

**Evaluación de líneas de frijol común
tolerantes a suelos con bajos contenidos de
nitrógeno y fósforo en Honduras**

**Belky Jhoder Cabana Atiquipa
Carlos Enrique Zevallos Parra**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2017

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Evaluación de líneas de frijol común tolerantes a suelos con bajos contenidos de nitrógeno y fósforo en Honduras

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

Presentado por

**Belky Jhoder Cabana Atiquipa
Carlos Enrique Zevallos Parra**

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2017

Evaluación de líneas de frijol común tolerantes a suelos con bajos contenidos de nitrógeno y fósforo en Honduras

Belky Jhoder Cabana Atiquipa
Carlos Enrique Zevallos Parra

Resumen. La fertilidad del suelo es un factor determinante para la obtención de un buen rendimiento en el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). El objetivo de este estudio fue validar genotipos de frijol adaptados a condiciones de suelos con bajo contenido de nitrógeno (N) y fósforo (P) para fines de mejoramiento genético y producción comercial. Los ensayos se condujeron en seis fincas de Santa Barbará y en un lote de bajo contenido de N y P en La Vega 4 de Zamorano. Se utilizaron seis líneas de frijol y dos testigos, uno mejorado Amadeus 77 y uno criollo Seda. Las líneas de frijol fueron sembradas utilizando un diseño de bloques completamente al azar (BCA) con tres repeticiones. Se evaluaron las variables de rendimiento (kg/ha), valor comercial, peso seco de cien semillas, días a floración y a madurez fisiológica, reacción al virus del mosaico dorado amarillo, valor agronómico y caracteres radiculares. Los datos se analizaron mediante análisis de varianza y separación de medias con diferencias mínimas significativas al $P \leq 0.05$. También se evaluó la distancia genética de las líneas con marcadores moleculares RAPD (Random amplified polymorphic DNA). Las líneas Campechano y SER 125 mostraron un rendimiento superior en suelos con bajos contenidos de N y P. Para los tratamientos sin fertilización, las líneas Campechano y SER 125 presentaron diferencias significativas. El análisis RAPD mostró diferencias genéticas entre las líneas evaluadas que podrán orientar futuras hibridaciones en mejoramiento y selección.

Palabras clave: Análisis con marcadores RAPD, dendrograma, distancia genética.

Abstract. Soil fertility is a determinant factor in obtaining a good yield in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). The objective of this study was to validate bean genotypes adapted to soil conditions with low nitrogen (N) and phosphorus (P) contents for genetic improvement and commercial production. The trials were conducted in six farms in Santa Barbara and in a plot of low content of N and P in the Vega 4 of Zamorano. Six lines of beans and two controls were used, one improved Amadeus 77 and one Creole Silk. The bean lines were planted using a randomized complete block (RCBD) with three replicates. The variables of yield, commercial value, dry weight of one hundred seeds, days at flowering and physiological maturity, reaction to yellow gold mosaic virus, agronomic value and root traits were evaluated. The data were analyzed by means of analysis of variance and means separation with minimum differences significant at $P \leq 0.05$. The genetic distance of lines with RAPD (Random amplified polymorphic DNA) molecular markers was also evaluated. The lines Campechano and SER 125 showed superior yield in soils with low N and P contents. For the treatments without fertilization, the lines Campechano and SER 125 showed significant differences. The RAPD analysis showed genetic differences between the evaluated lines that will be able to guide future hybridizations in breeding and selection.

Key words: Analysis with RAPD markers, dendrogram, genetic distance.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros y Figuras	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. METODOLOGÍA	2
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
4. CONCLUSIONES	19
5. RECOMENDACIONES	20
6. LITERATURA CITADA.....	21

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadros	Página
1. Ubicación geográfica de las parcelas de los pequeños agricultores donde se evaluaron las líneas de frijol en Santa Bárbara, Honduras, 2016-2017.....	2
2. Líneas avanzadas y testigos de frijol común evaluados en fincas de agricultores en Santa Bárbara y Zamorano, Honduras, 2016-2017.	3
3. Cebadores (primers) utilizados para el análisis RAPD (Random amplified polymorphic DNA) de ocho líneas de frijol en Zamorano, Honduras, 2017.	5
4. Reactivos utilizados para preparar la mezcla maestra de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) para cantidades de 1 y 9 μ L.	5
5. Perfil térmico para amplificación aleatoria de ADN polimórfico por la técnica de RAPD (Random amplified polymorphic DNA).....	6
6. Resultado de los análisis de suelos de las localidades de Santa Bárbara y La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, 2016 a 2017.....	8
7. Efecto del genotipo en el rendimiento (kg/ha) de las seis líneas de frijol evaluadas en fincas de agricultores ubicadas en el Departamento de Santa Bárbara y en La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, 2016-2017.....	10
8. Efecto del genotipo en el valor comercial (1-9) de las seis líneas de frijol evaluadas en fincas de agricultores ubicadas en el Departamento de Santa Bárbara y La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, 2016-2017.....	11
9. Efecto del genotipo en el peso seco de cien semillas, días a floración, días a madurez fisiológica, severidad del virus del mosaico dorado amarillo y valor agronómico de las seis líneas de frijol evaluadas sin fertilización en La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, 2016-2017.....	13
10. Efecto del genotipo en el rendimiento (kg/ha), media geométrica (MG), peso seco del follaje (PSF) y número de coronas (NC) de las seis líneas evaluadas con (+F) y sin fertilización (-F) en La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, 2016-2017.	15
11. Efecto del genotipo en el número de raíces basales (RB), raíces adventicias (RA), ángulo de raíces (AR) y diámetro de la raíz principal (DRP) en las seis líneas de frijol evaluadas con (+F) y sin fertilización (-F) en La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, 2016-2017. ..	16

