

EFECTO DE DIFERENTES INOCULANTES SOBRE LA NODULACIÓN DE LA SOYA CULTIVADA EN CONDICIONES DE ESTRÉS

Effect of different inoculants on soybean nodulation grown in stress condition

María C. Nápoles García [✉], Gustavo González-Anta, Alberto Ferreira, Alejandro Rossi, Ionel Hernández Forte y Daimy Costales Menéndez

ABSTRACT. Soybean is a culture which naturally associates with *Bradyrhizobium* bacteria, through a symbiosis where the plant is a source of nutrients and energy for the bacteria and this provides nitrogen fixed from the atmosphere. Besides several molecular signals which govern the interaction between the plant and the bacteria, the soil conditions are very important on success or failure nodulation. In this work the effect of different *Bradyrhizobium japonicum* preparations on soybean nodulation (Pioneer 94M30 variety) in adverse conditions like low temperatures, low pH and water excess, was studied. It was observed that the employ of induced inoculants was positive on nodulation parameters evaluated in the stress conditions. The effect of different inoculants dose depends of the stress kind and intensity. These results, although preliminary, allow supposing a possible antistress effect of induced inoculants in such environmental conditions.

Key words: *Bradyrhizobium japonicum*, stress, nodulation

RESUMEN. La soya es un cultivo que se asocia naturalmente con bacterias del género *Bradyrhizobium*, a través de una simbiosis en la que la planta garantiza fuente de nutrientes y energía al microorganismo y este le aporta nitrógeno que fija de la atmósfera. Además de múltiples señales moleculares que rigen la interacción entre la planta y el microorganismo, las condiciones del suelo influyen sobre el éxito o el fracaso en la nodulación. En este trabajo se estudió el efecto de diferentes inoculantes a base de *Bradyrhizobium japonicum* sobre la nodulación de la soya, variedad Pioneer 94M30, ante condiciones adversas como bajas temperaturas, acidez y exceso de agua. Se observó que el empleo de inoculantes inducidos influyó positivamente sobre los parámetros de nodulación evaluados en las condiciones de estrés impuestas, así como que el efecto de diferentes dosis del inoculante depende del tipo de estrés y de su intensidad. Estos resultados, aunque preliminares, mostraron un posible efecto antiestrés de los inoculantes inducidos ante tales condiciones ambientales.

Palabras clave: *Bradyrhizobium japonicum*, estrés, nodulación

INTRODUCCIÓN

La soya (*Glycine max* L. Merr) es una leguminosa altamente valorada por su contenido de proteínas (38-45 %). Obtiene gran parte del nitrógeno que necesita para crecer e incrementar su materia seca de la simbiosis con las bacterias del género *Bradyrhizobium* y *Sinorhizobium*. De esta forma, el uso de inoculantes se ha convertido en una práctica común que desplaza al de fertilizantes como forma de incrementar la producción de este cultivo (1), lo que requiere productos de calidad que garanticen la sobrevivencia y el establecimiento de la bacteria en

el ambiente del suelo (2, 3). Si bien la simbiosis que se establece entre estas plantas y los rizobios, es el resultado de múltiples eventos y señales moleculares entre ambos simbiosistas (4, 5), otros factores, entre ellos las características físico-químicas del suelo, influyen en el éxito final.

La acidez es uno de los factores edafoclimáticos que más afecta los suelos en la actualidad, se estima que 1,5 millones de hectáreas en el mundo presentan este problema. Su incremento puede estar dado por las lluvias ácidas, la fertilización nitrogenada excesiva y por procesos naturales (6, 7). Se conoce que condiciones de acidez en el suelo afectan la fijación biológica del nitrógeno (FBN) porque limita la sobrevivencia de las bacterias y reduce la nodulación^A.

En suelos con pH inferior a 5, el aluminio es disuelto a formas iónicas, lo que provoca otro estrés por toxicidad que a su vez, causa inhibición en la elongación de la raíz y afecta el flujo de agua y nutrientes a través de este órgano (8, 9, 10).

Las condiciones de humedad del suelo también juegan un papel importante en la fijación simbiótica del nitrógeno (11). Excesos de agua, temporales o continuos, afectan el rendimiento de las leguminosas y su FBN. El estrés por exceso de agua inhibe la absorción de N y otros minerales, así como el crecimiento de las raíces y la nodulación en la soya (12).

La temperatura del suelo es otra variable que posee un efecto importante sobre la nodulación (13) y sobre la sobrevivencia de la soya (14), que siendo originaria de Asia subtropical intenta adaptarse constantemente a climas menos favorables. Esta especie requiere temperaturas de 25-30 °C para una actividad simbiótica óptima. Registros térmicos inferiores en el suelo restringen la nodulación y fijación de nitrógeno (15).

