
INB 835	47	670	37	39	74	41.3	8.0	3.4	1.5	62
INB 841	48	451	34	35	69	45.2	DP	DP	DP	DP
INTA Precoz	49	403	44	37	85	40.3	6.1	2.2	1.1	62
Jamapa	50	672	42	33	74	42.5	6.4	2.2	1.7	60
Matambú	51	953	38	37	74	44.0	7.4	2.1	1.5	63
Matterhorn	52	483	36	35	69	43.6	6.3	2.8	1.6	57
MEN 2201-64 ML	53	574	33	38	70	46.4	6.0	2.1	1.1	64
MER 2212-28	54	1060	37	38	74	52.2	7.0	2.6	1.6	62
MHN 322-49	55	877	40	46	86	43.4	6.5	1.9	1.5	64
Morales	56	532	41	34	75	44.8	6.6	2.7	2.5	63
MSU BNF Entry 86	57	953	40	35	75	42.5	6.9	2.1	1.8	62
NCB 280	58	657	35	38	73	43.5	DP	DP	DP	DP
Paraisito	59	556	41	40	81	39.0	6.1	2.5	1.5	61
Pérola	60	694	40	36	76	43.6	5.7	2.2	1.9	65
PR 0401-259	61	681	40	37	77	42.4	6.8	2.1	1.3	58

PR 0443-151	62	1172	40	35	75	51.7	7.5	1.6	1.1	62
PR0806-81	63	574	40	37	75	43.3	6.7	2.4	1.6	53
PR1147-1	64	1272	37	39	74	42.6	6.9	1.6	1.3	61
PR1147-3	65	1466	37	38	75	46.0	7.1	1.9	1.5	59
PR1147-6	66	1251	38	39	76	45.8	7.2	1.5	1.1	60
PR1147-8	67	1270	37	37	74	50.4	7.7	1.7	1.1	61
PR1165-3	68	774	38	38	75	42.7	7.0	2.0	1.5	54
PR1217-1	69	1095	39	37	75	43.1	6.1	2.5	1.5	59
PR1217-16	70	1365	38	40	76	47.9	6.1	2.3	1.1	63
PR1418-15	71	1312	39	37	75	42.3	6.0	2.1	1.3	57
PR1483-105	72	1274	37	38	73	44.1	6.9	2.0	1.1	59
PR9920-171	73	497	38	31	68	33.7	7.5	3.0	1.6	65
Quimbaya	74	156	38	37	76	35.3	DP	DP	DP	DP
RCB 593	75	711	34	37	70	41.6	7.0	1.9	1.5	60
Rosetta	76	599	37	34	70	49.8	6.7	3.1	1.3	59
RRH 336-28	77	754	40	38	77	44.5	7.7	1.9	1.4	62
Sayaxché ML	78	1156	41	35	76	48.2	6.5	2.1	1.4	62
SB 747	79	595	43	35	75	43.1	6.8	2.9	1.9	62
SB 754	80	690	37	36	71	52.3	7.1	2.9	1.4	63
SB 761	81	DP	37	35	69	47.7	7.0	2.1	1.6	58
SB 770	82	621	39	37	73	48.2	7.1	2.4	1.5	58
SB 774	83	749	38	36	73	43.4	7.8	2.1	2.6	60
SB 781	84	1043	36	34	69	44.0	7.3	1.9	1.3	58
SB 787	85	958	36	34	68	48.9	7.8	2.3	1.3	61
SB 793	86	727	37	37	72	44.1	7.5	2.5	1.9	65
SB 815	87	DP	39	36	69	43.2	7.3	3.1	1.7	58
SB DT1	88	806	37	36	72	42.4	7.4	1.9	1.8	55
SEF 10	89	768	37	38	73	41.5	7.3	1.8	1.5	54
SB2-4	90	987	39	39	76	43.8	6.3	2.2	1.7	59
SEF 15	91	611	40	37	71	42.4	8.0	3.3	2.3	61
SEF 16	92	598	35	36	70	45.9	6.9	2.3	2.1	58
SEF 17	93	698	36	38	71	48.0	7.6	2.7	1.7	60
SEF 71	94	997	37	37	73	50.4	6.8	2.5	2.1	56

SEQ 342-39	95	817	40	37	77	43.8	5.9	2.0	1.7	58
SEQ 342-89	96	852	39	37	73	47.4	6.9	2.7	1.5	61
SER 113	97	951	38	36	73	41.7	7.1	2.6	1.5	61
SER 118	98	861	38	35	72	44.6	7.7	2.1	1.7	56
SER 125	99	679	35	36	70	42.0	7.6	2.3	1.5	64
SER 16	100	853	35	36	70	41.5	7.2	2.7	1.9	59
SER 78	101	942	36	33	68	45.7	7.0	2.2	1.5	60
SJC 730-79	102	816	40	42	81	49.9	6.5	3.0	1.3	62
SB2-46	103	953	35	36	70	44.6	8.2	3.1	2.0	67
SB2-96	104	677	35	34	68	45.6	7.3	3.0	1.6	58
SB2-105	105	953	38	35	73	42.4	7.1	2.9	1.7	65
SXB 405	106	573	39	38	75	52.8	6.1	2.2	1.7	58
SXB 412	107	1032	37	39	74	39.5	7.3	2.3	1.9	62
TARS HT-1	108	735	31	34	64	41.0	7.9	4.0	1.9	59
SB2-170	109	1177	37	37	73	41.7	7.5	1.9	1.4	60
TARS-LFR1	110	1063	38	37	74	42.1	7.0	1.6	1.6	59
TARS-MST1	111	1238	37	38	73	50.1	7.1	1.8	1.6	61
Tepary G40001	112	768	43	42	83	46.4	9.0	2.5	1.4	66
TARS Tep-22	113	529	38	38	74	44.5	9.0	2.2	1.4	62
Tio Canela 75	114	1045	37	37	73	44.0	6.9	1.9	1.7	59
USRM 20	115	DP	37	39	72	DP	7.2	4.2	1.7	61
VAX 6	116	1093	38	36	72	43.3	6.7	1.7	1.3	56
Verano	117	879	40	42	80	49.1	6.5	1.9	1.2	55
XRAV-40-4	118	886	39	34	73	40.7	5.8	1.9	1.5	56
Zenith	119	1007	40	35	75	46.8	7.4	1.6	1.7	62
Zorro	120	827	42	32	73	46.0	6.9	1.8	2.1	63
Promedio		832	38	37	75	44.4	7.0	2.3	1.6	60

¹ Rendimiento de semilla (kg/ha); ² Días entre la siembra hasta la floración; ³ Días entre el inicio de floración hasta la madurez; ⁴ Días entre la siembra hasta la madurez; ⁵ Lectura del metro SPAD - una medida indirecta de contenido de clorofila de la hoja, expresada en unidades SPAD; ⁶ Calificación de nodulación basada en la escala del CIAT donde 1 \geq 81 nódulos y 9 \leq 10 nódulos por planta; ⁷ Calificación de pudrición radicular basada en la escala del CIAT donde 1= ausencia de síntomas y 9= síntomas muy severos; ⁸ Calificación de síntomas de tizón ceniza del tallo basada en la escala del CIAT donde 1= ausencia de síntomas y 9= síntomas muy severos; ⁹ Ángulo de crecimiento de las raíces expresado en grados (°); DP = dato perdido.

Cuadro 15. Medias de cuadrados mínimos de las características de los 20 genotipos con los mayores rendimientos generales de tres épocas de siembra del ensayo BASE 120 sembrado en Puerto Rico en junio y noviembre de 2015 y en junio de 2016.

Entrada	Rend. ¹ (kg/ha)	Rend. (rango)	Flor. ² (días)	Periodo Rep. ³ (días)	Mad. ⁴ (días)	SPAD ⁵	Nod. ⁶ (1- 9)	Pud. Raíz ⁷ (1-9)	Macro. ⁸ (1-9)	BRGA ⁹ (grados)
PR1147-3	1466	1	38	39.6	75	46.0	7.1	1.9	1.5	59
PR1217-16	1365	2	40	43.4	76	47.9	6.1	2.3	1.1	63
PR1418-15	1312	3	37	41.4	75	42.3	6.0	2.1	1.3	57
PR1483-105	1274	4	38	41.7	73	44.1	6.9	2.0	1.1	59
PR1147-1	1272	5	39	38.9	74	42.6	6.9	1.6	1.3	61
PR1147-8	1270	6	37	37.5	74	50.4	7.7	1.7	1.1	61
PR1147-6	1251	7	39	38.9	76	45.8	7.2	1.5	1.1	60
TARS-MST1	1238	8	38	37.8	73	50.1	7.1	1.8	1.6	61
BIOF 2-106	1231	9	37	40.6	74	49.9	6.7	1.9	1.1	60
SB2-170	1177	10	37	37.2	73	41.7	7.5	1.9	1.4	60
PR 0443-151	1172	11	35	36.4	75	51.7	7.5	1.6	1.1	62
B12724	1158	12	36	39.9	75	39.9	6.9	2.3	1.5	60
Sayaxché ML	1156	13	35	40.4	76	48.2	6.5	2.1	1.4	62
BRT 103-182	1125	14	38	43.0	74	48.3	6.3	1.8	1.4	57
Centa Pipil	1107	15	36	39.5	73	48.8	7.6	2.7	1.2	59
FBN 1210-48	1095	16	41	42.7	79	37.3	7.0	1.7	1.7	59
PR1217-1	1095	17	37	41.7	75	43.1	6.1	2.5	1.5	59
VAX 6	1093	18	36	36.9	72	43.3	6.7	1.7	1.3	56
BIOF 4-70	1088	19	36	40.7	71	38.6	7.5	2.3	1.6	56
B14302	1075	20	35	41.9	78	39.5	6.5	2.3	1.6	57
Promedio	1201		37	40.0	75	45.0	6.9	2.1	1.3	59

¹ Rendimiento de semilla (kg/ha); ² Días entre la siembra hasta la floración; ³ Días entre el inicio de floración hasta la madurez; ⁴ Días entre la siembra hasta la madurez; ⁵ Lectura del metro SPAD - una medida indirecta de contenido de clorofila de la hoja, expresada en unidades SPAD; ⁶ Calificación de nodulación basada en la escala del CIAT donde 1 ≥ 81 nódulos y 9 ≤ 10 nódulos por planta; ⁷ Calificación de pudrición radicular basada en la escala del CIAT donde 1= ausencia de síntomas y 9= síntomas muy severos; ⁸ Calificación de síntomas de tizón ceniza del tallo basada en la escala del CIAT donde 1= ausencia de síntomas y 9= síntomas muy severos; ⁹ Ángulo de crecimiento de las raíces expresado en grados (°).

Cuadro 16. Correlaciones de Spearman y valores de P (abajo) de las características de los genotipos del ensayo BASE 120 sembradas en Isabela, Puerto Rico en junio y noviembre de 2015 y junio de 2016.

	Rend. ¹	Flor.	Repro.	Mad.	SPAD	Nod.	Pud.	Macro.
Flor. ²	-0.0787 0.4140							
Repro. ³	0.0476 0.6213	-0.0602 0.5323						
Mad. ⁴	0.0142 0.8833	0.6142 0.0000	0.6807 0.0000					
SPAD ⁵	0.1312 0.1717	-0.0591 0.5395	0.1086 0.2589	0.0326 0.7350				
Nod. ⁶	-0.1153 0.2305	-0.2297 0.0158	-0.0548 0.5694	-0.2647 0.0052	0.0020 0.9835			
Pud. ⁷	-0.4045 0.0000	-0.0963 0.3170	-0.1818 0.0573	-0.3056 0.0012	-0.1003 0.2972	0.1280 0.1826		
Macro. ⁸	-0.3291 0.0004	0.1036 0.2812	-0.2182 0.0220	-0.1142 0.2350	-0.1682 0.0790	0.1505 0.1166	0.2293 0.0160	
BRGA ⁹	-0.0731 0.4481	0.0753 0.4344	-0.0458 0.6348	0.0117 0.9030	-0.0449 0.6412	0.1314 0.1714	0.2050 0.0315	0.0114 0.9057

¹ Rendimiento de semilla (kg/ha); ² Días entre la siembra hasta la floración; ³ Días entre el inicio de floración hasta la madurez; ⁴ Días entre la siembra hasta la madurez; ⁵ Lectura del metro SPAD - una medida indirecta de contenido de clorofila de la hoja, expresada en unidades SPAD; ⁶ Calificación de nodulación basada en la escala del CIAT donde 1 \geq 81 nódulos y 9 \leq 10 nódulos por planta; ⁷ Calificación de pudrición radicular basada en la escala del CIAT donde 1= ausencia de síntomas y 9= síntomas muy severos; ⁸ Calificación de síntomas de tizón ceniza del tallo basada en la escala del CIAT donde 1= ausencia de síntomas y 9= síntomas muy severos; ⁹ Ángulo de crecimiento de las raíces expresado en grados (°).

f. sp. *pisi*. Si la infección ocurre en etapas tempranas (1-3 semanas después de siembra), la población de plantas se verá drásticamente afectada hasta llegar a la muerte si no se toman medidas de control. Los síntomas comienzan a observarse como parchos en el campo, variaciones en el tamaño de las plantas y clorosis en hojas. Naseri (2008), reportó pérdidas en rendimiento entre un 3-67% en número de vainas por plantas y entre 4-76% en número de semillas por plantas debido a la incidencia de la enfermedad de pudrición de la raíz.