Figuras	Página
1. Distribución del rendimiento de ocho líneas de frijol bajo condiciones de suelo con fertilización (+F) y sin fertilización (-F) en La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras.	9
2. Visualización de bandas polimórficas de ADN usando el marcador RAPD OPAC-15, Zamorano, Honduras, 2017.	17
3. Dendrograma de distancias genéticas (índice de similaridad de Dice) para las seis líneas y dos testigos evaluados usando 12 marcadores RAPD, Programa de Investigaciones en frijol (PIF), Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, 2017.....	18

1. INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es uno de los granos básicos de leguminosas con mayor relevancia para la alimentación humana por su alto contenido proteico, valor nutricional y minerales (Polanía et al. 2012). Constituye gran parte de la dieta de América Latina, África Oriental y Meridional, principalmente en las zonas rurales y urbanas con ingresos limitados (USAID 2013).

Más del 70% de la producción hondureña de frijol es generada por pequeños agricultores en fincas de hasta 3 ha (Rosas et al. 2000) bajo condiciones marginales, recursos limitados y condiciones ambientales poco favorables por lo que los rendimientos son usualmente inferiores al potencial de las variedades (Odile et al. 2009). Los suelos son en su mayoría deficientes en nitrógeno (N), fósforo (P) y otros nutrientes. Por razones socioeconómicas el acceso a fertilizantes y el uso de prácticas de manejo y conservación de suelos son escasamente implementados a pesar del conocimiento de los agricultores de su beneficio potencial. Bajo estas condiciones limitantes, se recomienda el uso de variedades tolerantes a la baja fertilidad y de mejor respuesta a insumos limitados desarrollados mediante métodos adecuados de mejoramiento genético (Rosas 2011).

Adicionalmente en la actualidad los avances tecnológicos permiten el uso de marcadores moleculares de amplificación aleatoria de ADN polimórfico, RAPD (random amplified polymorphic DNA) como herramienta que proporciona un análisis eficiente para identificar polimorfismos que pueden ser utilizados para construir mapas genéticos en una especie (Williams et al. 1990). La caracterización molecular es fundamental para conocer la diversidad genética y su aprovechamiento comercial para la obtención de un grano superior (Jacinto et al. 2014). En el presente estudio se utilizaron marcadores RAPD para determinar las diferencias genéticas entre líneas de frijol evaluadas en fincas de agricultores en el Departamento de Santa Bárbara en condiciones de baja fertilidad.

Los objetivos de los estudios fueron:

- Identificar genotipos con mayor potencial de rendimiento y adaptación agronómica a condiciones de suelo con bajo contenido de nitrógeno y fósforo en fincas de agricultores.
- Determinar las distancias genéticas entre las líneas evaluadas con fines de fitomejoramiento.

2. METODOLOGIA

Ubicación del estudio. Los ensayos de campo y evaluación del rendimiento se llevaron a cabo en seis fincas de pequeños productores de frijol del Departamento de Santa Bárbara (Cuadro 1) ubicadas a 155 km al noroeste de Tegucigalpa, Honduras y en La Vega 4 de Monte Redondo, de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras. Ubicada aproximadamente a 800 msnm con una temperatura promedio de 16.3 °C a 29.6 °C.

Cuadro 1. Ubicación geográfica de las parcelas de los pequeños agricultores donde se evaluaron las líneas de frijol en Santa Bárbara, Honduras, 2016-2017.

Localidad	Municipio	Coordenadas	Altura (msnm)
El Barro	Concepción del Sur	14°49'02.3"N 88°09'27.8"W	743
El Paraíso	Concepción del Sur	14°48'23.4"N 88°10'06.2"W	766
La Esperanza	Concepción del Sur	14°49'00.7"N 88°09'28.0"W	723
La Isla	San Pedro Zacapa	14°47'42.8"N 88°00'18.3"W	643
La Seca	San Pedro Zacapa	14°47'44.1"N 88°00'51.0"W	645
La Zona	Concepción del Sur	14°49'23.7"N 88°08'25.5"W	654

Evaluación de líneas de frijol común bajo condiciones de campo.

Los ensayos se condujeron durante los meses de diciembre del 2016 a abril del 2017 (Cuadro 2). Para cada una de las localidades incluyendo el lote de La Vega 4 de Monte Redondo Zamorano, se realizaron análisis de suelos para determinar la disponibilidad de nutrientes. Las ocho líneas de frijol utilizadas durante la evaluación provienen de ensayos BASE compuestos por 120 líneas evaluadas durante el 2014-2015, y del Ensayo Regional de Líneas de Frijol Tolerantes a la Baja Fertilidad (ERBAF) evaluados en Centro América entre el 2015 y 2016.