Teniendo en cuenta la influencia de factores ambientales sobre la simbiosis, el objetivo de este trabajo consistió en evaluar el efecto de diferentes inoculantes sobre la nodulación de la soya bajo condiciones de estrés originadas por acidez, exceso de agua y bajas temperaturas en el suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se empleó la variedad de soya Pioneer 94M30, que se trató con dos inoculantes, uno inducido (16) y el otro sin inducir (producto comercial de la empresa Rizobacter Argentina S.A). Ambos productos contienen la cepa *Bradyrhizobium japonicum* a una concentración final de 1×10^{10} UFC mL⁻¹ (unidades formadoras de colonias por mililitro de medio). Se emplearon dos

dosis del inoculante inducido: 2,74 mL kg⁻¹ de semilla y 1,82 mL kg⁻¹ de semilla y una sola para el inoculante no inducido: 2,74 mL kg⁻¹ de semilla. En todos los casos se utilizó como control un tratamiento sin inocular.

Para evaluar la acidez se utilizó suelo con pH ácido, proveniente de dos localidades de la provincia Buenos Aires, Argentina: Bolívar (pH 4,9) y Junín (pH 5,6). Para imponer el estrés por bajas temperaturas, las macetas conteniendo suelo se colocaron durante dos días antes de la siembra en dos cuartos climatizados, a 10 y 16 °C, respectivamente, para permitir el enfriamiento adecuado de todo el sustrato. Posteriormente, después de la siembra, la temperatura de ambos cuartos se fue incrementando semanalmente 2 °C hasta finalizar el ensayo a las cinco semanas, de modo que alcanzó registros de 20 y 26 °C, respectivamente.

Exceso de humedad: Para sembrar los tratamientos en condiciones de exceso de humedad, el suelo se regó hasta capacidad de campo. Al tercer día de la emergencia de las plántulas, todas las macetas se sometieron a condiciones de anegamiento. En un grupo se mantuvo el exceso de agua (como lámina constante de 3 mm por encima del suelo) durante 24 horas, luego se llevó a capacidad de campo. El otro grupo fue anegado de la forma descrita anteriormente, pero el anegamiento se repitió a los siete días, con igual magnitud y duración.

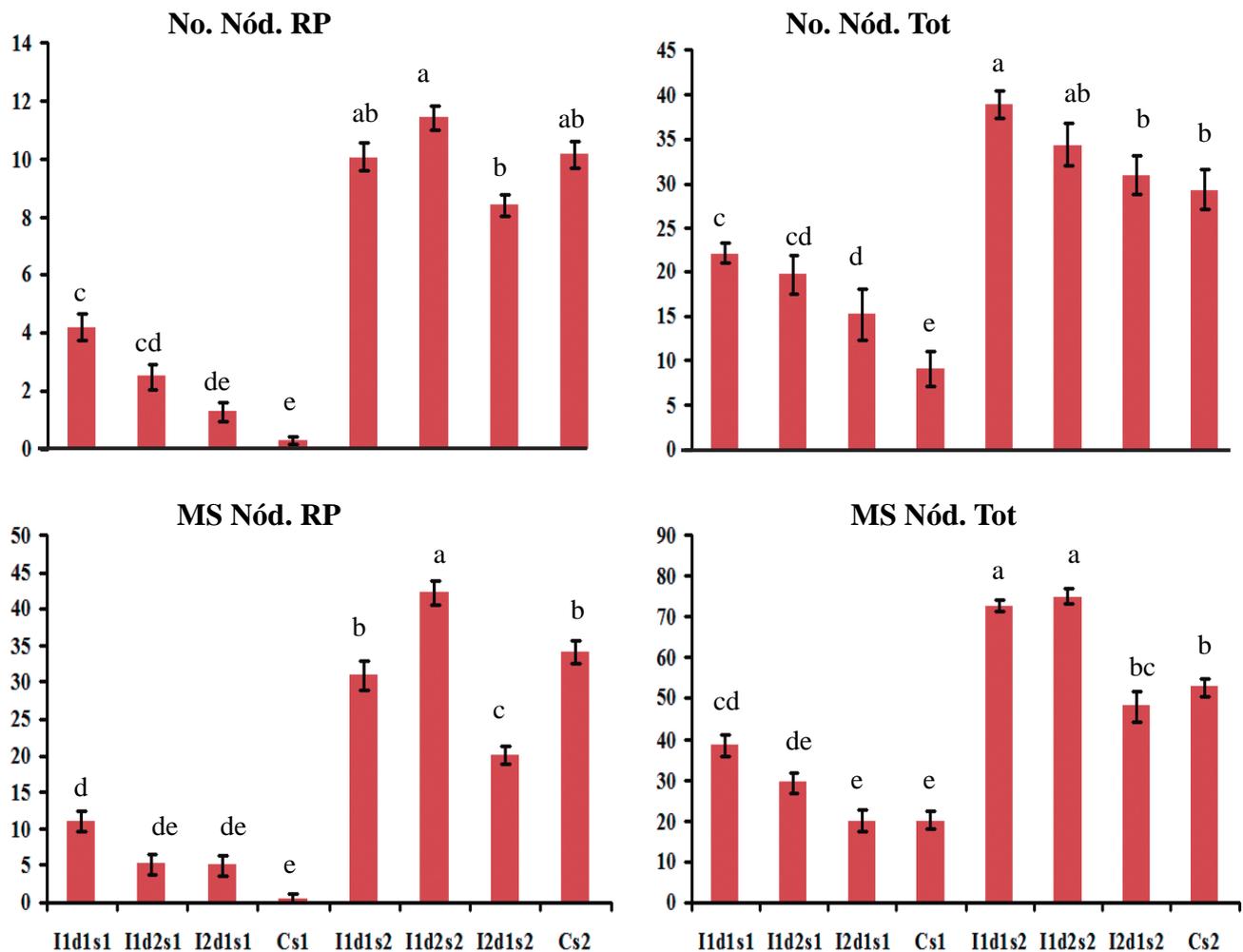
En todos los casos se emplearon suelos en los que nunca se había cultivado soya, libres de *Bradyrhizobium*. Se determinó el número de nódulos en raíz principal (No. Nód. RP), número de nódulos totales (No. Nód. Tot), y masa seca de ambos (MS Nód. RP y MS Nód. Tot), a los 35 días desde la siembra.