El número de días hasta la floración y el número de días en el período reproductivo fueron positivamente correlacionados con la madurez de la habichuela (Cuadro 16). Esto concuerda con lo estipulado por Silva et al. (2007), quienes estipulan que la iniciación de la florecida muestra una alta heredabilidad y una correlación significativa y alta con la madurez fisiológica. Un mayor número de nódulos fue asociado con un mayor número de días a la floración y un mayor número de días a la madurez. Andreeva et al. (1998), establecen que la senescencia de los nódulos ocurre cuando comienza la etapa de antesis. Es posible relacionar la senescencia de los nódulos con el número de nódulos obtenidos en este ensayo ya que los nódulos contabilizados fueron los que fenotípicamente eran funcionales. Fernández-Luqueño et al. (2008), concluyeron que la senescencia de nódulos no está vinculada a la etapa fenológica de las plantas. Sin embargo estos resultados concuerdan con que líneas más tardías tendrán mayor nodulación similar a Fernández-Luqueño et al. (2008). Cada cultivar tiene su propia sensibilidad al fotoperiodo lo que influye en el inicio de la florecida (Wallace et al., 1991) y diferentes grupos de germoplasma varían grandemente en su respuesta al fotoperiodo (White & Kornegay, 1994). Araújo et al. (2000), observaron que diferentes cultivares de habichuela mostraron una reducción en el número de nódulos después de la florecida; con esto se concluye que mayores días a floración permite una mayor nodulación. Esto concuerda con los resultados ya que la floración es

un proceso controlado genéticamente por lo que líneas que florecen más tarde se consideran líneas que alcanzaron mayor nodulación.

Se observó además una correlación positiva y significativa entre lecturas de pudrición radicular y tizón ceniciento del tallo. Esto se interpreta como que la relación entre las líneas que presentaron alta severidad de pudrición radicular mostraron también una alta severidad de tizón ceniciento del tallo causado por *Macrophomina phaseolina*. Las líneas que tuvieron una alta pudrición radicular mostraron también síntomas de tizón ceniciento del tallo. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Naseri & Mousavi (2015), quienes encontraron una alta correlación entre la frecuencia de pudriciones radiculares causadas por *Fusarium solani* con la frecuencia de recuperación del suelo de los patógenos *F. oxysporum*, *Macrophomina phaseolina* y *Rhizoctonia solani*. Los autores también argumentan que una asociación más fuerte del índice de pudrición radicular con la recuperación de la raíz de *F. oxysporum* puede reflejar una interacción sinérgica de este patógeno vascular con *F. solani*, *M. phaseolina* y *R. solani* provocando síntomas de pudrición de la raíz.

Hubo también correlación positiva y significativa entre ángulo de raíces y pudrición radicular. Esta correlación sugiere que mayor pudrición radicular provoca que las raíces sean menos profundas y más superficiales. Un menor ángulo de raíces representa un desarrollo radicular más profundo y menos superficial. El crecimiento de raíces se ve afectado por el medio ambiente como demostraron Cichy et al. (2007), quienes evaluaron la arquitectura (peso, longitud y diámetro) de raíces de habichuela expuestas a suelo compactado y suelo sin compactación.

Detección proximal

La eficiencia del uso del carrito de detección proximal fue estudiada para obtener datos de temperatura, altura y biomasa de las líneas del ensayo BASE 120 durante la época de siembra de junio de 2016. El cuadro 17 presenta los cuadrados medios de todas las características medidas en la tercera época de siembra incluyendo los datos de detección proximal. La altura de plantas es una medida indirecta de biomasa de las plantas. Los tres genotipos con mayor altura promedio fueron Zorro con 48.6 cm, Zenith con 47.9 cm y PR1147-3 con 45.4 cm. En promedio los genotipos con mayor valor de NDVI fueron ALB 213 con 0.76, BIOF 2-106 con 0.74 y G21212, I9365-31, MHN 322-49, NCB 280 y Pérola con 0.73. Estos valores se encuentran sobre el promedio de NDVI de las 120 líneas del ensayo que fue de 0.65. Según Curran & Milton (1983), el NDVI ha mostrado estar correlacionado con la clorofila *ab* porque la clorofila *ab* usualmente varía con la biomasa. El estrés presente en la planta provoca que el valor de NDVI disminuya (Gamon et al., 1995). Además, los resultados obtenidos por Gamon et al. (1995), indican que en varias especies de arbustos el valor de NDVI aumenta en periodos lluviosos y disminuye en periodos secos cuando el follaje de los arbustos se seca en los meses de verano y otoño. Esto significa que plantas con mayor contenido de clorofila tendrán mayor valor de NDVI. Según Debuisson et al. (2010), una biomasa saludable y vigorosa es caracterizada por una fuerte reflectancia cercana al espectro infrarrojo (R_{NIR}) y una baja reflectancia roja (R_{red}) debido a la absorción de la clorofila.

Las variables de contenido de clorofila SPAD y NDVI de los genotipos del ensayo BASE 120 en la época de junio de 2016 no muestran una correlación significativa (Cuadro 18). Eitel et al. (2010), argumentan según los resultados de su investigación que el contenido de clorofila *ab* está más relacionado al NDRE que al NDVI y que por consiguiente la reflectancia que emplea el

espectro de borde rojo (red-edge reflectance) es más útil en la detección temprana de estrés en plántulas. El valor promedio de NDRE de los 120 genotipos fue de 0.18. Los genotipos que mostraron los mayores valores de NDVI tuvieron valores de 0.20 y 0.21 de NDRE y su contenido de clorofila estuvo en el rango entre 38.5 y 46.5 unidades SPAD (Cuadro 17). Según el cuadro de correlaciones de Pearson (cuadro 18) se observa una fuerte y significativa correlación lineal entre los valores de NDVI y NDRE ($r^2 = 0.9170$).

Es importante destacar que la temperatura en la copa de las plantas no es igual a la temperatura ambiental. Plantas con tolerancia a estrés de altas temperaturas tienen la capacidad de producir compuestos orgánicos para enfrentar el estrés (Rivero et al., 2001); lo que provoca que la temperatura del follaje sea diferente a la temperatura del ambiente. Además, la transpiración ayuda reducir las temperaturas de las hojas. Las figuras 7, 8 y 9 muestran la temperatura ambiental en la tercera época de siembra del ensayo BASE 120. La temperatura promedio en la copa de las plantas del ensayo BASE 120 fue de 35.6°C (Cuadro 17). Los genotipos que mostraron valores altos de NDVI y NDRE mostraron igualmente los valores más bajos de temperatura entre las 120 líneas del ensayo. Algunas de estas líneas con menor temperatura fueron ALB 213, I9365-31, G21212, BIOF 2-106 y Pérola todas con temperaturas en la copa en el rango entre 32.7 y 34.1°C. Los datos de altura, NDVI y NDRE muestran que existe correlación negativa y significativa entre estas 3 variables y la temperatura de la copa de las plantas. Mediante estos datos se puede concluir que valores altos de temperatura fueron asociados con una reducción en los valores de NDVI y NDRE y, además, a mayor temperatura en la copa de las plantas la altura de las plantas disminuye (Cuadro 18). Esto concuerda con Prasad et al. (2006) y Prasad et al. (2001), quienes argumentan que el estrés causado por las sequías y las altas temperaturas a menudo provoca una disminución en el crecimiento y la altura

Cuadro 17. Media de cuadrados medios de las características de los genotipos del ensayo BASE 120 sembrado en Isabela, Puerto Rico en junio de 2016.

Entrada (nombre)	Entrada úmero)	Rend. ¹ (kg/ha)	Flor. ² (días)	Periodo Rep. ³ (días)	Mad. ⁴ (días)	SPAD ⁵	Nod. ⁶ (1-9)	Pud. Raíz ⁷ (1-9)	Macro. ⁸ (1-9)	BRGA ⁹ (grados)	Altura ¹⁰ (cm)	NDVI ¹¹	NDRE ¹²	Temp ¹³ (°C)
Aifi Wuriti SS	1	1136	37.4	36	73	43.4	6.8	2.2	2.4	56	36.0	0.61	0.17	36.8
ALB 213	2	1375	35.2	39	74	42.4	6.2	1.8	2.2	67	44.4	0.76	0.21	32.7
ALB 74	3	1118	34.4	37	72	36.5	7.4	1.4	1.8	54	32.6	0.63	0.17	36.5
ALS 0532-6	4	1291	37.0	40	77	37.2	6.2	2.4	1.6	59	33.2	0.67	0.19	35.1
Amadeus 77	5	1496	35.2	36	71	47.5	5.0	1.4	1.2	DP	30.7	0.62	0.17	37.3
B12724	6	1362	39.6	37	77	38.5	5.0	2.0	2.0	60	39.8	0.56	0.16	36.2
B14302	7	1192	43.0	35	78	43.3	4.0	1.6	1.8	54	37.4	0.64	0.18	36.9
B14303	8	1317	41.8	35	77	41.4	5.6	1.6	1.8	60	39.5	0.59	0.17	35.8
B14311	9	852	40.8	35	76	36.3	5.6	2.2	1.8	60	39.0	0.61	0.16	36.9
BAT 477	10	1310	37.4	34	72	36.6	4.0	1.4	2.0	62	33.0	0.65	0.18	35.3
BAT 881	11	1333	41.6	34	75	52.7	5.6	1.2	2.2	56	41.6	0.64	0.19	35.2
Beniquez	12	1493	38.0	38	76	39.7	4.4	2.0	1.8	60	37.7	0.69	0.19	35.3
BFS 139	13	911	35.0	43	78	35.4	7.0	2.0	2.8	66	41.6	0.64	0.19	34.8
BFS 29	14	1486	34.8	38	73	51.4	DP	DP	DP	DP	38.0	0.65	0.19	34.8
BFS 81	15	1025	34.6	36	71	52.9	6.8	1.6	1.8	64	40.6	0.62	0.17	36.0
BFS 87	16	1259	34.6	39	74	41.6	5.4	2.0	2.2	64	44.4	0.72	0.21	34.6
BFS 94	17	1581	37.2	33	70	52.1	6.0	2.0	1.6	51	31.8	0.68	0.20	35.5
BFS 95	18	1598	35.2	36	71	50.5	5.6	1.8	1.4	59	35.1	0.67	0.19	35.2
BIOF 2-106	19	1796	35.8	35	71	40.0	5.6	1.2	1.2	62	44.4	0.74	0.20	34.0
BIOF 4-70	20	1561	36.0	34	70	38.4	6.4	1.6	1.4	54	40.0	0.69	0.19	34.5
BK9-2	21	802	38.0	34	72	51.8	7.2	1.8	1.7	52	36.9	0.62	0.17	35.8
Bribri	22	1289	37.4	38	75	46.3	5.4	2.2	1.4	62	39.4	0.65	0.18	34.6
BRT 103-182	23	1802	36.0	38	74	47.6	4.6	1.2	1.8	58	35.2	0.67	0.19	35.6
BRT 943-20	24	1929	36.6	37	74	55.1	6.0	1.4	1.2	50	38.3	0.67	0.19	35.5
Calima	25	178	37.2	DP	DP	39.1	5.4	2.0	2.4	46	38.0	0.52	0.14	37.1
Cardenal	26	1062	36.8	47	83	45.1	5.6	1.8	2.0	54	35.3	0.59	0.17	36.5
Carioca	27	1183	37.2	36	73	44.7	4.8	1.8	1.8	58	30.0	0.65	0.19	35.0
Carrizalito	28	1460	38.6	37	76	44.6	5.2	2.8	2.8	52	33.4	0.59	0.17	37.0
Cedrón	29	1197	39.2	35	74	49.6	7.0	3.0	2.6	68	41.5	0.64	0.18	35.3
Centa Pipil	30	1404	38.6	36	74	51.2	6.6	2.0	1.4	61	43.3	0.59	0.16	36.5
Croissant	31	1047	35.2	35	70	50.0	6.8	1.2	1.0	61	37.2	0.69	0.20	34.0
DEHORO	32	1303	36.8	36	73	45.0	6.4	2.6	1.8	60	35.3	0.65	0.18	36.7
DOR 364	33	1489	37.6	36	74	41.9	6.8	1.6	1.6	56	35.5	0.68	0.19	36.1
DOR 390	34	1221	41.0	35	76	45.2	4.8	2.6	2.2	58	42.0	0.65	0.19	36.0
DPC40	35	1432	38.0	36	74	49.9	6.4	1.0	1.2	52	40.3	0.64	0.17	35.8
FBN 1203-43	36	1476	35.8	37	73	44.8	6.4	1.6	1.6	53	38.1	0.56	0.15	37.4
FBN 1203-47	37	1190	35.8	36	72	38.9	4.8	1.8	2.0	56	34.2	0.69	0.20	35.1
FBN 1205-31	38	804	43.4	46	89	45.0	4.2	1.6	2.0	64	30.5	0.61	0.16	36.2
FBN 1210-48	39	1231	41.8	40	82	37.5	5.6	1.2	2.0	66	37.6	0.66	0.17	35.5