Cuadro 2. Líneas avanzadas y testigos de frijol común evaluados en fincas de agricultores en Santa Bárbara y Zamorano, Honduras, 2016-2017.

Línea	Pedigrí	Procedencia
Líneas promisorias		
ALS 0532-6	Cardenal// F1 (ALS 9951-62/MR13697-2-5)	ERBAF ⁰
SJC 730-79	Negro Vaina Blanca/BCN20-02-94	ERBAF ⁰
FBN 1211-66	RS951-84/IBC306-62	ERBAF ⁰
FBN 1202-43	SRS2-34-90/BRT944-13	ERBAF ⁰
SER 125	Línea del CIAT	ERBAF ⁰
Campechano	/S/B122/PRF9653-16B-1/F1//S/B125/MC-16P-MQ	ERBAF ⁰
Testigos		
Amadeus 77	Testigo mejorado	PIF ^δ
Seda	Testigo criollo	PIF ^δ

⁰ERBAF = Ensayo Regional de Líneas de Frijol Tolerantes a la Baja Fertilidad

^δPIF = Programa de Investigación en Frijol

Caracterización molecular.

Pregerminación de semillas. Las semillas de las ocho líneas de frijol fueron desinfectadas sumergiéndolas durante 30 s en etanol al 70%, y luego trasferidas a una solución de cloro al 5% por 5 min y posteriormente lavadas con agua destilada. Las semillas fueron colocadas en papel Kraft® para su pregerminación, los papeles fueron enrollados y amarrados con alambre Twistems® y colocados en un vaso de precipitación con 500 mL de agua destilada, cubriéndolas con bolsas de papel aluminio para estandarizar su pregerminación. Dos días después se sembraron los genotipos, en maceteros de 8 pulgadas de diámetro y se colocaron cuatro plantas por macetero. Doce días después de la siembra (DDS) se tutoraron las plantas con una vara de bambú y Twistems® (Fuente: Laboratorio de Investigación en Frijol).

Extracción de ADN. A los 15 DDS se recolectó el tejido de los brotes más tiernos para hacer la extracción del ácido desoxirribonucleico (ADN) siguiendo el protocolo de la Universidad de Wisconsin y adaptado al laboratorio del Programa de Investigaciones en Frijol (PIF). Las muestras se recolectaron en tubos Eppendorf de 1.5 mL. Se añadió 50 µL de buffer PEX (etil xantogenato de potasio) y se maceró el tejido usando barras de plexiglass. Luego se adicionó 450 µL de buffer PEX y se agitó en un vórtex (Vortex-Genie 2). Las muestras fueron colocadas en baño María a 65 °C por 60 min. Posteriormente, las muestras se centrifugaron por 10 min a 14,000 rpm para que los residuos del tejido se precipiten. Se transfirió el sobrenadante a tubos Eppendorf de 1.5 mL agregando una mezcla de 6:1 de etanol:acetato de amonio 7.5 M por 30 min a temperatura ambiente. Para romper el precipitado se agitó manualmente los tubos y se centrifugaron las muestras a 3,000 rpm durante 10 min para la precipitación de los ácidos nucleicos. Se eliminó el sobrenadante y se agregó 300 µL de ARNasa (100 µg/mL) y buffer TE (Tris-ácido etil-endiamino-tetraacético, EDTA) 0.1X antes de colocar las muestras en el baño María (37 °C por 1 hora) para eliminar el ARN. Las muestras se centrifugaron nuevamente a 14,000 rpm por 3 min con el objetivo de precipitar residuos remanentes y obtener muestras más limpias. Se transfirió el sobrenadante a tubos Eppendorf nuevos y al precipitado de ADN se le agregó

una mezcla de 10:1 de etanol:acetato de sodio 3M. Se invirtieron los tubos para mezclar a temperatura ambiente por 30 min. Para precipitar el ADN se centrifugó las muestras a 3,000 rpm por 5 min.

Se eliminó el sobrenadante y se procedió a lavar los pellets llenando los tubos con 70% etanol. Se centrifugaron los pellets por 15 s a 14,000 rpm y los tubos se invirtieron para el secado de los pellets (3 horas a temperatura ambiente). La rehidratación de los pellets se realizó con 100 µL de buffer TE 0.1X y se almacenaron las muestras a -20 °C (Fuente: Laboratorio de Investigación en Frijol)

Cuantificación de ADN. La cuantificación del ADN (ng/mL) de las ocho líneas, se realizó por fluorometría usando el equipo Quantus®. Se mezcló el ADN (1µL), el buffer TE 1X (99 µL) y la solución de trabajo (100 µL) en tubos termo sensibles de 0.5 mL. Para la calibración del equipo se usaron dos muestras, una en blanco y el ADN estándar. Para la preparación de la muestra estándar se mezcló 2 µL de ADN Lambda, 98 µL de buffer TE 1X y 100 µL de solución de trabajo. Para la muestra blanco se realizó una mezcla del buffer TE 1X (100 µL) y la solución de trabajo (100 µL) (Fuente: Laboratorio de Investigación en Frijol).