Todos los ensayos se repitieron dos veces y los resultados que se muestran corresponden a la media de ambas repeticiones. Los tratamientos se asignaron a las macetas siguiendo un diseño completamente aleatorizado y las determinaciones realizadas muestran los intervalos de confianza para $\alpha=0,05$. Los datos obtenidos fueron sometidos a la prueba de normalidad (test de Bartlett) y homogeneidad de varianzas (test de Kormogorov-Smirnov) y se aplicó análisis de varianzas de clasificación simple. Se utilizó el programa StatGraphic 5.1 para el procesamiento estadístico de los datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra los resultados de nodulación obtenidos para los diferentes inoculantes (I1 e I2) y sus dosis (d1 y d2) en los dos suelos ácidos empleados (S1 y S2).

Se observa que la condición de mayor acidez de suelo (correspondiente a la región de Bolívar: S1) influyó significativamente en menor producción de nódulos.



I1: inoculante inducido; I2: inoculante no inducido; C: control sin inóculo; d1: dosis mayor de inoculante; d2: dosis menor de inoculante; s1: suelo de Bolívar; s2: suelo de Junín; No. Nód. RP: número de nódulos en raíz principal; No. Nód. Tot: número de nódulos totales; MS Nód. RP: masa seca de nódulos en raíz principal; MS Nód. Tot: masa seca de nódulos totales
Las barras indican intervalos de confianza para $\alpha=0.05$ y $n=10$