G21212	40	932	38.4	34	73	46.5	DP	DP	DP	DP	35.4	0.73	0.20	33.5
GN9-4	41	792	35.4	36	72	43.9	5.4	1.6	1.4	60	36.4	0.68	0.19	37.3
I9365-31	42	1353	41.2	30	72	38.5	5.6	2.0	2.2	62	39.1	0.73	0.20	33.3
ICA Pijao	43	887	42.2	36	79	47.3	2.8	2.4	1.8	60	41.8	0.66	0.19	34.4
ICB 301-204	44	1393	36.6	33	70	39.0	3.4	1.8	1.4	64	38.6	0.64	0.18	34.6
ICTAZAM ML	45	1427	37.2	37	74	43.9	6.2	1.4	1.4	64	35.5	0.61	0.18	36.4
IJR	46	1098	36.2	33	69	36.7	5.0	2.4	1.7	60	38.1	0.69	0.19	35.1
INB 835	47	1253	36.6	35	72	42.2	6.4	2.0	2.4	64	32.0	0.69	0.19	34.8
INB 841	48	897	33.8	32	66	51.5	DP	DP	DP	DP	26.3	0.58	0.17	39.0
INTA Precoz	49	384	50.4	37	88	39.7	5.0	2.0	1.2	66	39.4	0.66	0.19	35.8
Jamapa	50	1035	41.2	32	73	40.4	3.4	1.2	1.2	48	44.4	0.72	0.20	34.4
Matambú	51	1799	36.4	36	72	42.4	5.6	2.0	1.4	64	37.4	0.60	0.17	35.8
Matterhorn	52	1151	34.8	32	67	40.1	5.4	2.4	1.8	52	33.7	0.66	0.18	35.8
MEN 2201-64 ML	53	834	31.0	39	70	50.2	4.8	1.6	1.2	63	34.2	0.68	0.19	36.5
MER 2212-28	54	1516	37.8	37	74	54.3	6.2	1.8	2.2	54	33.2	0.61	0.16	36.4
MHN 322-49	55	1095	41.6	47	89	41.5	5.0	1.4	2.2	60	42.4	0.73	0.20	34.3
Morales	56	911	40.6	33	74	44.5	4.4	2.4	2.4	59	32.4	0.66	0.19	35.5
MSU BNF Entry 86	57	958	41.8	33	75	41.9	5.6	2.4	1.8	64	34.8	0.60	0.17	38.8
NCB 280	58	1518	35.6	35	71	44.5	DP	DP	DP	DP	39.4	0.73	0.20	34.5
Paraisito	59	765	41.2	40	81	40.0	4.4	1.8	1.0	52	33.2	0.67	0.19	34.4
Pérola	60	967	41.6	36	78	44.3	3.8	1.8	2.6	66	35.2	0.73	0.21	34.1
PR 0401-259	61	1322	35.8	37	73	38.9	5.0	2.2	1.2	62	42.0	0.56	0.15	35.9
PR 0443-151	62	1258	40.6	36	77	59.3	6.6	1.2	1.2	56	38.9	0.65	0.19	34.7
PR0806-81	63	1056	39.0	35	74	39.9	5.4	1.8	2.0	52	32.9	0.66	0.19	37.6
PR1147-1	64	1310	36.2	39	75	44.5	5.6	1.0	1.4	66	35.4	0.64	0.18	37.1
PR1147-3	65	1618	36.2	37	74	42.8	6.2	2.0	2.0	64	45.4	0.67	0.19	34.5
PR1147-6	66	1381	37.0	39	76	42.9	5.2	1.0	1.0	56	44.3	0.68	0.19	35.7
PR1147-8	67	1249	37.2	38	76	55.1	7.0	1.6	1.2	63	38.9	0.58	0.15	37.3
PR1165-3	68	1472	37.8	36	74	40.4	4.8	1.8	2.2	60	34.1	0.71	0.19	36.5
PR1217-1	69	1123	39.6	35	75	47.1	5.2	2.0	2.0	62	32.0	0.63	0.17	37.6
PR1217-16	70	1574	36.4	40	76	42.8	4.4	1.8	1.2	66	32.3	0.63	0.18	36.9
PR1418-15	71	1732	37.8	37	75	42.3	5.2	1.6	1.7	52	41.3	0.65	0.18	35.3
PR1483-105	72	1725	35.8	38	74	45.1	6.8	1.4	1.4	59	42.1	0.69	0.19	34.3
PR9920-171	73	848	37.4	31	68	29.2	6.0	1.6	1.6	63	34.4	0.69	0.19	34.7
Quimbaya	74	350	35.2	40	75	35.9	DP	DP	DP	DP	45.0	0.64	0.18	35.6
RCB 593	75	1278	33.6	36	69	38.3	6.2	2.2	2.2	60	37.6	0.68	0.18	35.0
Rosetta	76	1050	36.6	33	69	53.6	5.2	2.2	1.2	60	39.9	0.65	0.18	37.0
RRH 336-28	77	941	39.6	36	76	47.2	6.4	1.4	1.6	64	35.2	0.66	0.18	37.1
Sayaxché ML	78	1502	42.0	33	75	56.4	4.6	1.8	1.2	64	44.1	0.64	0.18	36.6
SB 747	79	1027	38.6	35	74	40.0	4.6	1.8	1.6	56	34.6	0.63	0.18	37.1
SB 754	80	1124	36.4	35	71	53.9	5.4	2.2	1.2	60	38.6	0.66	0.18	35.2
SB 761	81	DP	35.6	34	70	48.5	5.0	1.4	1.6	51	40.7	0.67	0.19	36.2
SB 770	82	1205	36.2	34	70	47.4	5.2	1.6	1.8	56	40.6	0.68	0.20	34.7
SB 774	83	1160	37.8	35	72	36.6	6.8	1.8	4.4	58	34.3	0.69	0.20	36.4

SB 781	84	1655	35.4	34	70	34.6	6.8	1.8	1.6	58	32.1	0.70	0.21	34.9
SB 787	85	1450	34.6	33	68	53.7	6.8	2.4	2.0	64	33.7	0.67	0.18	34.0
SB 793	86	1070	35.6	34	70	45.7	5.8	1.8	2.8	70	33.3	0.62	0.17	37.2
SB 815	87	DP	34.4	33	67	48.0	5.4	1.4	1.4	58	39.7	0.65	0.18	35.1
SB DT1	88	1808	35.8	35	71	43.8	5.6	1.8	1.8	62	38.9	0.63	0.17	35.9
SEF 10	89	1353	35.2	35	70	39.3	6.0	1.6	2.0	64	42.0	0.66	0.18	34.8
SB2-4	90	1396	38.8	36	75	43.7	5.2	1.6	1.4	60	42.8	0.65	0.18	33.3
SEF 15	91	1430	34.0	34	68	40.6	6.8	2.4	2.4	60	39.9	0.67	0.19	33.6
SEF 16	92	1202	35.4	35	70	46.7	5.6	1.4	1.6	62	33.3	0.71	0.19	34.3
SEF 17	93	1425	34.4	36	70	40.2	6.6	2.0	2.2	66	37.0	0.67	0.18	35.6
SEF 71	94	1667	36.2	37	74	57.9	5.2	2.0	2.4	58	38.3	0.59	0.17	34.5
SEQ 342-39	95	1024	41.0	36	77	45.0	4.4	2.0	1.6	56	42.0	0.66	0.19	34.9
SEQ 342-89	96	1333	36.4	34	71	54.5	5.2	1.8	1.2	54	42.0	0.66	0.18	35.1
SER 113	97	1767	36.8	35	72	42.5	6.4	2.2	1.6	58	37.0	0.70	0.20	35.2
SER 118	98	1681	35.6	34	69	43.8	6.2	2.0	1.6	56	40.6	0.68	0.19	35.3
SER 125	99	1338	34.6	33	67	40.3	5.4	1.6	1.6	66	41.7	0.68	0.19	35.8
SER 16	100	1496	35.0	33	68	31.3	5.1	2.2	2.2	64	37.1	0.64	0.17	35.7
SER 78	101	1582	35.0	33	68	38.2	4.8	2.2	1.8	62	37.8	0.69	0.20	34.5
SJC 730-79	102	1429	41.0	40	81	45.4	4.8	2.0	1.2	64	44.2	0.68	0.19	34.7
SB2-46	103	1261	35.6	33	69	42.7	7.8	3.2	2.4	66	25.7	0.62	0.18	36.3
SB2-96	104	751	35.0	34	69	47.4	6.8	2.0	1.4	56	27.4	0.64	0.18	37.9
SB2-105	105	1028	39.6	32	72	35.0	6.2	2.0	2.0	64	40.3	0.62	0.17	35.9
SXB 405	106	1033	37.6	36	74	72.5	3.8	2.8	2.0	64	40.3	0.69	0.19	35.6
SXB 412	107	1313	36.4	38	74	34.6	6.2	1.4	2.0	66	34.8	0.62	0.17	35.5
TARS HT-1	108	1074	30.0	34	64	45.4	6.2	3.3	3.0	58	32.7	0.64	0.17	38.4
SB2-170	109	1304	37.0	35	72	37.2	6.2	2.2	1.8	55	43.0	0.46	0.12	35.4
TARS-LFR1	110	1379	37.4	36	74	45.6	6.4	1.8	1.8	65	43.9	0.61	0.16	35.5
TARS-MST1	111	1729	36.6	35	72	53.3	6.8	2.2	1.6	66	40.1	0.65	0.18	34.4
Tepary G40001	112	736	42.8	41	84	50.8	9.0	2.4	1.4	60	32.0	0.60	0.16	35.0
TARS Tep-22	113	957	35.4	37	72	43.7	9.0	1.4	1.6	68	36.4	0.62	0.17	35.3
Tio Canela 75	114	1370	36.4	36	72	47.7	4.2	2.0	1.6	64	40.1	0.65	0.18	35.3
USRM 20	115	978	34.0	37	71	DP	5.4	1.8	2.0	56	30.1	0.60	0.16	36.1
VAX 6	116	1446	37.2	35	72	39.2	5.2	1.8	1.6	50	40.1	0.64	0.18	34.8
Verano	117	1492	36.6	39	76	52.9	5.2	1.6	1.4	48	39.5	0.60	0.16	35.6
XRAV-40-4	118	1401	38.8	32	70	43.3	4.0	1.4	1.6	60	40.1	0.70	0.20	35.8
Zenith	119	1157	39.4	34	74	55.3	5.6	1.6	2.0	64	47.9	0.64	0.18	34.6
Zorro	120	1453	40.2	31	72	47.4	4.6	1.2	2.2	64	48.6	0.71	0.20	34.1
Promedio		1268	37.4	36	73	44.6	5.6	1.8	1.8	60	37.7	0.65	0.18	35.6

¹ Rendimiento de semilla (kg/ha); ² Días entre la siembra hasta la floración; ³ Días entre el inicio de floración hasta la madurez; ⁴ Días entre la siembra hasta la madurez; ⁵ Lectura del metro SPAD - una medida indirecta de contenido de clorofila de la hoja, expresada en unidades SPAD; ⁶ Calificación de nodulación basada en la escala del CIAT donde $1 \geq 81$ nódulos y $9 \leq 10$ nódulos por planta; ⁷ Calificación de pudrición radicular basada en la escala del CIAT donde 1= ausencia de síntomas y 9= síntomas muy severos; ⁸ Calificación de síntomas de tizón ceniza del tallo basada en la escala del CIAT donde 1= ausencia de síntomas y 9= síntomas muy severos; ⁹ Ángulo de crecimiento de las raíces expresado en grados (°); ¹⁰ Altura de plantas expresada en centímetros; ¹¹ Índice de vegetación de diferencias normalizadas: medida de reflectancia en hojas para biomasa de plantas; ¹² Índice de reflectancia roja de diferencias normalizadas: medida de reflectancia para biomasa de plantas en largos de onda de 730 nanómetros; ¹³ Temperatura en la copa de las plantas, expresada en grados Celsius; DP = dato perdido.