Dilución de ADN. Las concentraciones de ADN oscilaron en un rango de 92 a 95 ng/µL. Para la dilución se agregó el buffer TE para obtener una concentración final de 10 ng/µL. El objetivo de la dilución es uniformizar las muestras para que tengan las mismas probabilidades de ser amplificadas. Se usa la siguiente ecuación [1] para determinar los volúmenes a utilizar (Fuente: Laboratorio de Investigación en Frijol).

$$V_i = [(C_f \times V_f) / C_i] - V_f \quad [1]$$

V_i : volumen inicial de buffer de dilución TE 0.1X (µL)

V_f : volumen final (100 µL)

C_i : concentración inicial (ng/mL)

C_f : concentración final (ng/mL).

Amplificación de ADN. Con el uso de un termociclador Techne Unit® TC-512 se realizó la amplificación del ADN, se usaron 12 cebadores de 10 pares de bases (pb) (Cuadro 3) y un perfil térmico estandarizado (Cuadro 5) para determinar las diferencias genéticas entre las ocho líneas de frijol (Fuente: Laboratorio de Investigación en Frijol).

Cuadro 3. Cebadores (primers) utilizados para el análisis RAPD (Random amplified polymorphic DNA) de ocho líneas de frijol en Zamorano, Honduras, 2017.

Primers	Tamaño (pb)	Secuenciación de avance (ADN - 5' a 3')	Peso molecular ($\mu\text{g}/\mu\text{mol}$)
OPD-08	10	GTGTGCCCCA	3,005
OPY-06	10	AAGGCTCACC	2,998
OPC-04	10	CCGCATCTAC	2,949
OPH-08	10	GAAACACCCC	2,967
OPQ-09	10	GGCTAACCGA	3,038
OPH-20	10	GGGAGACATC	3,078
OPH-04	10	GGAAGTGCCC	3,054
OPI-16	10	TCTCCGCCCT	2,916
OPAC-15	10	TGCCGTGAGA	3,069
OPQ-13	10	GTCAGAGTCC	3,029
OPU-19	10	GTCAGTGCGG	3,085
OPG-06	10	GTGCCTAACC	2,989

Se realizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que es una técnica molecular para la detección de fragmentos específicos de ADN. Se realizó la preparación de la mezcla maestra (Cuadro 4) siguiendo el protocolo optimizado del laboratorio del PIF (Cuadro 5).

Cuadro 4. Reactivos utilizados para preparar la mezcla maestra de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) para cantidades de 1 y 9 μL .

Reactivos	1X (μL)	9X (μL)
dd H ₂ O	3.4	30.6
PCR Buffer	1.5	13.5
dNTP's sin Mg Cl ₂	1.5	13.5
Primer (F)	0.6	5.4
Enzima Taq	0.5	4.5
Muestra de ADN	7.5	67.5
Total	15	135

La mezcla maestra fue homogenizada con un vórtex (Vortex-Genie 2®) y servida en las 8 celdas de los platos de PCR (ABgenes PCR® plates) colocando un total de 7.5 μL por celda. A continuación se agregó 7.5 μL de la muestra de ADN diluida para completar un total de 15 μL /muestra. En cada celda se añadió una gota de aceite con una pipeta Pasteur para evitar evaporación y se selló con papel de aluminio (AlumaSeal 96™). Finalizada la preparación de la PCR, se procedió a la amplificación del ADN en el termociclador con el perfil térmico optimizado previamente por el laboratorio del PIF (Cuadro 5).

Cuadro 5. Perfil térmico para amplificación aleatoria de ADN polimórfico por la técnica de RAPD (Random amplified polymorphic DNA).

Fases	Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Ciclos
Desnaturalización inicial	95	60	35
Desnaturalización	94	45	
Acoplamiento	35	30	
Extensión	72	75	
Extensión final	72	300	1
Mantenimiento	15	∞	

Visualización de ADN. El producto de la PCR se visualizó en un transluminador de rayos UV (Benchtop 2UV™ transluminator®) y se tomaron fotografías con una cámara convencional incorporada al transluminador (Fuente: Laboratorio de Investigación en Frijol)

Variables medidas.

Etapas de floración (R6). Con una tijera de poda, se cortaron al ras del suelo cinco plantas de frijol. El follaje se introdujo en bolsas de papel para posteriormente ser picados y secados en un horno a 70°C durante 48 horas para determinar el peso seco de follaje. Con el uso de palas las raíces fueron extraídas y lavadas con agua y detergente. Posteriormente fueron trasladadas en bolsas plásticas al laboratorio donde fueron preservadas en frascos de cristal transparente de la marca Mason® con una solución de etanol al 30% para su posterior evaluación visual. Se evaluaron las variables días a floración, número de coronas, número de raíces basales, número de raíces adventicias, diámetro de la raíz principal a 3 cm por debajo del tallo y el ángulo de raíces usando la escala visual del 1-9, en donde 1=0-10° y 9= 76-90° (Anexo 3).