Figura 1. Nodulación de la soya bajo condiciones de acidez en el suelo

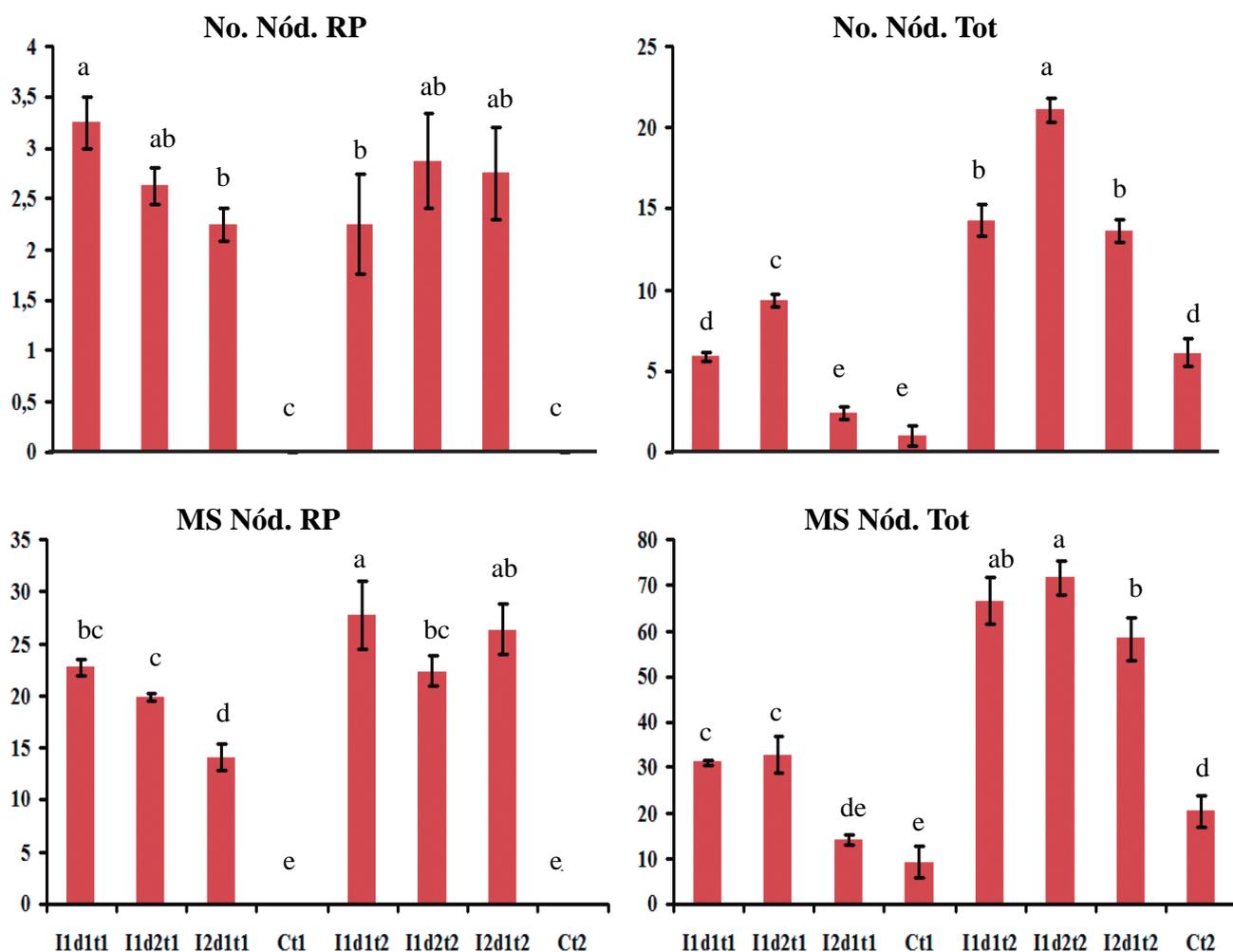
En ambos suelos, de forma general, se observa un mejor comportamiento del inoculante inducido con respecto al inóculo sin inducir.

Para diferentes dosis del inoculante inducido no se presentaron diferencias en general, ni tampoco para el suelo más ácido entre la menor dosis del inoculante inducido y la dosis del no inducido. Sin embargo, en el suelo menos ácido, se comportó mejor el inoculante inducido en su menor dosis.

El control sin inóculo no mostró diferencias con el inóculo sin inducir, excepto para el número de nódulos total en el suelo de Bolívar, que fue menor en el no inoculado y para la masa seca de nódulos en raíz principal en el suelo de Junín, variable que exhibió mayores valores para el control (Cs2). El inoculante inducido resultó significativamente superior al no inducido a pH más bajos del suelo, con registros mayores para las cuatro variables estudiadas.

Varios autores han descrito el efecto adverso de la acidez sobre la multiplicación de los rizobios en el suelo, que influye negativamente en la colonización de la rizosfera por estas bacterias y por lo tanto, en el proceso de infección y formación de los nódulos en las raíces de las leguminosas (5, 8, 17)^A. En este trabajo se aprecia, de igual forma, un efecto negativo de este estrés y la posibilidad de disminuir sus consecuencias cuando se usa un buen inoculante.

El comportamiento de la nodulación frente a la temperatura del suelo se presenta en la Figura 2. Las variables evaluadas acusaron valores superiores para registros térmicos iniciales de 16 °C, o sea cuando el estrés fue menor, excepto para el número de nódulos en raíz principal, donde no hubo diferencias apreciables entre ambas condiciones de este estrés.



I1: Inoculante inducido; I2 Inoculante no inducido; C: control sin inóculo; d1: dosis mayor; d2: dosis menor; t1: 10°C; t2: 16°C

No. Nód. RP: número de nódulos en raíz principal; No. Nód. Tot: número de nódulos totales; MS Nód. RP: masa seca de nódulos en raíz principal
MS Nód. Tot: masa seca de nódulos totales

Las barras indican intervalos de confianza para $\alpha=0,05$ y $n=10$

Figura 2. Nodulación de la soja bajo condiciones de bajas temperaturas

La inoculación superó en la mayoría de los casos al control sin inóculo, excepto a la menor temperatura para el número de nódulos totales, donde el inoculante no inducido no se diferenció del control.