Cuadro 18. Correlaciones de Pearson y valores P (abajo) de las características de los genotipos del ensayo BASE 120 sembradas en Isabela, Puerto Rico en junio de 2016

	Rend. ¹	Flor.	Repro.	Mad.	SPAD	Nod.	Pud.	Macro.	BRGA	Altura	NDVI	NDRE
Flor. ²	-0.3456 0.0002											
Repro. ³	-0.1011 0.2934	0.0933 0.3322										
Mad. ⁴	-0.2981 0.0016	0.7395 0.0000	0.7329 0.0000									
SPAD ⁵	0.0513 0.5947	0.0345 0.7206	0.0356 0.7121	0.0553 0.5663								
Nod. ⁶	0.0245 0.7997	-0.3092 0.0010	0.0362 0.7074	-0.1844 0.0537	0.0247 0.7980							
Pud. ⁷	-0.1314 0.1711	-0.0826 0.3912	-0.1655 0.0840	-0.1616 0.0917	0.0269 0.7799	0.0733 0.4468						
Macro. ⁸	-0.0759 0.4305	-0.0641 0.5056	-0.0433 0.6533	-0.0175 0.4578	-0.1970 0.0392	0.1014 0.2919	0.3644 0.0001					
BRGA ⁹	-0.1085 0.2591	-0.0217 0.8223	0.0321 0.7396	0.0139 0.8852	-0.0757 0.4320	0.0884 0.3583	0.1096 0.2542	0.1681 0.0792				
Altura ¹⁰	0.2339 0.0139	0.1459 0.1283	-0.0383 0.6910	0.0796 0.4083	0.1260 0.1896	-0.1738 0.0694	-0.2107 0.0272	-0.1737 0.0695	0.0801 0.4056			
NDVI ¹¹	0.0700 0.4671	-0.0638 0.5077	-0.1342 0.1622	-0.1337 0.1636	-0.0893 0.3537	-0.2078 0.0294	-0.1769 0.0644	0.0255 0.7916	0.0814 0.3978	0.0963 0.3169		
NDRE ¹²	0.0636 0.5091	-0.0071 0.9413	-0.1403 0.1439	-0.1009 0.2940	-0.0767 0.4256	-0.2414 0.0111	-0.1367 0.1545	0.0576 0.5501	0.0263 0.7850	0.0603 0.5315	0.9170 0.0000	
Temp. ¹³	-0.2366 0.0128	-0.0041 0.9657	0.0176 0.8550	0.0019 0.9844	0.0482 0.6168	0.0636 0.5093	0.1475 0.1240	0.0625 0.5164	-0.0854 0.3750	-0.4192 0.0000	-0.4909 0.0000	-0.4647 0.0000

¹Rendimiento de semilla (kg/ha); ²Días entre siembra hasta florecida; ³Días entre el inicio de la florecida hasta la madurez; ⁴Días entre la siembra hasta la madurez; ⁵Lectura del metro de SPAD - una medida indirecta del contenido de clorofila de la hoja, expresada en unidades SPAD; ⁶Calificación de nodulación basada en la escala del CIAT donde $1 \geq 81$ nódulos y $9 \leq 10$ nódulos por planta; ⁷Calificación de pudrición radicular basada en la escala del CIAT donde 1 = ausencia de síntomas y 9 = síntomas muy severos; ⁸Calificación de síntomas de tizón ceniciento del tallo basada en la escala del CIAT donde 1 = ausencia de síntomas y 9 = síntomas muy severos; ⁹Ángulo de crecimiento de las raíces expresado en grados (°); ¹⁰Altura de plantas expresada en centímetros; ¹¹Índice de vegetación de diferencias normalizadas: medida de reflectancia en hojas para biomasa de plantas; ¹²Índice de reflectancia roja de diferencias normalizadas: medida de reflectancia para biomasa de plantas en largos de onda de 730 nanómetros; ¹³Temperatura en la copa de las plantas, expresada en grados Celsius (°C).

Figura 7. Temperatura ambiental durante el mes de junio de 2016 en la Subestación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico.

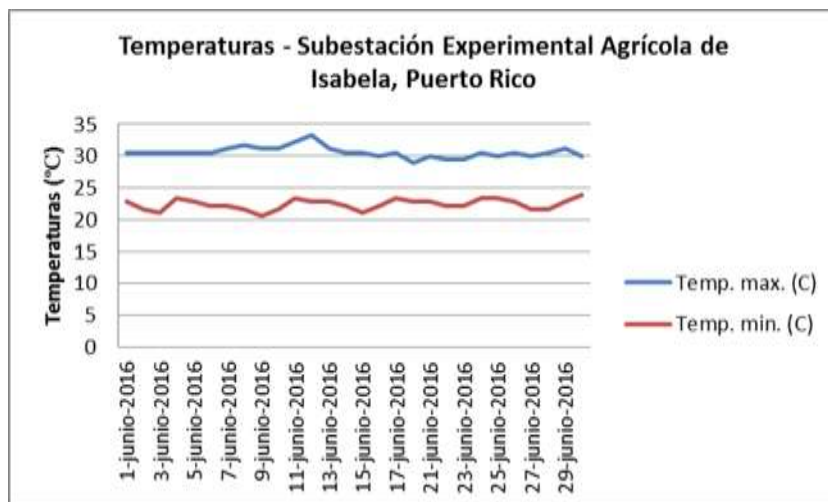


Figura 8. Temperatura ambiental durante el mes de julio de 2016 en la Subestación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico.

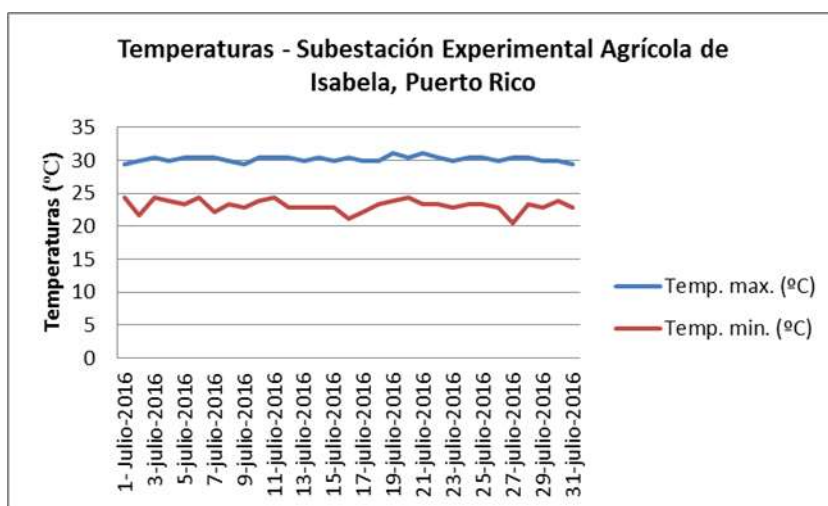
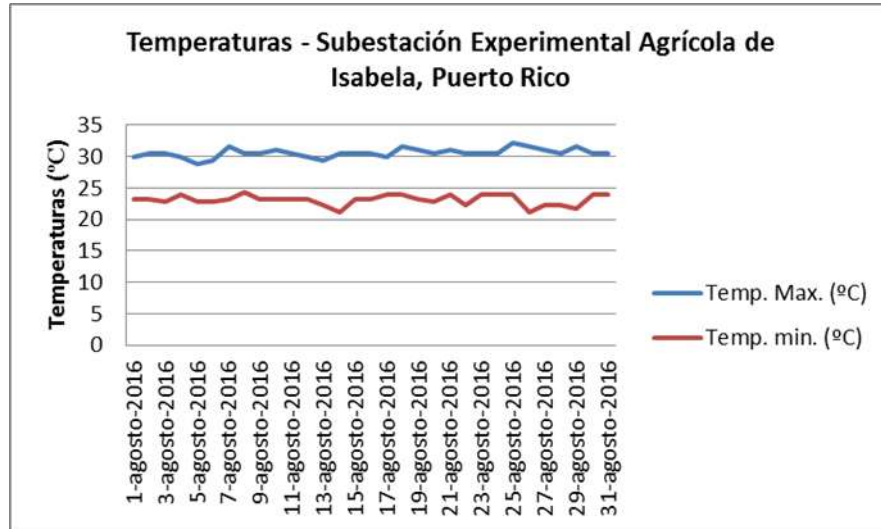


Figura 9. Temperatura ambiental durante el mes de agosto de 2016 en la Subestación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico.



de las plantas.

Se obtuvieron correlaciones negativas y significativas entre la nodulación de las líneas del ensayo BASE 120 y NDVI y la nodulación de las líneas y NDRE (Cuadro 18). Esto significa que líneas que mostraron valores bajos de NDVI y NDRE tuvieron una puntuación alta de calificación de nodulación; o por el contrario líneas que tuvieron puntuación baja en la escala de nodulación expresaron valores altos de NDVI y NDRE. Ya que el NDVI y NDRE son medidas indirectas de biomasa se puede concluir que un mayor número de nódulos promovió una alta biomasa en los genotipos del ensayo. Además, el rendimiento de semilla y la altura de las plantas estuvieron positiva y significativamente correlacionados, a diferencia de lo reportado por Ambachew et al. (2012), quienes estipulan que la altura estuvo negativa y significativamente relacionada al rendimiento. Los análisis de varianzas para las variables de detección proximal muestran que existe un efecto fijo de genotipo para las variables tanto de NDRE, NDVI y

temperatura en la copa de las plantas ($p < 0.05$) (Cuadros 19, 20, 21). Además, se muestra que no existe interacción entre los genotipos y la época de siembra. La variación observada en estas variables durante la época de siembra de junio de 2016 se debe solo a efectos de los genotipos del ensayo BASE 120. Estos resultados concuerdan con lo encontrado por Samborski et al. (2015), en su investigación conducida para evaluar el efecto de la reflectancia medida por índices de vegetación (NDVI's) en el cultivo de trigo (*Triticum aestivum* L.). Sus resultados indican que existe un efecto significativo del genotipo de las plantas de trigo pero no de la interacción entre el genotipo y el lugar de la siembra. A diferencia de las variables anteriores de detección proximal, la altura de las plantas del ensayo estuvo influenciada por la época de siembra, los genotipos y por la interacción entre los genotipos y la época de siembra ($p < 0.05$) (Cuadro 22).

Prinqual Análisis

Con el objetivo de identificar grupos de genotipos que se destacan por su desempeño a través de las épocas se realizó un análisis de componentes principales. En la Figura 10 se muestra un análisis de componentes principales que toma en consideración el rendimiento, los días a florecida y los días a madurez fisiológica. El primer componente principal rendimiento (eje de Y) de la variación observada en las tres épocas de siembra. En este análisis se destacan por rendimiento, líneas de habichuela desarrolladas por la UPR, entre ellas las líneas 65 (PR1147-3), 70 (PR1217-16) y 71 (PR1418-15). Algunas características que poseen estas líneas son granos pequeños, tolerancia a baja fertilidad de suelo y a altas temperaturas y resistencia al BGYMV y al BCMNV y son intermedios en días a la floración y a la madurez. En ambientes de altas temperaturas ocurre abscisión de flores y se estimula la floración en genotipos susceptibles (Konsens et al., 1991). En los vectores de días a la florecida y días a la madurez (eje de X) se destaca muy distanciado de los demás el genotipo andino el 108 (TARS HT-1) de

Cuadro 19. Prueba tipo III de efectos fijos para NDRE.