Etapas de madurez fisiológica (R9). Se evaluó visualmente el valor agronómico (1=excelente; 9= muy pobre), severidad de daño causado por el VMDAF (1= síntomas ausentes; 9= 100% daño) y días a madurez fisiológica.

Etapas de madurez de cosecha. Se cosecharon 10 plantas para calcular el rendimiento (kg/ha) ajustado al 14% de humedad, el valor comercial de la semilla usando la escala visual de 1-9 y el peso seco de cien semillas (PSCS).

Tratamientos. El estudio incluye seis líneas promisorias de frijol tolerantes a la baja fertilidad y dos testigos que incluye Amadeus 77 como testigo mejorado y Seda como variedad criolla.

Amadeus 77 es una de las variedades resistentes al virus del mosaico dorado amarillo del frijol (VMDAF), que posee el QTL y los genes *bgm-1* and *Bgp-1* de resistencia. También posee el gen dominante *I* de resistencia al virus del mosaico común del frijol (VMCF). Esta variedad fue desarrollada como tolerante al calor para la siembra en zonas costeras de América Central. Es de hábito arbustivo indeterminado tipo II y de madurez temprana de 68 a 70 días después de siembra (DDS). Posee una semilla de color rojo claro brillante, de forma ovoide alargada y un peso individual de 0.25 g (Rosas et al. 2004).

Seda es una variedad criolla con alto valor comercial por su color y propiedades organolépticas que son preferidas por el productor y consumidor regional. Continúa siendo cultivada a pesar de su susceptibilidad a factores bióticos y abióticos.

Diseño experimental. Se usó un diseño experimental de bloques completamente al azar (BCA) con tres repeticiones por localidad, la unidad experimental fueron surcos de 5 m de largo, con un distanciamiento de 0.7 m entre surcos y 0.1 m de distancia entre plantas para un total de 50 plantas por hilera. Se condujeron ensayos individuales en seis localidades del Departamento de Santa Bárbara, donde se evaluó rendimiento (kg/ha) y valor comercial. Otro ensayo se condujo en La Vega 4 de Monte Redondo en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, donde las líneas de frijol recibieron tratamientos con fertilización (F+) [130 kg/ha de 18-46-0 a la siembra y 60 kg/ha de urea al aporque] y sin fertilización (F-).

Análisis estadístico. En cada localidad se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y separación de medias ($P \leq 0.05$) mediante el método de diferencia mínima significativa (DMS) utilizando el paquete estadístico Statistix 8.1®.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los análisis de suelo de las fincas de Santa Bárbara y La Vega 4 de Monte Redondo en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano indican variaciones del pH en el rango de 4.17 a 6.09 (Cuadro 6). La materia orgánica (MO) presentó valores menores al 1% considerados muy bajos y mayores al 4% considerados altos. El contenido de N total varió desde 0.1% considerado bajo hasta 0.7% considerado alto. El contenido de P presentó valores menores a 13 mg/kg considerados bajos y superiores a 40 mg/kg considerados altos. También se presentó una variación que fluctuó entre cantidades bajas a altas para el contenido de K⁺, Ca⁺² y Mg⁺².

Cuadro 6. Resultado de los análisis de suelos de las localidades de Santa Bárbara y La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, 2016 a 2017.

Localidades	pH	MO (%)	N total	Textura	P	K ⁺	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Na ⁺
					mg/kg	% saturación			
Santa Bárbara									
El Barro	5.68	2.5	0.13	Franco arenoso	40	9	67	24	0
El Paraíso	5.09	3.9	0.19	Franco arcilloso	6	5	70	18	0
La Esperanza	4.71	5.8	0.29	Franco	1	4	65	18	0
La Isla	5.02	17.3	0.87	Arcillo arenoso	54	1	94	4	0
La Seca	4.17	15.0	0.75	Franco arcilloso	13	3	62	10	0
La Zona	6.09	4.6	0.23	Arcilloso	55	2	86	11	1
Zamorano									
Vega 4 (+F)	5.81	0.8	0.04	Franco arcilloso	25	9	75	15	0
Vega 4 (-F)	6	0.9	0.04	Franco arcilloso	13	8	77	14	0
Rango óptimo		2-4	0.2-0.5		13-30	3-5	50-75	15-20	<15

+F = Con fertilización

-F = Sin fertilización

(Fuente: Laboratorio de suelos de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano).

VARIABLES MEDIDAS EN LAS SEIS LOCALIDADES DE SANTA BÁRBARA Y LA VEGA 4 DE MONTE REDONDO EN LA ESCUELA AGRÍCOLA PANAMERICANA ZAMORANO, HONDURAS.

Rendimiento (kg/ha). Para esta variable el promedio general presentó diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$), siendo las líneas Campechano y SER 125 las que presentaron un rendimiento superior con 989 y 882 kg/ha respectivamente, superando al testigo mejorado Amadeus 77 que presentó un rendimiento de 857 kg/ha.