En igualdad de dosis, el inoculante inducido se comportó mejor que el inoculante sin inducir para todas las variables a 10 °C. Sin embargo, a la temperatura de 16 °C no se presentaron diferencias entre estos inóculos para ninguna de las variables analizadas.

En el caso del inoculante inducido, no hubo diferencias entre ambas dosis del mismo para las variables número de nódulos en raíz principal ni su masa, así como tampoco para la masa de nódulos totales, a la menor temperatura ensayada. Sí las hubo para el número de nódulos totales, a favor de la menor dosis. Tampoco hubo diferencias a 16 °C entre ambas dosis del inoculante inducido para número de nódulos sobre raíz principal y para la masa de nódulos totales; sin embargo, la mayor dosis resultó más favorable para

masa seca de nódulos en raíz principal y la menor dosis para número de nódulos total.

No se presentó nodulación en raíz principal para el control, a ninguna de las temperaturas iniciales probadas y el número y masa seca de nódulos totales fue significativamente inferior a 16 °C, aunque sin diferencias con respecto al inóculo sin inducir para 10 °C.

Se aprecia un efecto negativo de las bajas temperaturas sobre los parámetros de la nodulación en general, resultando el inóculo inducido más ventajoso bajo condición de mayor estrés. Resultados similares para efecto sobre la nodulación y contenido de nitrógeno en diferentes leguminosas, fueron hayados por otros autores (18) al evaluar temperaturas entre 5 y 15 °C.

Ha sido planteado por diversos autores que las temperaturas inferiores a los 25 °C tienen efectos negativos sobre el desarrollo de la soja, retardando significativamente su crecimiento y evolución, así

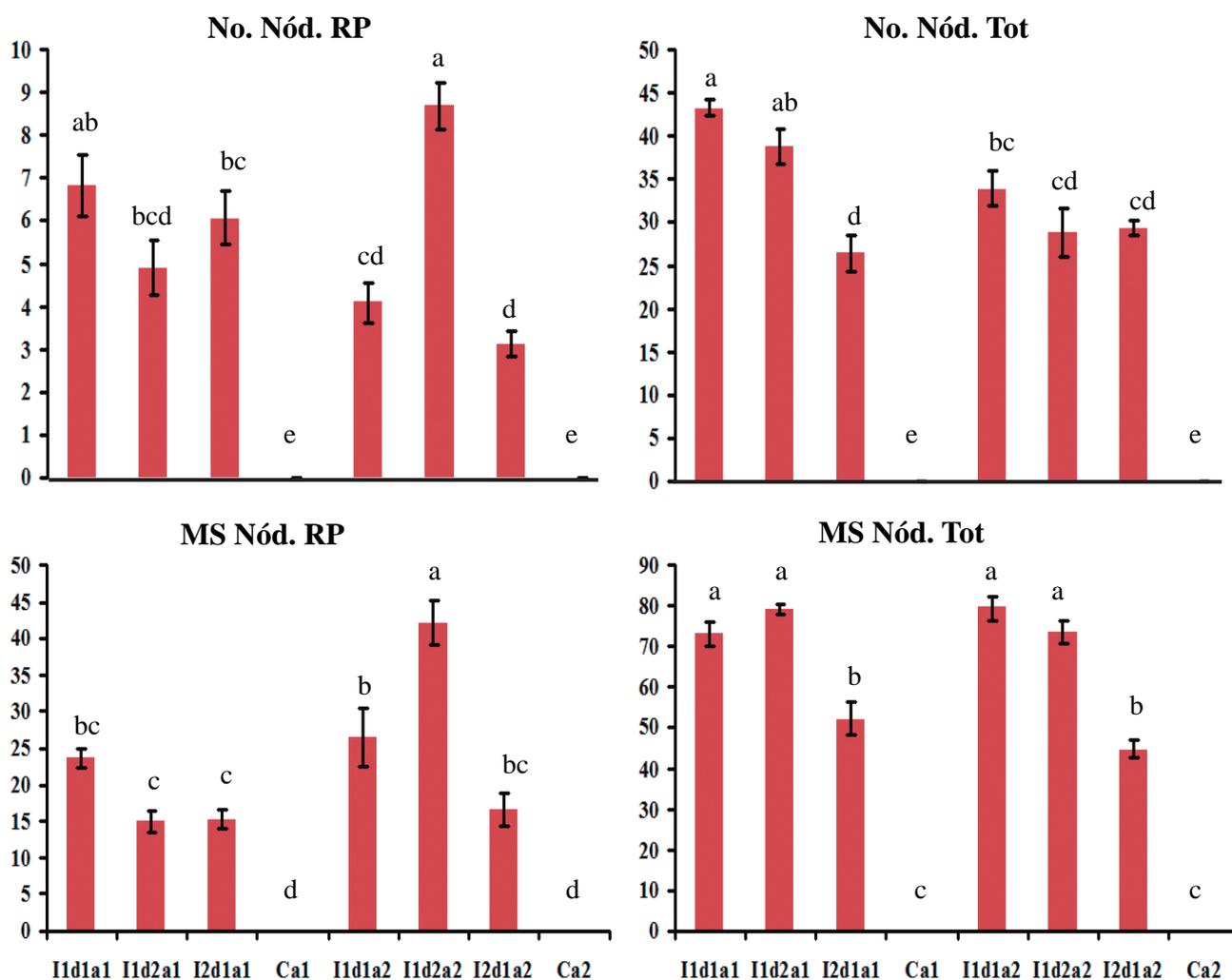
como sobre la nodulación (19, 20) y consiguientemente sobre los rendimientos del cultivo. Otros trabajos han encontrado que las bajas temperaturas disminuyen la excreción de señales químicas por parte de la planta, lo que conlleva un efecto sobre la simbiosis y la nodulación (21, 22).