Fuente de variación	GL Num.	GL Den.	F	Pr > F
Época (E)	1	8	0.31	0.5909
Genotipo (G)	119	952	2.19	<.0001
G x E	119	952	0.37	1

Cuadro 20. Prueba tipo III de efectos fijos para NDVI.

Fuente de variación	GL Num.	GL Den.	F	Pr > F
Época (E)	1	8	1.04	0.3375
Genotipo (G)	119	952	2.16	<.0001
G x E	119	952	0.40	1

Cuadro 21. Prueba tipo III de efectos fijos para temperatura en la copa de las plantas.

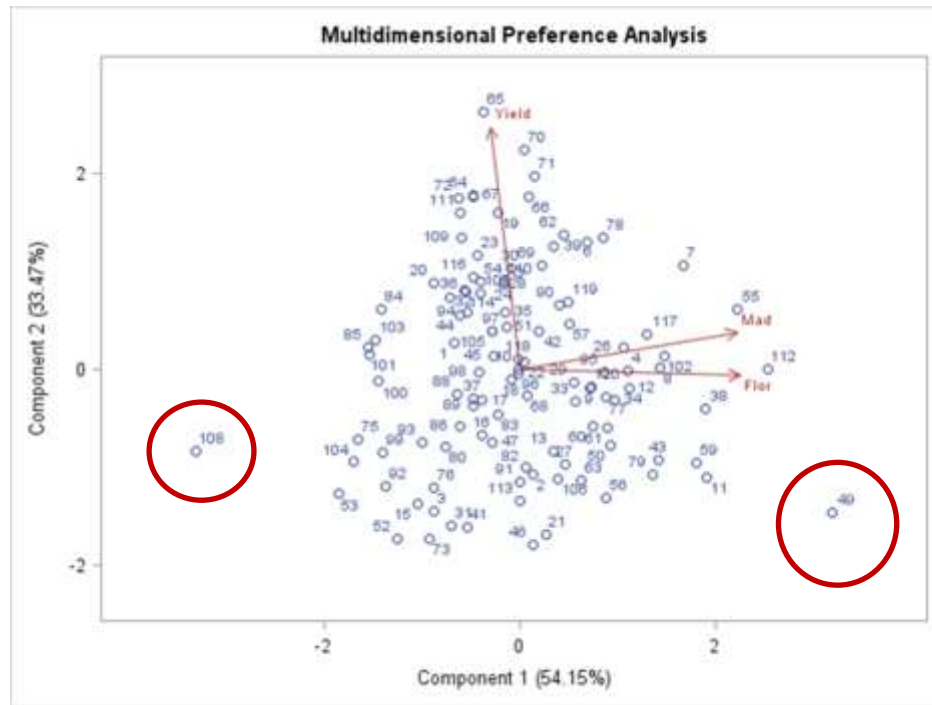
Fuente de variación	GL Num.	GL Den.	F	Pr > F
Época (E)	1	8	2.04	0.1908
Genotipo (G)	119	952	3.49	<.0001
G x E	119	952	0.61	0.9995

Cuadro 22. Prueba tipo III de efectos fijos para altura de plantas.

Fuente de variación	GL Num.	GL Den.	F	Pr > F
Época (E)	1	8	5.96	0.0405
Genotipo (G)	119	952	2.03	<.0001
G x E	119	952	1.36	0.0104

habichuela que se identifica como la línea de más temprana floración y madurez del ensayo BASE 120. La mayoría de los genotipos se encuentran agrupados mostrando días a la florecida y días a la madurez intermedios. Contrario al genotipo 108, se encuentra el genotipo 49 (INTA

Figura 10. Análisis de componentes principales de características agronómicas (rendimiento, días a la florecida y días a la madurez fisiológica).

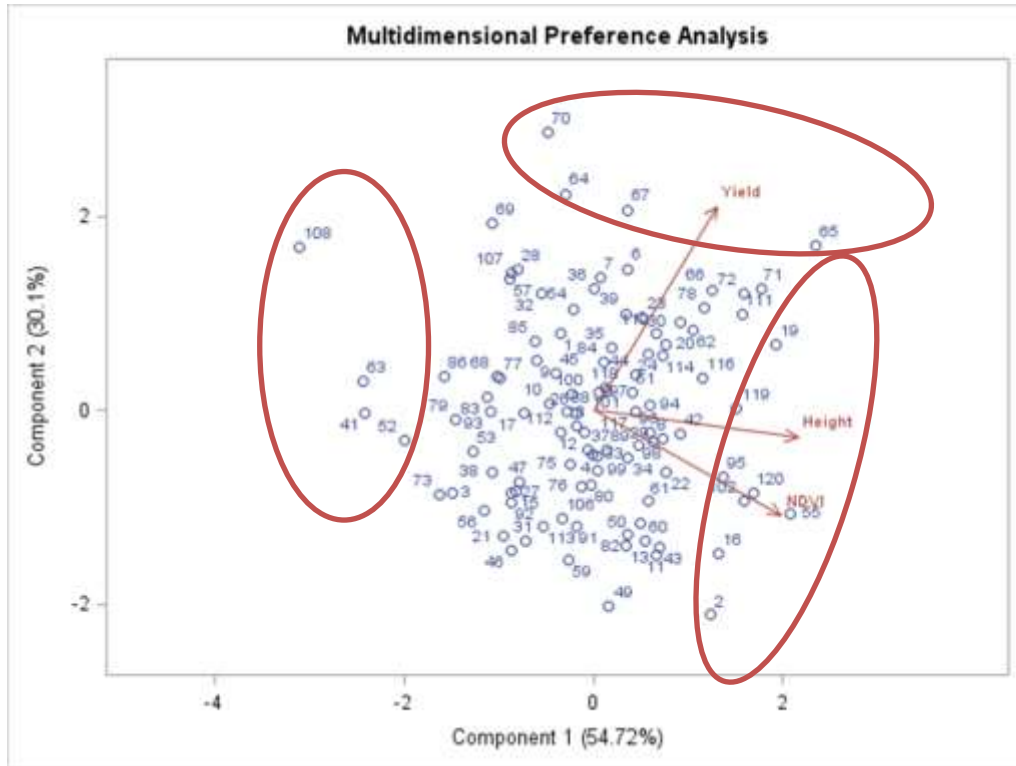


Precoz). Este genotipo tuvo 85 días para alcanzar la madurez y tuvo un rendimiento de 403 kg/ha (Cuadro 14).

La figura 11 ilustra un análisis de componentes principales que incluye las alturas de las plantas y NDVI explicando el 54.72% de la variación entre los 120 genotipos y el rendimiento de semilla que explica el 30.10% de la variación. Es posible identificar de forma clara un grupo de genotipos que comparten valores altos de biomasa, entre ellos las líneas 55 (MHN 322-49), 2 (ALB 213), 16 (BFS 87), 120 (Zorro), 102 (SJC 730-79), 95 (SEQ 342-39) y 19 (BIOF 2-106).

Las líneas 108 (TARS HT1), 63 (PR0806-81), 41 (GN9-4) y 52 (Matterhorn) se ubicaron claramente en el extremo opuesto a las últimas líneas mencionadas con valores altos de biomasa, específicamente NDVI. Esto indica que mayores rendimientos están asociados a líneas con valores de biomasa y NDVI intermedios. La línea 55 (MHN 322-49) fue identificada dentro del

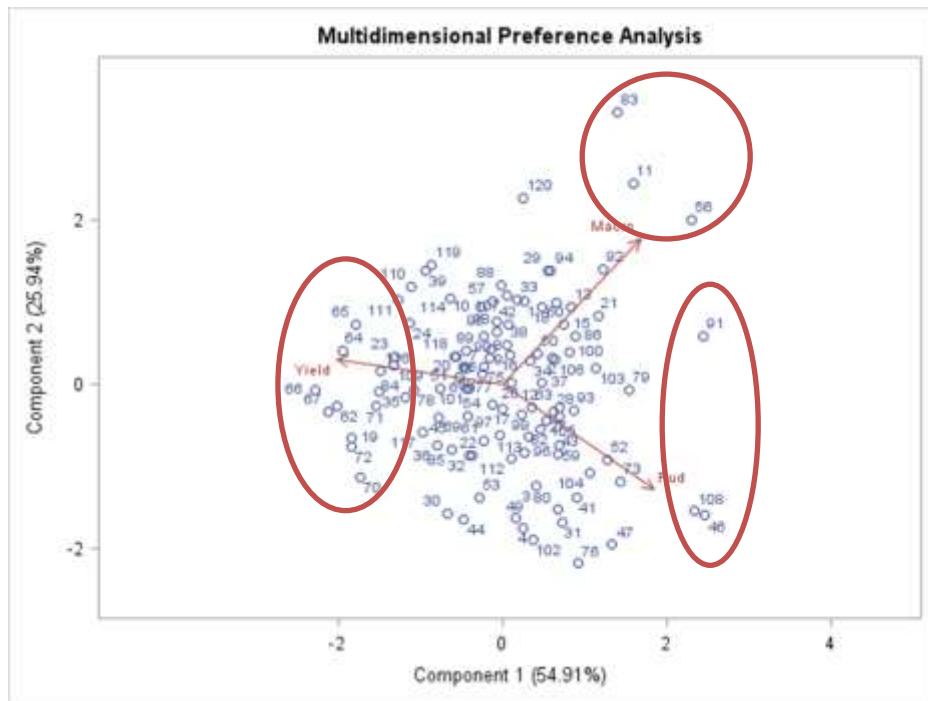
Figura 11. Análisis de componentes principales de las características rendimiento, altura y NDVI.



grupo de líneas tardías (Figura 7) lo que puede estar relacionado a su alta calificación de NDVI, mientras que la línea 108 (TARS HT1) se destacó por ser muy temprana y con baja calificación de NDVI y altura. Líneas como la entrada 70 (PR1217-16) produjo alto rendimiento con menos producción de biomasa y una altura de planta más baja. Este resultado sugiere un índice de cosecha más alta para esta línea.

Se llevó a cabo, además, un análisis de componentes principales que incluyó rendimiento de semilla, la pudrición radicular y el tizón ceniciento del tallo (Figura 12). En este análisis el primer componente principal explicó 54.91% de la variabilidad. Los genotipos con mayores rendimientos de semilla fueron asociados con bajos niveles de pudriciones radicales. Entre

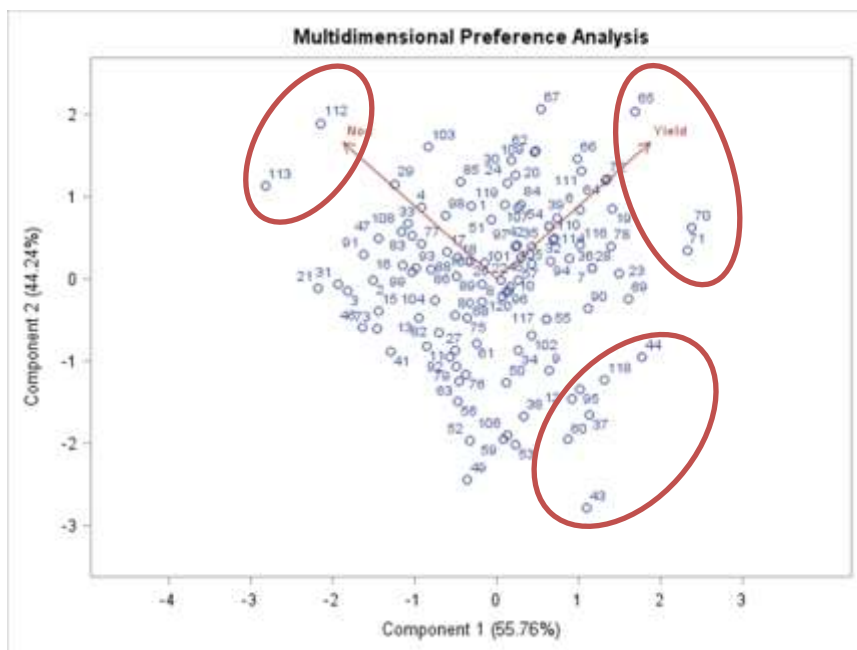
Figura 12. Análisis de componentes principales de rendimiento y enfermedades.



estos se identifican las líneas 66 (PR1147-6), 67 (PR1147-8), 65 (PR1147-3), 64 (PR1147-1), 62 (PR0443-151), 72 (PR1483-105), 70 (PR1217-16), 19 (BIOF 2-106), 71 (PR1418-15), 35 (DPC-40), 23 (BRT 103-182) y 84 (SB 781). Mientras el rendimiento se encuentra al extremo derecho en el eje de X al otro extremo del eje de X se encuentran claramente identificados los genotipos con alta calificación de enfermedades. Entre las líneas con alta calificación de pudrición radicular se encuentran las líneas 46 (IJR), 108 (TARS HT1), 91 (SEF 15) y 56 (Morales). De igual manera se identificó un pequeño grupo de líneas cuya severidad de la enfermedad causada por *Macrophomina spp.* tuvo un gran impacto sobre el rendimiento. Las líneas identificadas en este grupo fueron la 83 (SB 774), 11 (BAT 881) y 56 (Morales).