La Isla es la única localidad que presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$) al comparar todos los promedios de las líneas evaluadas. En el Barro se obtuvo el mejor promedio (1,199 kg/ha), en comparación a las demás localidades e incluso superó el promedio de los ensayos realizados en Zamorano. En los ensayos de Zamorano las líneas con fertilización duplicaron el rendimiento promedio en comparación con las líneas sin fertilización. Las líneas Campechano, SER 125 y FBN 1211-66 presentaron rendimientos superiores con 1,103; 1,117 y 950 kg/ha respectivamente (Figura 1); (Cuadro 7).

La distribución de rendimiento de las ocho líneas evaluadas en La Vega 4 de Monte Redondo en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano con fertilización y sin fertilización indica que, fertilizar es mejor que no hacerlo, ya que sube los rendimientos en una proporción representada por la ecuación [2].

$$Y = 0.523X - 47.13 \quad [2]$$

Y = Rendimiento sin fertilización
X = Rendimiento con fertilización

Valor comercial. Para esta variable todas las líneas presentaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$). De las líneas con mayor rendimiento FBN 1211-66 fue la que obtuvo un mejor valor comercial (2.5). Mientras que Campechano obtuvo un valor comercial de 3.8 (Cuadro 8).

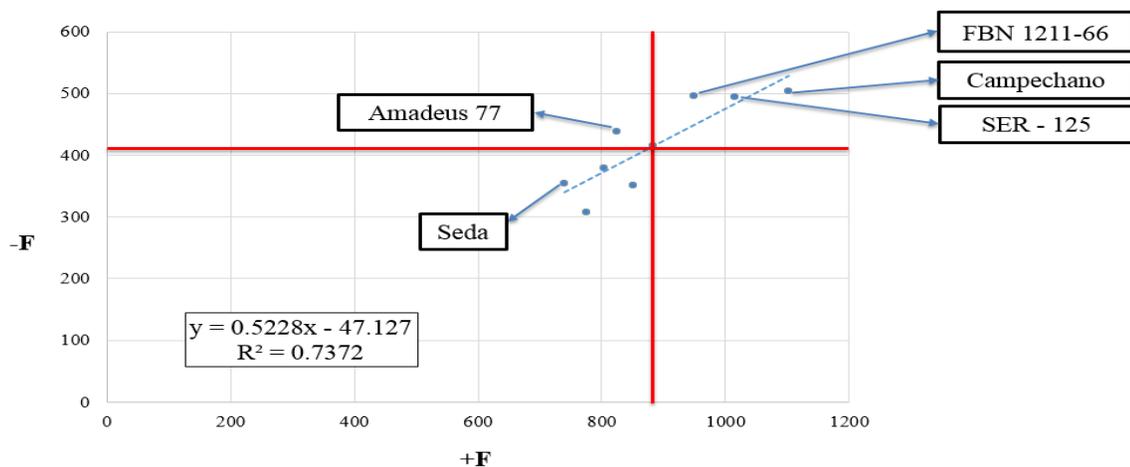


Figura 1. Distribución del rendimiento de ocho líneas de frijol bajo condiciones de suelo con fertilización (+F) y sin fertilización (-F) en La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras.

Cuadro 7. Efecto del genotipo en el rendimiento (kg/ha) de las seis líneas de frijol evaluadas en fincas de agricultores ubicadas en el Departamento de Santa Bárbara y en La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, 2016-2017.

Genotipo	Santa Bárbara						Vega 4 , Zamorano		Promedio
	El Barro	El Paraíso	La Esperanza	La Isla	La Seca	La Zona	(+F)	(-F)	
Líneas promisorias									
ALS 0532-6	1,988	784	376	845	1,147	152	805	379	810
Campechano	1,856	827	421	1,251	1,724	229	1,103	502	989
FBN 1203-43	2,259	607	307	631	1,070	224	853	350	788
FBN 1211-66	1,763	677	345	724	1,516	176	950	495	831
SER 125	1,923	707	334	855	1,588	138	1,017	494	882
SJC 730-79	1,977	493	290	388	1,097	162	776	307	686
Testigos									
Amadeus 77 ^α	2,257	751	343	686	1,316	241	826	438	857
Seda ^β	1,896	500	298	660	1,203	185	740	353	729
Promedio	1,990	668	339	755	1,333	188	884	415	821
CV (%)	27.7	34.2	26.5	32.6	23.3	47.2	23.1	27.3	16.3
DMS	450 ^{ns}	187 ^{ns}	73.3 ^{ns}	201 [*]	254 ^{ns}	73 ^{ns}	167 ^{ns}	92 ^{ns}	67 ^{**}

^α = testigo mejorado

^β = testigo criollo

^{ns} = no significativo

^{*} = significativo al (P<0.05)

^{**} = altamente significativo (P≤0.01)

CV = coeficiente de variación

DMS = diferencia mínima significativa.

(+F) = con fertilización

(-F) = sin fertilización

Cuadro 8. Efecto del genotipo en el valor comercial (1-9) de las seis líneas de frijol evaluadas en fincas de agricultores ubicadas en el Departamento de Santa Bárbara y La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, 2016-2017.