Por cada grado de disminución en el rango de 25 a 17 °C, el desfasaje entre la inoculación y el inicio de la fijación de nitrógeno es de dos a tres días. A temperaturas del suelo por debajo de 17 °C, la fijación de nitrógeno se retrasa aproximadamente en una semana por cada grado de disminución en la temperatura (15).

El efecto del exceso de agua en una o dos ocasiones no marcó diferencias importantes en la nodulación de este cultivar como los estrés anteriores (Figura 3).

En igualdad de dosis, ambos inoculantes tuvieron un comportamiento similar para nódulos en raíz principal (número y masa seca), pero para nódulos totales el inoculante inducido superó al inóculo sin inducir. Dosis diferentes del inoculante inducido con un solo anegamiento indujeron igual nodulación en raíz principal. Cuando el tratamiento fue de dos anegamientos, el inoculante inducido en su menor dosis tuvo efecto más favorable que el inóculo sin inducir para los nódulos en raíz principal y en ambas dosis con respecto al no inducido para masa seca de nódulos totales.

Solo hubo diferencias entre ambas dosis del inoculante inducido para nódulos en raíz principal y al efectuar dos anegamientos, siendo la menor la más ventajosa. Todos los tratamientos superaron al control sin inóculo para todas las variables y condiciones del estrés evaluadas.



I1: inoculante inducido; I2: inoculante no inducido; C: control sin inóculo; d1: dosis mayor; d2: dosis menor; a1: suelo anegado una vez; a2: suelo anegado dos veces; No. Nód. RP: número de nódulos en raíz principal; No. Nód. Tot: número de nódulos totales; MS Nód. RP: masa seca de nódulos en raíz principal; MS Nód. Tot: masa seca de nódulos totales
Las barras indican intervalos de confianza para $\alpha=0,05$ y $n=10$

Figura 3. Nodulación de la soya bajo condiciones de exceso de agua

A partir de los resultados obtenidos bajo condiciones de exceso de agua, se deduce que el efecto del mismo es un estrés ligero. Sin embargo, dichas condiciones fueron impuestas durante las primeras etapas del cultivo. El efecto anegamiento deberá evaluarse en estadios posteriores del cultivo y en intervalos más prolongados. De todos modos, es conocido que la soya es sensible al anegamiento durante la implantación y las primeras etapas del cultivo (23) causando una rápida mortalidad de semillas en germinación y plántulas en crecimiento. Una disminución progresiva y significativa en los atributos del rendimiento fue encontrada en otras investigaciones (24), al evaluar diferentes excesos de agua sobre la soya como cultivo predecesor de trigo.

El efecto del estrés por exceso de agua es conocido como estrés por aireación (25). El daño que sufre la planta es atribuido a un suministro insuficiente de oxígeno. Esto se manifiesta en el amarillamiento y la caída de las hojas, se reduce la masa seca y el rendimiento.