La figura 13 muestra un análisis de componentes principales para las características de nodulación y rendimiento de semilla. En esta figura se ilustran dos líneas que mostraron valores

Figura 13. Análisis de componentes principales de rendimiento y nodulación.

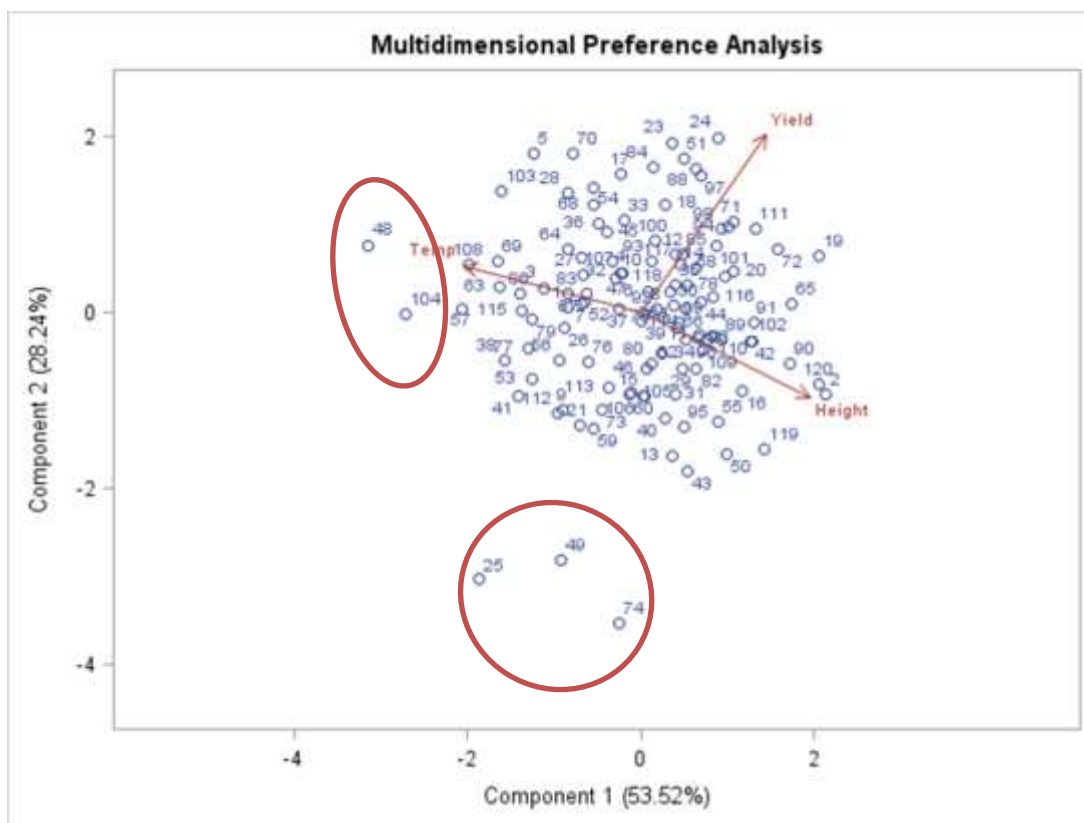


altos (poca nodulación) en la escala de nodulación del CIAT (Van Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987), estas son dos líneas de fríjol tépari (Tepary G40001 y TARS Tep-22). Al otro extremo del vector de nodulación se encuentran las líneas que mostraron buena calificación de nodulación, entre ellas las líneas 43 (ICA Pijao), 44 (ICB 301-204; Variedad liberada como INTA Centro Sur), 60 (Pérola), 37 (FBN 1203-47) y 118 (XRAV-40-4) con valores de nodulación en la escala del CIAT (Van Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987) en el rango de 5.2-5.8 (entre 21-40 nódulos) y cuyo rendimiento está por debajo del promedio de los 120 genotipos a excepción de INTA Centro Sur y XRAV-40-4. El vector de rendimiento muestra en su extremo más alto las tres líneas con mayor rendimiento promedio del ensayo BASE 120: 65 (PR1147-3) con 1,466 kg/ha, 70 (PR1217-16) con 1,365 kg/ha y 71 (PR1418-15) con 1,312 kg/ha. Línea 67 (PR1147-8) combina buen rendimiento con una mayor nodulación.

Los resultados de altura y temperatura en la copa de las plantas se incluyeron en un análisis principal para observar grupos de genotipos que comparten similitudes entre sí, en relación al rendimiento de semilla (Figura 14). Los genotipos con buen rendimiento se encuentran cercanos al extremo de la recta de rendimiento, así consecutivamente con la altura. Los genotipos con mayor temperatura en la copa de las plantas se encuentran al extremo de la recta de temperatura. Es posible identificar un pequeño grupo de genotipos cuyo rendimiento estuvo muy por debajo del promedio de todos los genotipos, éstos son 25 (Calima), 40 (INTA Precoz) y 74 (Quimbaya).

El primer componente principal representa el 53.52% de la variación que se debe a la temperatura y la altura de plantas. Mediante este esquema se puede concluir que plantas que tuvieron una altura superior registraron bajos valores de temperatura; o a mayor altura menor temperatura y que plantas con alto rendimiento tuvieron valores intermedios de altura y temperatura. Ambachew et al. (2012), reportaron una correlación negativa y significativa entre el rendimiento y la temperatura en la copa de las plantas. Esto se puede interpretar como que a mayor temperatura se esperaría una reducción en rendimiento. Esto concuerda con los resultados obtenidos en el ensayo BASE 120 en la época de siembra de junio de 2016.

Figura 14. Análisis de componentes principales de rendimiento, temperatura en la copa de las plantas y altura de plantas.



Conclusiones

Mediante la evaluación de estrés abiótico de los 120 genotipos de habichuela se identificaron 9 líneas desarrolladas en Puerto Rico, 5 líneas de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, 2 líneas del USDA-TARS y 2 líneas de Michigan State University con alto potencial de rendimiento en condiciones de baja fertilidad de suelo y con temperaturas moderadamente altas. Estas líneas además combinan resistencia a diversos virus, y otras enfermedades que afectan el cultivo en los trópicos húmedos.

Los rendimientos alcanzados por las líneas más prometedoras del ensayo sobrepasan el promedio de rendimiento de las 120 líneas del ensayo. Además, superan el rendimiento registrado en muchos países productores de habichuela. El rendimiento estuvo altamente correlacionado a enfermedades causadas por *Fusarium solani* y *Macrophomina phaseolina*. Ambos patógenos causaron una drástica reducción en la densidad de plantas en la segunda época de siembra por haber sido establecida en el mismo predio que la primera siembra por lo que se debe tomar en consideración la importancia de la rotación de cultivos para evitar la propagación de enfermedades causadas por patógenos del suelo. La pudrición causada por *Fusarium solani* provocó que plantas con mayor pudrición radicular muestren una menor densidad de raíces.

El método de no fertilización permitió identificar los genotipos más hábiles para formar y mantener simbiosis con *Rhizobium spp.* Esta simbiosis requiere una inversión de energía que está grandemente influenciada por la disponibilidad de fuentes de P en el suelo. Se observó una correlación negativa entre el número de nódulos en las raíces, el número de días hasta la floración y el número de días a la madurez. Así que plantas tardías tendrán una calificación más

baja en la escala de nodulación, lo que significa que serán capaces de formar una mayor cantidad de nódulos.

La eficiencia del uso del carrito de detección proximal fue demostrada, ya que se tomó una cantidad considerablemente grande de datos en periodos de 1- 1.5 horas durante la tercera época de siembra. Líneas con mayor temperatura en la copa de las plantas tuvieron menor rendimiento y líneas con mayor altura, NDVI y NDRE mostraron temperaturas más bajas en la copa de las plantas. Además, líneas con mayor altura registraron rendimientos superiores. La temperatura en la copa de las plantas, el NDVI y NDRE estuvieron influenciadas solo por los genotipos, mientras que la altura tuvo efecto de la interacción entre los genotipos y el ambiente.

Las líneas más sobresalientes de este ensayo serán utilizadas para un programa de cruzamientos que permitan combinar características para baja fertilidad de suelo, nodulación, resistencia a enfermedades y alto potencial de rendimiento en la Subestación Experimental Agrícola de Isabela de la Universidad de Puerto Rico.

Literatura citada

- Abawi, G.S., & Pastor-Corrales, M.A. (1990). *Root rot of beans in Latin America and África: Diagnosis, research methodologies, and management strategies*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).
- Akter, Z., Pageni, B.B., Lupwayi, N.Z., & Balasubramanian, P.M. (2014). Biological nitrogen fixation and *nifH* gene expression in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Canadian Journal of Plant Science*. 94: 203-212.
- Alvarado, M.A., Foroughbakhch, R., Jurado, E., & Rocha, A. (2002). El cambio climático y la fenología de las plantas. *Ciencia (Universidad Autónoma de Nuevo León)*. 5(4): 493-500.
- Ambachew, D., Mekbib, F., Asfaw, A., Beebe, S.E., & Balir, A.W. (2015). Trait associations in common bean genotypes grown under drought stress and field infestation by BSM bean fly. *The Crop Journal*. 3: 305-316.
- Andrade, D.S., Murphy, P.J., & Giller, K.E. (2002). The diversity of *Phaseolus*-Nodulating rhizobial populations is altered by liming of acid soils planted with *Phaseolus vulgaris* L. in Brazil. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(8): 4025-4034
doi:10.1128/AEM.68.8.4025-4034.2002
- Andrade-Sanchez, P., Gore, M.A., Heun, J.T., Thorp, K.R., Carmo-Silva, A.E., French, A.N., Salvucci, M.E., & White, J.W. (2014). Development and evaluation of a field-based highthroughput phenotyping platform. *Functional Plant Biology*. 41: 68-79.
- Andreeva N.I., Kozharinova, G.M., & Izmailov, S.F. (1998). Senescence of legume nodules. *Russian Journal of Plant Physiology*. 45:101-112.
- Araújo, A.P., Teixeira, M.G., & Lopes de Almedia, D. (2000). Growth and yield of common bean cultivars at two soil phosphorus levels under biological nitrogen fixation. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 4: 809-817.
- Attar, H.A., Blavet, D., Selim, E.M., Abdelhamid, M.T., & Drevon, J.J. (2012). Relationship between phosphorus status and nitrogen fixation by common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) under drip irrigation. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 9: 1-13.
- Bai, G., Ge, Y., Hussain, W., Baenziger, P.S., & Graef, G. (2016). A multi-sensor system for high throughput field phenotyping in soybean and wheat breeding. *Computers and Electronics in Agriculture*. 128: 181-192.
- Beaver, J.S., Porch, T.G., & Zapata, M. (2008). Registration of 'Verano' white bean. *Journal of Plant Registrations*. 2 (3): 187-189.
- Beebe, S.E., Rao, I.M., Blair, M.W., & Acosta-Gallegos, J.A. (2013a). Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Frontiers in Physiology*. 35(4): 1-20.