Genotipo	Santa Bárbara						Vega 4, Zamorano		Promedio
	El Barro	El Paraíso	La Esperanza	La Isla	La Seca	La Zona	(+F)	(-F)	
Líneas promisorias									
ALS 0532-6	2.3	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	3.0	3.0	2.3
Campechano	5.0	4.0	3.0	3.0	4.0	3.0	4.0	4.0	3.8
FBN 1203-43	3.7	3.0	3.0	3.0	3.3	3.0	4.0	4.0	3.3
FBN 1211-66	2.3	3.0	2.0	2.3	2.3	2.7	3.0	3.0	2.5
SER 125	4.3	4.0	3.0	3.0	3.3	3.0	4.0	4.0	3.6
SJC 730-79	3.7	3.0	3.0	2.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Testigos									
Amadeus 77 ^α	4.0	4.0	3.0	3.0	3.3	3.0	4.0	4.0	3.5
Seda ^β	2.7	3.0	2.0	2.0	2.7	2.0	3.0	3.0	2.5
Promedio	3.5	3.3	2.6	2.5	3.0	2.6	3.5	3.5	3.1
CV (%)	13.8	0.0	0.0	8.0	13.6	7.9	0.0	0.0	10
DMS	0.39**	0.0**	0.0**	0.17**	0.33**	0.17**	0.0**	0.0**	0.15**

^α = testigo mejorado

^β = testigo criollo

** = altamente significativo (P≤0.01)

CV = coeficiente de variación

DMS = diferencia mínima significativa

(+F) = con fertilización

(-F) = sin fertilización

Análisis de las variables para el valor agronómico del ensayo sin fertilización en La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras.

Todas las líneas evaluadas presentaron diferencias altamente significativas para las variables peso seco de cien semillas, días a floración, días a madurez fisiológica y mosaico dorado (Cuadro 9).

Peso seco de cien semillas (PSCS). SER 125 obtuvo un mayor peso con 26.0 g bajo el tratamiento sin fertilización. Los resultados son variables por la diferencia en tamaño de los granos en cada línea.

Días a floración (DF). Campechano y el testigo criollo Seda fueron las líneas más precoces con 34 días a floración.

Días a madurez fisiológica (DMF). Las líneas SER 125 y Campechano llegaron más rápido a madurez fisiológica, 66 y 67 días después de siembra respectivamente.

Mosaico dorado (MD). Las seis líneas evaluadas y el testigo Amadeus 77 obtuvieron un valor de 3, consideradas como tolerantes al virus. El testigo criollo Seda obtuvo un valor de 7 considerado como susceptible.

Valor agronómico (VA). Las líneas Campechano y SER 125 obtuvieron un valor de 3 consideradas como superiores. La variedad criolla Seda presenta un valor de 8.

Cuadro 9. Efecto del genotipo en el peso seco de cien semillas, días a floración, días a madurez fisiológica, severidad del virus del mosaico dorado amarillo y valor agronómico de las seis líneas de frijol evaluadas sin fertilización en La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, 2016-2017.

Genotipo	Peso seco de 100 semillas (g)	Días a floración	Días a madurez fisiológica	Mosaico dorado (1-9)	Valor agronómico (1-9)
Líneas promisorias					
ALS 0532-6	19.5	40	70	3.0	5.0
Campechano	23.7	34	67	3.0	3.0
FBN 1203-43	19.4	39	71	3.0	4.0
FBN 1211-66	18.0	35	71	3.0	4.5
SER 125	26.0	35	66	3.0	3.0
SJC 730-79	21.5	38	70	3.0	5.5
Testigos					
Amadeus 77 ^α	21.4	40	71	3.0	4.5
Seda ^β	22.1	34	65	7.0	8.0
Promedio	21.5	36.8	68.9	3.5	4.7
CV (%)	4.6	2.2	1.5	7	7.8
DMS	0.81 ^{**}	0.67 ^{**}	1.00 ^{**}	0.25 ^{**}	0.37 ^{**}

^α = testigo mejorado

^β = testigo criollo

^{**} = altamente significativo (P≤0.01)

CV = coeficiente de variación

DMS = diferencia mínima significativa

(+F) = con fertilización

(-F) = sin fertilización

Análisis de las variables para los tratamientos con y sin fertilización en La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras.

Las únicas variables que presentan diferencias significativas fueron raíces adventicias y diámetro de la raíz principal.

Peso seco de follaje (PSF). La línea Campechano obtuvo un mayor peso en promedio para ambos tratamientos, superando al testigo mejorado Amadeus 77 (Cuadro 10).

Número de coronas (NC). La línea Campechano mostró el mayor NC promedio para ambos tratamientos, superando incluso al testigo mejorado Amadeus 77 (Cuadro 10).

Raíces basales (RB). SER 125 presentó en promedio la mayor cantidad de raíces basales, 5.5 con fertilización y 4.3 sin fertilización (Cuadro 11).

Raíces adventicias (RA). Esta variable presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$) para el tratamiento con fertilización, mientras que el tratamiento sin fertilización no presentó diferencias significativas. La variedad Seda mostró mayor número de raíces adventicias promedio (28.8) para el tratamiento con fertilización y de 23.4 en promedio para el tratamiento sin fertilización (Cuadro 11).