A pesar de constituir estos resultados un punto de partida para analizar con mayor profundidad y en detalle el efecto de estas condiciones adversas sobre la simbiosis *Bradyrhizobium*-soya, los mismos indican un posible efecto antiestrés de los inoculantes inducidos. Resultados similares fueron encontrados por otros autores (26), pero ante el estrés producido por déficit hídrico. Profundizando en estos resultados otros autores encontraron un incremento significativo en los niveles de ureidos en hojas y en nódulos de plantas con estrés hídrico por defecto e inoculadas con inóculo sin inducir (27). Sin embargo, el empleo de inoculantes inducidos permitió contrarrestar este efecto, sugiriendo que estos podrían actuar indirectamente sobre el catabolismo de los ureidos.

La formación de los nódulos es un evento fuertemente afectado por condiciones adversas del suelo. Estudios anteriores han evidenciado que la introducción de genotipos y cepas con alta tolerancia a estos estreses puede mejorar la eficiencia simbiótica y la productividad de los cultivos (28, 29). Estos resultados muestran además, que una alternativa importante es el empleo de inoculantes inducidos en la síntesis y excreción de señales que determinan la simbiosis. Se conoce que el empleo de elementos inductores en la síntesis y excreción de señales que rigen los eventos de la nodulación, garantizan biopreparados de calidad que establecen una simbiosis eficiente (8, 30) y permiten disminuir los efectos adversos de determinados estreses (26, 27).

CONCLUSIONES

De las tres condiciones de estrés estudiadas, la acidez del suelo y las bajas temperaturas fueron las que tuvieron un efecto más pronunciado sobre la nodulación, según las condiciones impuestas en estos experimentos. Es posible que la forma en que se aplicó el estrés por anegamiento no haya sido suficientemente drástica como para observar un efecto significativo sobre las variables analizadas. Resulta importante utilizar inóculos de calidad, que puedan ayudar a disminuir los efectos negativos del estrés. En este sentido, el empleo de inoculantes inducidos permitió obtener los mejores resultados, siendo suficiente incluso dosis más bajas que en el inoculante tradicional.

REFERENCIAS

1. Adesemoye, A. y Kloepper, J. Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2009, vol. 85, pp. 1-12. ISSN 1432-0614.
2. Penna, C.; Massa, R.; Olivieri, F. /et al./ A simple method to evaluate the number of bradyrhizobia on soybean seeds and its implication on inoculant quality control. *AMB Express.*, 2011, vol. 1, pp. 21. ISSN 2191-0855.
3. Streeter, J. Factors affecting the survival of *Bradyrhizobium* applied in liquid cultures to soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] seeds. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, vol. 103, pp. 1282-1290. ISSN 1365-2672.
4. Fauvert, M. y Michiels, J. Rhizobial secreted proteins as determinants of host specificity in the rhizobium-legume symbiosis. *FEMS Microbiology Letters*, 2008, vol. 285, no. 1, pp. 1-9. ISSN 1574-6968.
5. Jones, K. M.; Kobayashi, H.; Davies, H. /et al./ How rhizobial symbionts invade plants: the *Sinorhizobium-Medicago* model. *Nat Rev Microbiol.*, 2007, vol. 5, pp. 619-633. ISSN 1740-1526.
6. Zheng, S. J. Crop production on acidic soils: overcoming aluminium toxicity and phosphorus deficiency. *Ann. Bot.*, 2010, vol. 106, no.1, pp. 183-184. ISSN 1095-8290.
7. Ward, P. L. Sulfur dioxide initiates global change in four ways. *Thin solid films*, 2009, vol. 517, pp. 3188-3203. ISSN 0040-6090.
8. Horst, W. J.; Wang, Y. y Eticha, D. The role of the root apoplast in aluminium-induced inhibition of root elongation and in aluminium resistance of plants: a review. *Annals of Botany*, 2010, vol. 106, pp. 185-197. ISSN 1095-8290.
9. Marín, T.; Gómez, C.; Trejo, L. /et al./ Respuestas fisiológicas y nutrimentales de variedades de arroz a la concentración de aluminio. *Rev. Fitotec. Mex.*, 2010, vol. 33, no. 1, pp. 37-44. ISSN 0187-7380.
10. Poschenrieder, C.; Gunsé, B.; Corrales, I. /et al./ A glance into aluminum toxicity and resistance in plants. *Sci. Total Environ.*, 2008, vol. 400, pp. 356-368.
11. Onuh, M. O. y Donald, K. M. Effects of water stress on the rooting, nodulation potentials and growth of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *Science World Journal*, 2009, vol. 4, no. 3, pp. 31-34. ISSN 1537-744X.