- Beebe, S.E., Rao, I.M., Mukankusi, C., & Buruchara, R.A. (2013b). Improving Resource Use Efficiency and Reducing Risk of Common Bean Production in Africa, Latin America, and the Caribbean. In C.H. Hershey (Ed.), *Eco-Efficiency: From Vision to Reality* (pp.117-134). Cali, Colombia: CIAT.
- Bliss, F.A. (1991). Breeding Plants for Enhanced Beneficial Interactions with Soil Microorganisms. In H.T. Stalker, & J.P. Murphy (Eds.), *Plant Breeding in the 1990s. Proceedings of the plant Breeding in the 1990s*. Raleigh, NC: CAB International.
- Bliss, F.A. (1993). Utilizing the potential for increased nitrogen fixation in common bean. *Plant and Soil*. 152: 157-160.
- Boddey, R.M., Peoples, M.B., Palmer, B., & Dart, P.J. (2000). Use of the ^{15}N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 57: 235-270.
- Broughton, W.J., & Dilworth, M.J. (1970). Plant nutrient solutions. In P. Somasegaran, & H.J. Hoben (Eds). *Handbook for rhizobia; Methods in Legume-Rhizobium technology* (pp. 245-249). University of Hawaii, Hawaii: Niftal Project.
- Broughton, W.J., Hernández, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., & Vanderleyen, J. (2003). Beans (*Phaseolus spp.*) – model food legumes. *Plant and Soil*. 252: 55-128.
- Brown, B., & Westermann, D. (2000). Soil Fertility and Bean Reduction. In *Bean Research, Production, and Utilization*. pp 63-71.
- Burke, I.C., Yonker, C.M., Parton, W.J., Cole, C.V., Flach, K., & Schimel, D.S. (1989). Texture, climate, and cultivation effects on soil organic matter content in U.S. grassland soils. *Soil Science Society of America*. 53: 800-805.
- Buttery, B.R., Park, S.J., & Findlay, W.I. (1987). Growth and yield of white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in response to nitrogen, phosphorus and potassium fertilizer and to inoculation with *Rhizobium*. *Canadian Journal of Plant Science*. 67: 425-432.
- Cabrera-Bosquet, L., Molero, G., Stellacci, A.M., Bort, J., Nogués, S., & Araus, J.L. (2011). NDVI as a potential tool for predicting biomass, plant nitrogen content and growth in wheat genotypes subjected to different water and nitrogen conditions. *Cereal Research Communications*. 39(1): 147-159.
- Cárdenas-Navarro, R., Sánchez-Yáñez, J.R., Farías-Rodríguez, R., & Peña-Cabriales, J.J. (2004). Los aportes de nitrógeno en la agricultura. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 10(2): 173-178.
- Castellanos, G., Jara, C., & Mosquera, G. (2013). *Guías Prácticas de Laboratorio para el manejo de Patógenos del Frijol*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Cichy, K.A., Snapp, S.S., & Kirk, W.W. (2007). Fusarium root rot incidence and root system architecture in grafted common bean lines. *Plant Soil*. 300: 233-244.

- Cortés, A.J. (2013). On the Origin of the Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *American Journal of Plant Sciences*. 4: 1998-2000.
- Curran, P.J., & Milton, E.J. (1983). The relationships between the chlorophyll concentration, LAI and reflectance of a simple vegetation canopy. *International Journal of Remote Sensing*. 4: 247-255.
- Debuisson, S., Germain, C., García, O., Panigai, L., Moncomble, D., Le Moigne, M., ... Cerovic, Z.G. (2010). Using Multiplex® and Greenseeker™ to manage spatial variation of vine vigor in champagne. 10th International Conference on Precision Agriculture. Denver, Colorado, July 18-21, 2010.
- Dixon, R., & Kahn, D. (2004). Genetic regulation of biological nitrogen fixation. *Nature Reviews: Microbiology*. 2: 621-631.
- Drake, B.G., González-Meler, M.A., & Long, S.P. (1997). More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO₂? *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 48: 609-639.
- Dwivedi, S.L., Sahrawat, K.L., Upadhyaya, H., Mengoni, A., Galardini, M., Bazzicalupo, M., ... Ortiz, R. (2015). Advance in host plant and Rhizobium genomics to enhance symbiotic nitrogen fixation in grain legumes. *Advances in Agronomy*, 129: 1-116. doi:10.1016/bs.agron.2014.09.001
- Eitel, J.U.H., Keefe, R.F., Long, D.S., Davis, A.S., Vierling, & L.A. (2010). Active ground optical remote sensing for improved monitoring of seedling stress in nurseries. *Sensors*. 10: 2843-2850.
- Estefan, G., Sommer, R., & Ryan, J. (2013). *Methods of soil, plant and water analysis: A manual for the West Asia and North Africa Region*. Beirut, Lebanon: International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA).
- Estevez de Jensen, C., Kurlle, J., Percich, J.A., Graham, P.H., Yliniemi, W. R., & Hovde, T. (2003). Dry Bean Root Rot. Extension Bulletin BU-08027, University of Minnesota, St. Paul. 8 p.
- FAO. (2013). FAOSTAT: FAO Statistical Databases.
- FAO. (2016). FAOSTAT: FAO Statistical Databases.
- Fageria, N.K., Baligar, V.C., & Wright, R.J. (1989). Growth and nutrient concentrations of alfalfa and common bean as influenced by soil acidity. *Plant and Soil*. 119: 331-333.
- Fernández, F., Beaver, J.S., & Schroder, E. (1997). Nodulation and Seed Yield of Common Bean in Moderate and High Temperature Environments. *Annual Report of the Bean Improvement Coop*. 40: 55-56.
- Fernández-Luqueño, F., Espinosa Victoria, D., Munive, A., Chorlay Chee, L., & Serrano, L.M. (2008). Nodule senescence and biomass components in common bean cultivars. *Revista Fitotecnica Mexicana*. 31(3): 195-201.

- Fernández-Luqueño, F., Reyes-Varela, V., Martínez-Suárez, C., Salomón-Hernández, G., Yáñez-Meneses, J., Ceballos-Ramírez, J.M., & Dendooven, L. (2010). Effect of different nitrogen sources on plant characteristics and yield of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Bioresource Technology*. 101: 396-403.
- Franco, M.C., Cassini, S.T., Rodrigues, V., Vieira, C., Tsai, S.M., & Cruz, C.D. (2001). Combining ability for nodulation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes from Andean and Middle American gene pools. *Euphytica*. 118: 265-270.
- Fulton, A., County, G., County, C., & County, S. (2010). Primary Plant Nutrients: Nitrogen, Phosphorus, and Potassium. Retrieved from http://cetehama.ucanr.edu/newsletters/Soil_Testing_Articles-by_Allan_Fulton39345.pdf
- Furbank, R.T., & Tester, M. (2011). Phenomics – technologies to relieve the phenotyping bottleneck. *Trends in Plant Science*. 16(12): 635-644.
- Gamon, J.A., Field, C.B., Goulden, M.L., Griffin, K.L., Hartley, A.E., Joel, G., Peñuelas, J., & Valentini, R. (1995). Relationships between NDVI, canopy structure, and photosynthesis in three Californian vegetation types. *Ecological Applications*. 5(1): 28-41.
- Ghasemi, A., Reza, A., & Ali, S. (2006). Evaluation of seed yield and seed components of common bean Iranian cultivars for inoculation with four strains of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. *Journal of Agronomy*. 5(3): 382-386.
- George, T., Singleton, P.W., & van Kessel, C. (1993). The use of nitrogen-15 natural abundance and nitrogen yield of non-nodulating isolines to estimate nitrogen fixation by soybeans (*Glycine max* L.) across three elevations. *Biology and Fertility of Soils* 15: 81-86.
- Gepts, P., & Debouck, D. (1991). Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In O. Voyset, & A. Van Schoonhoven (Eds.), *Common beans: Research for crop improvement*. Wallingford, Oxon, UK: CAB International.
- Graham, P.H., & Vance, C.P. (2000). Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. *Field Crops Research*. 65: 93-106.
- Hardarson, G. (1993a). Methods for enhancing symbiotic nitrogen fixation. *Plant and Soil*. 152: 1-17.
- Hardarson, G., Bliss, F.A., Cigales-Rivero, M.R., Henson, R.A., Kipe-Nolt, J.A., Longeri, L.,... Tsai, S.M. (1993b). Genotypic variation in biological nitrogen fixation by common bean. *Plant and Soil* 152: 59-70.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M.M., Roychowdhury, R., & Fujita, M. (2013). Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences* 14: 9643-9684.
- Heinrich, A.L., Sullivan, D.M., & Peachey, E. (2016). Snap bean nutrient management guide. Oregon State University Extension Service. Retrieved from <https://catalog.extension.oregonstate.edu/sites/catalog/files/project/pdf/em9154.pdf>

- Houngnandan, P., Yemadje, R.G.H., Oikeh, S.O., Djidohokpin, C.F., Boeckx, P., & Van, O. (2008). Improved estimation of biological nitrogen fixation of soybean cultivars (*Glycine max* L. Merrill) using ^{15}N natural abundance technique. *Biology and Fertility of Soils*. 45: 175-183.
- Hussein, H. (1999). Rhizobium-Legume Symbiosis and Nitrogen Fixation Under Severe Conditions and in an Arid Climate. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 63(4): 391-399.
- Hungria, M., & Satcey, G. (1997). Molecular signals exchanged between host plants and rhizobia: Basic aspects and potential application in agriculture. *Soil Biology and Biochemistry*. 5/6 (29): 819-830.
- Jackson, R.B., Luo, Y., Cardon, Z.G., Sala, O.E., Field, C.B., & Mooney, H.A. (1995). Photosynthesis, growth and density for the dominant species in a CO_2 -enriched grassland. *Journal of Biogeography*. 22: 221-225.
- Kabahuma, M. (2013). Enhancing Biological Nitrogen Fixation in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L) (Master's Thesis). Iowa State University Digital Repository. (Paper 13162).
- Kapoor, M., & Roy, S.S. (2015). Heat-Shock Proteins and Molecular Chaperones: Role in Regulation of Cellular Proteostasis and Stress Management. In U. Chakraborty, & B. Chakraborty (Eds.), *Abiotic Stresses in Crop Plants* (pp. 1-22). Boston, MA: CABI.
- Khanna-Chopra, R., & Semwal, V.K. (2015). Heat Response, Senescence and Reproductive Development in Plants. In U. Chakraborty, & B. Chakraborty (Eds.), *Abiotic Stresses in Crop Plants* (pp. 23-42). Boston, MA: CABI
- Konsens, I., Ofir, M., & Kigel, J. (1991). The Effect of Temperature on the Production and Abscission of Flowers and Pods in Snap Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Annals of Botany* 67, 391-399.
- Kotsaki, E. (2016). Utilization of proximal sensing technology (Greenseeker™) to map variability in Ontario vineyards. (Master's Thesis). Brock University, St. Catharines, Ontario.
- Laguerre, G., Nour, S.M., Macheret, V., Sanjuan, J., Drouin, P., & Amarger, N. (2001). Classification of rhizobia based on *nodC* and *nifH* gene analysis reveals a close phylogenetic relationship among *Phaseolus vulgaris* symbionts. *Microbiology*. 147: 981-993.
- Leufen, G., Noga, G., & Hunsche, M. (2014). Proximal sensing of plant-pathogen interactions in spring barley with three fluorescence techniques. *Sensors*. 14: 11135-11152.
- Martínez-Romero, E., Segovia, L., Mercante, F.M., Franco, A.A., Graham, P., & Pardo, M.A. (1991). *Rhizobium tropici*, a novel species nodulating *Phaseolus vulgaris* L. beans and *Leucaena sp.* trees. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 41: 417-426.

- Martínez-Romero, E., Hernández-Lucas, I., Peña-Cabriales, J.J., & Castellanos, J.Z. (1998). Symbiotic Performance of Some Modified *Rhizobium etli* Strains in assays with *Phaseolus vulgaris* beans that have a high capacity to fix N₂. *Plant and Soil*. 204: 89–94.
- Martínez-Romero, E. (2003). Diversity of *Rhizobium-Phaseolus vulgaris* symbiosis: overview and perspectives. *Plant and Soil*. 252: 11-23.
- McClean, P.E., Burridge, J., Beebe, S., Rao, I.M., & Porch, T.G. (2011). Crop improvement in the era of climate change: an integrated, multi-disciplinary approach for common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Functional Plant Biology*. 38: 927-933.
- McFerson, J., Bliss, F.A., & Rosas, J.C. (1982). Selection for enhanced nitrogen fixation in common beans, *Phaseolus vulgaris*. In P.H. Graham & S.C. Harris (Eds.), BNF Technology for Tropical Agriculture (pp 39-44). Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Michiels, J., Verreth, C., & Vanderleyden, J. (1994). Effects of Temperature Stress on Bean-Nodulating *Rhizobium* Strains. *Applied and Environmental Microbiology*. 60(4): 1206-1212.
- Ming, Z., Kellomaki, S., Zhou, X., Peltola, H., Wang, K., & Martikainen, P.J. (2012). Seasonal physiological responses and biomass growth in a bioenergy crop (*Phalaris arundinacea* L.) under elevated temperature and CO₂, subjected to different water regimes in boreal conditions. *Bionenergy Resources*. 5: 637-648.
- Mulongoy, K. (1992). Technical Paper 2: Biological Nitrogen Fixation. Retrieved from: <http://www.fao.org/wairdocs/ILRI/x5546E/x5546e05.htm>
- Muñoz-Huerta, R., Guevara-González, R.G., Contreras-Medina, L.G., Torres-Pacheco, I., Prado-Olivares, J., & Ocampo-Velázquez, R.V. (2013). A review of methods for sensing the nitrogen status in plants: advantages, disadvantages and recent advances. *Sensors*. 13: 10823-10843.
- Naseri, B. 2008. Root rot of common bean in Zanjan, Iran: major pathogens and yield loss estimates. *Australasian Plant Pathology*. 37: 546-551.
- Naseri, B., & Mousivi, S.S. (2015). Root rot pathogens in field soil, roots and seeds in relation to common bean (*Phaseolus vulgaris*), disease and seed production. *International Journal of Pest Management* 61(1): 60-67.
- Nodari, R.O., Tsai, S.M., Guzmán, P., Gilbertson, R.L., & Gepts, P. (1993). Toward an integrated linkage map of common bean. III. Mapping genetic factors controlling host-bacteria interactions. *Genetics* 134: 341-350.
- Novotny, V., Wang, X., Andrew, J. E., Jr, Bedoya, D., Promakasikorn, L., & Tirado, R. (2010). Comparative assessment of pollution by the use of industrial agricultural fertilizers in

- four rapidly developing asian countries. *Environment, Development and Sustainability*. 12(4): 491-509.
- Nyemba, R.C., & Dakora, F.D. (2010). Evaluating N₂ fixation by food grain legumes in farmers' fields in three agro-ecological zones of Zambia, using ¹⁵N natural abundance. *Biology and Fertility of Soils*. 46: 461–470.
- Okumura, R.S., Takahashi, H.W., Costa dos Santos, D.G., da Silva Lobato, A.K., de Cinque Mariano, D., Marques, O.J., ...Alves, J. (2011). Influence of different nitrogen levels on growth and production parameters in maize plants. *Journal of Food, Agriculture & Environment*. 3(9): 510-514.
- Oliveira, J. P., Galli-terrasawa, L.V., Enke, C. G., Cordeiro, V. K., Tavares, L.C., & Hungria, M. (2011). Genetic diversity of rhizobia in a Brazilian oxisol nodulating mesoamerican and andean genotypes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 27(3): 643-650.
- Park, S.J., & Buttery, B.R. (1989). Identification and characterization of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lines well nodulated in the presence of high nitrate. *Plant and Soil*. 119: 237-244.
- Patel, N.R., Mehta, A.N., & Shekh, A.M. (2001). Canopy temperature and water stress quantification in rainfed pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). *Agricultural and Forest Meteorology*. 109: 223-232.
- Pearcy, R. W., Bjorkman, D., Harrison, A.T., & Mooney, H.A. (1971). Photosynthetic performance of two desert species with C₄ photosynthesis in Death Valley, California. Carnegie Institute, Washington, Yearbook (70): 540-550.
- Pennsylvania State University Extension Service (2017). Inoculation of Legumes for Maximum Nitrogen Fixation. Retrieved from: <http://extension.psu.edu/plants/crops/forages/successful-forage-establishment/inoculation-of-legumes-for-maximum-nitrogen-fixation>
- Peoples, M.B., J. Brockwell, D.F. Herridge, I.J. Rochester, B.J.R. Alves, S. Urquiaga, ...Jensen, E.S. (2009). The contributions of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems. *Symbiosis*. 48: 1-17.
- Perret, X., Staehelin, C., & Broughton, W.J. (2000). Molecular basis of symbiotic promiscuity. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 64 (1): 170-201.
- Pereira, P.A.A., Miranda, B.D., Attewell, J.R., Kmiecik, K.A., & Bliss, F.A. (1993). Selection for increased nodule number in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant and Soil*. 148: 203-209.
- Piha, M.I., & Munns, D.N. (1987). Sensitivity of the common bean (*Phaseolus vulagris* L.) symbiosis to high soil temperature. *Plant and Soil*. 98: 183-194.

- Pons, T.L., Perreijn, K., van Kessel, C., & Kerner, M.J.A. (2007). Symbiotic nitrogen fixation in a tropical rainforest: ¹⁵N natural abundance measurements supported by experimental isotopic enrichment. *New Phytologist*. 173: 154-167.
- Porch, T.G. (2006). Application of stress Indices for Heat Tolerance Screening of Common Bean. *Journal of Agronomy & Crop Science*. 192: 390-394.
- Porch, T.G. & Griffiths, P.D. (2012). Strategies to improve adaptation of common bean to high ambient temperature. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative*. 55: 9-10.
- Porch, T.G., Beaver, J.S., Debouck, D.G., Jackson, S.A., Kelly, J.D., & Dempewolf, H. (2013). Use of wild relatives and closely related species to adapt common bean to climate change. *Agronomy*. 3: 433-461.
- Prasad, P.V.V., Staggenborg, S.A., & Ristic, Z. (2001). Impacts of drought and/or heat stress on physiological, developmental, growth, and yield processes of crop plants. In L.R. Ahuja, V.R. Reddy, S.A. Saseendran, and Qiang Yu (Eds), *Response of crops to limited water: Understanding and modeling water stress effects on plant growth processes* (pp. 301-355). Madison, Wisconsin: ASA, CSSA, SSSA.
- Prasad, P.V.V., Boote, K.J., & Hartwell, L. (2006). Adverse high temperature effects on pollen viability, seed-set, seed yield and harvest index of grain-sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] are more severe at elevated carbon dioxide due to higher tissue temperatures. *Agricultural and Forest Meteorology*. 139: 237-251.
- Rainey, K.M., & Griffiths, P.D. (2005a). Differential response of common bean genotypes to high temperature. *Journal of American Society of Horticulture Science*. 130(1): 18-23.
- Rainey, K.M., & Griffiths, P.D. (2005b). Inheritance of heat tolerance during reproductive development in snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of American Society of Horticulture Science*. 130 (5); 700-706.
- Ramirez-Villegas, J., Salazar, M., Jarvis, A., & Navarro-Racines, C.E. (2012). A way forward on adaptation to climate change in Colombian agriculture: perspectives towards 2050. *Climatic Change*. 115: 611-628.
- Reeves, D.W. (1997). The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. *Soil & Tillage Research*. 43: 131-167.
- Redden, R.J., Diatloff, A., & Usher, T. (1990). Field screening accessions of *Phaseolus vulagris* for capacity to nodulate over a range of environments. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 30: 265-270.
- Reza, A., & Ghasemi, A. (2011). Genetic diversity assessment for improvement of nitrogen fixation ability and seed production in Iranian common bean genotypes (*Phaseolus*

- vulgaris* L.). Paper presented at 2011 International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics, Singapore.
- Rivero, R.M., Ruíz, J.M., García, P.C., López-Lefebvre, L.R., Sánchez, E., & Romero, L. (2001). Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Science*. 160: 315-321.
- Rogel, M.A., Ormeño-Orillo, E., & Martínez, E. (2010). Symbiovars in rhizobia reflect bacterial adaptation to legumes. *Systematic and Applied Microbiology*. 34; 96-104.
- Rondon, M.A., Lehmann, J., Ramírez, J., & Hurtado, M. (2006). Biological nitrogen fixation by common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) increases with bio-char additions. *Biology and Fertility of Soils*, 43: 699-708.
- Rosas, J.C., Castro, A., Beaver, J.S., Pérez, C.A., Morales, A., & Lepiz, R. (2000). Mejoramiento genético para tolerancia a altas temperaturas y resistencia a mosaico dorado en frijol común. *Agronomía Mesoamericana* 11(1): 01-10.
- Rosas, J.C., Beaver, J.S., Beebe, S., & Viana, A. (2004). Names of common bean varieties released in Central America and the Caribbean. *Annual Report on the Bean Improvement Coop*. 47: 329-330.
- Rhoton, F.E., Shipitalo, M.J., & Lindbho, D.L. (2002). Runoff and soil loss from Midwestern and southeastern US silt loam soils as affected by tillage practice and soil organic matter content. *Soil and Tillage Research*. 66: 1-11.
- Runge-Metzer, A. (1995). Closing the cycle: obstacles to efficient P management for improved global security. In H. Tiessen (Ed.), *Phosphorus in the global environment* (pp. 27-42). Chichester, UK: John Wiley and Sons Ltd.
- Samborski, S.M., Gozdowski, D., Walsh, O.S., Lamb, D.W., Stępień, M., Gacek, E.S., et al. (2015). Winter wheat genotype effect on canopy reflectance: Implications for using NDVI for in-season nitrogen topdressing recommendations. *Soil Fertility and Crop Nutrition*. 107: 2097-2106.
- SAS Institute. 1990. User's guide: Statistics.
- Schirrmann, M., & Garz, A. (2015). A mobile sensor for leaf area index estimation from canopy light transmittance in wheat crops. *Biosystems Engineering*. (43): 23-33.
- Shonnard, G.C., & Gepts, P. (1994). Genetics of heat tolerance during reproductive development in common bean. *Crop Science*. 34:1168-1175.
- Silva, F.B., Ramalho, M.A.P., & Abreu, A.F.B. (2007). Seleção recorrente fenotípica para florescimento precoce de feijoeiro 'Carioca'. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 42(10): 1437-1442.

- Six, J., Feller, C., Denef, K., Ogle, S.M., de Moraes, J.C., & Albrecht, A. (2002). Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils – Effects of no-tillage. *Agronomie*. 22: 755-775.
- Somasegaran P., & Hoben H. J. (1985) Methods in legume-*Rhizobium* technology. (NifTAL, MIRCEN, University of Hawaii Press, Maui).
- Suzuki, K., Tsukaguchi, T., Takeda, H., & Egawa, Y. (2001). Decrease of pollen stainability of green bean at high temperatures and relationship to heat tolerance. *Journal of American Society of Horticulture Science*. 126(5):571–574.
- Tang, C., Hinsinger, P., Drevon, J.J., & Jaillard, B. (2001). Phosphorus deficiency impairs early nodule functioning and enhances proton release in roots of *Medicago trunculata* L. *Annals of Botany*. 88: 131-138.
- Toro O., Tohme J., & Debouck D. G. (1990). Wild Bean (*Phaseolus vulgaris* L.): Description and Distribution. Retrieved from [https://books.google.com.co/books?id=uHdaJmba3CMC&pg=PP3&dq=Wild+bean+\(Phaseolus+vulgaris+L.\):+Description+and+distribution.&hl=es-419#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.co/books?id=uHdaJmba3CMC&pg=PP3&dq=Wild+bean+(Phaseolus+vulgaris+L.):+Description+and+distribution.&hl=es-419#v=onepage&q&f=false)
- Unkovich, M., D Herridge, M. Peoples, G. Cadish, B. Boddey, K. Giller, Alves, B., & Chalk, P. (2008). ¹⁵N-isotopic methods-general principles and ¹⁵N feeding. In: M. Unkovich, D. Herridge, M. Peoples, G. Cadish, B. Boddey, K. Giller, Alves, B., Chalk, P., *Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems*. (pp. 125-130). Australia: Australian Centre for International Agricultural Research.
- Van Schoonhoven, A., & Pastor-Corrales, M.A.. (1987). Standard system for the evaluation of bean germplasm. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Vance, C.P., Udhe-Stone, C., Allan, & D.L. (2003). Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist*. 157: 423-477.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., & Foolad, M.R. (2007). Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany*. 61: 199-223.
- Walsh, K.B. (1995). Physiology of the legume nodule and its response to stress. *Soil Biology and Biochemistry*. 27 (1-5): 637-655.
- Wallace, D.H., Gniffke, P.A., Masaya, P.N., & Zobel, R.W. (1991). Photoperiod, temperature, and genotype interaction effects on days and nodes required for flowering of bean. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 116(3): 534-543.
- Wang, D., Yang, S., Tang, F., & Zhu, H. (2012). Symbiosis specificity in the legume-rhizobial mutualism. *Cellular Microbiology*. 14 (3): 334-342.

- White J.W., & Kornegay, J. (1994). Response of common bean to photoperiod and temperature-a micro review. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative*. 37: 44-45.
- White, J.W., Andrade-Sanchez, P., Gore, M.A., Bronson, K.F., Coffelt, T.A., Conley, M.M., ...Wang, G. (2012). Field-based phenomics for plant genetics research. *Field Crop Research*. 133: 101-112.
- White, J.W., & Conley, M.M. (2013). A flexible, low-cost cart for proximal sensing. *Crop Science*. 53: 1646-1649.