12. Bacanamwo, M. y Harper, J. E. The feedback mechanism of nitrate inhibition of nitrogenase activity in soybean may involve asparagine and/or products of its metabolism. *Physiologia Plantarum*, 1997, vol. 100, pp. 371-377. ISSN 0031-9317.
13. Lira, M. de A.; Lima, A. S.; Arruda, J. R. /et al./ Effect of root temperature on nodule development of bean, lentil and pea. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, vol. 37, no. 2, pp. 235-239. ISSN 0038-0717.
14. Horst, B. Cold Temperatures Delay Nodulation and Reduce Nitrogen Fixation. 2009. [on line]. [Consultado: 14 de marzo de 2012]. Disponible en: <<http://www.omafra.gov.on.ca/english/crops/field/news/croptalk/2009/ct-0909a1.htm>>.
15. Zhang, F. y Smith, D. L. Effects of low root zone temperature on the early stages of symbiosis establishment between soybean [*Glycine max.* (L) Merr.] and *Bradyrhizobium japonicum*. *J. Exp. Bot.*, 1994, vol. 279, pp. 1467-1473. ISSN 1460-2431.
16. Nápoles, M. C.; Gutiérrez, A. y Corbera, J. Patente Cubana 22 797. 2002.
17. Indrasumunar, A.; Dart, P. J. y Menzies, N. W. Symbiotic effectiveness of *Bradyrhizobium japonicum* in acid soils can be predicted from their sensitivity to acid soil stress factors in acidic agar media. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, vol. 43, no. 10, pp. 2046-2050. ISSN 0038-0717.
18. Mahdavi, B.; Seyed, A. M.; Modarres, S. /et al./ Nodulation and Root Traits in Four Grasspea (*Lathyrus sativus*) Ecotypes under Root-Zone Temperatures. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2007, vol. 10, pp. 1243-1249. ISSN 1028-8880.
19. Zhang, F.; Lynch, D. H. y Smith, D. L. Impact of low root zone temperatures in soybean (*Glycine max* L. Merr.) on nodulation and nitrogen fixation. *Environmental and experimental botany*, 1995, vol. 35, no. 3, pp. 279-285. ISSN 0098-8472.
20. Matthews, D. J. y Hayes, P. Effect of root zone temperature on early growth, nodulation and nitrogen fixation in soya beans. *Journal of Agriculture Science*, 1982, vol. 98, pp. 371-376. ISSN 1916-9760.
21. Zhang, J.; Zhang, X. y Liang, J. Exudation rate and hydraulic conductivity of maize roots are enhanced by soil drying and abscisic acid treatment. *New Phytologist*, 1995, vol. 131, pp. 329-336. ISSN 1469-8137.
22. Zhang, F. y Smith, D. L. Genistein accumulation in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) root systems under suboptimal root zone temperatures. *Journal of Experimental Botany*, 1996, vol. 47, pp. 785-792. ISSN 1460-2431.
23. Bacanamwo, M. y Purcell, L. C. Soybean dry matter and N accumulation responses to flooding stress, N sources and hypoxia. *Journal of Experimental Botany*, 1999, vol. 50, no. 334, pp. 689-696. ISSN 1460-2431.
24. Singh, K. D. y Singh, N. P. Legume effect of soybean on succeeding wheat crop as influenced by excess soil water duration at different growth stages. *Indian Journal of Agricultural Research*, 2005, vol. 39, no. 3, pp. 217-220. ISSN 0976-058X.
25. Richard, B.; Couee, I.; Raymond, P. /et al./ Plant metabolism under hypoxia and anoxia. *Plant Physiology and Biochemistry*, 1994, vol. 32, pp. 1-10. ISSN 0981-9428.
26. Nápoles, M. C.; Guevara, E.; Montero, F. /et al./ Role of *Bradyrhizobium japonicum* induced by genistein on soybean stressed by water deficit. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2009, vol. 7, no. 3, pp. 665-671. ISSN 2171-9292.
27. Freixas, J. A.; Torres, W.; Reynaldo, I. /et al./ Niveles de ureidos en plantas de soya con diferentes inoculantes y sometidas a déficit hídrico. *Cultivos Tropicales*, 2011, vol. 32, no. 2, pp. 35-43. ISSN 1819-4087.
28. Riveiro, M.; De Ron, A. M. y Drevon, J. Interaction of water stress and nodulation in bean landraces. *Actas de la Asociación Española de Leguminosas*, 2009, vol. 4, pp. 64-65.
29. Beebe, S. E.; Rao, I. M.; Cajiao, C. /et al./ Selection for drought resistance in common bean also improves yield in phosphorus limited and favorable environment. *Crop Sci.*, 2008, vol. 48, pp. 582-592. ISSN 1435-0653.
30. Nápoles, M. C., Gómez, G. y Costales, D. Reseña Factores de nodulación. Experiencia en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 2007, vol. 28, no. 4, pp. 71-80. ISSN 1819 4087.