Ángulo de raíces (AR). Se observó que la variable aumenta cuando la fertilización disminuye, es decir las raíces presentaron mayor geotropismo atribuido por la precipitación en la que se condujo el experimento (Cuadro 11).

Diámetro de la raíz principal (DRP). Esta variable presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$) para el tratamiento con fertilización. El tratamiento sin fertilización no presentó diferencias significativas. La línea que obtuvo un mayor diámetro de raíz principal fue FBN 1203-43, con un promedio de 2.5 mm con fertilización y 1.7 mm sin fertilización (Cuadro 11).

Cuadro 10. Efecto del genotipo en el rendimiento (kg/ha), media geométrica (MG), peso seco del follaje (PSF) y número de coronas (NC) de las seis líneas evaluadas con (+F) y sin fertilización (-F) en La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, 2016-2017.

Genotipos	Rendimiento (kg/ha)			PSF (g/10 plantas)		NC	
	(+F)	(-F)	MG	(+F)	(-F)	(+F)	(-F)
Líneas promisorias							
Campechano	1,103	1,251	1,175	80.9	22.3	2.2	1.5
SER 125	1,017	855	933	69.3	30.8	1.9	1.7
FBN 1211-66	950	724	829	68.5	21.7	1.7	1.4
FBN 1203-43	853	631	733	63.4	23.2	1.9	1.3
ALS 0532-6	805	845	824	54.5	28.7	1.7	1.3
SJC 730-79	776	388	549	50.8	18.9	1.7	1.1
Testigos							
Amadeus 77 ^α	826	686	753	61.4	21.1	2	1.5
Seda ^β	740	660	699	62.8	25.3	1.9	1.5
Promedio	884	755	812	63.9	24	1.9	1.4
CV (%)	23.1	32.6		20.6	32	23	20.9
DMS	167 ^{ns}	201.0 [*]		10.8 ^{ns}	6.3 ^{ns}	0.35 ^{ns}	0.24 ^{ns}

^α = testigo mejorado

^β = testigo criollo

^{ns} = no significativo

^{*} = significativo al (P<0.05)

CV = coeficiente de variación

DMS = diferencia mínima significativa

(+F) = con fertilización

(-F) = sin fertilización

Cuadro 11. Efecto del genotipo en el número de raíces basales (RB), raíces adventicias (RA), ángulo de raíces (AR) y diámetro de la raíz principal (DRP) en las seis líneas de frijol evaluadas con (+F) y sin fertilización (-F) en La Vega 4 de Monte Redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, 2016-2017.

Genotipo	RB		RA		AR (escala 1-9)		DRP (mm)	
	(+F)	(-F)	(+F)	(-F)	(+F)	(-F)	(+F)	(-F)
Líneas promisorias								
ALS 0532-6	4.7	3.6	20.5	15.5	3.3	7.1	1.7	1.7
Campechano	4.8	4.3	20.7	23.6	3.8	6.9	2.1	1.4
FBN 1203-43	4.4	3.7	13.6	14.5	3.3	6.7	2.5	1.7
FBN 1211-66	4.2	3.6	16.7	15.1	3.4	6.6	2.4	1.4
SER 125	5.1	4.3	15.2	12.6	3.9	6.6	1.9	1.5
SJC 730-79	4.7	2.6	17.9	23.0	3.6	7.5	2.2	1.8
Testigo								
Amadeus 77 ^α	5.1	3.5	14.5	15.8	3.0	6.7	2.1	1.4
Seda ^β	5.0	4.1	28.8	23.4	4.9	6.6	1.5	1.3
Promedio	4.7	3.7	18.5	17.9	3.6	6.8	2.1	1.5
CV (%)	18	17.7	25.8	36.6	19.8	9.8	14.8	20.7
DMS	0.69 ^{ns}	0.54 ^{ns}	3.89 [*]	5.36 ^{ns}	0.59 ^{ns}	0.55 ^{ns}	0.25 [*]	0.26 ^{ns}

^α = testigo mejorado

^β = testigo criollo

^{ns} = no significativo

^{*} = significativo al (P<0.05)

CV = coeficiente de variación

DMS = diferencia mínima significativa

(+F) = con fertilización

(-F) = sin fertilización

Caracterización molecular de las seis líneas y dos testigos de frijol evaluados mediante la técnica RAPD.

Los 12 primers que se utilizaron para la caracterización molecular de las líneas de frijol mediante la técnica RAPD (Random amplified polymorphic DNA), mostraron diferenciación polimórfica. El marcador OPAC-15 (Figura 3) presentó un total de 24 bandas seguido por el marcador OPH-08 con 17 bandas polimórficas. A la presencia y ausencia de bandas polimórficas en las líneas evaluadas, se asignó el valor binario 0 para la ausencia y 1 para la presencia de bandas polimórficas. Estos valores fueron tabulados en el programa de Microsoft Excel 2013®, y posteriormente analizados en el programa estadístico Infostat® para la construcción del dendrograma y visualizar las distancias genéticas existentes entre las líneas.

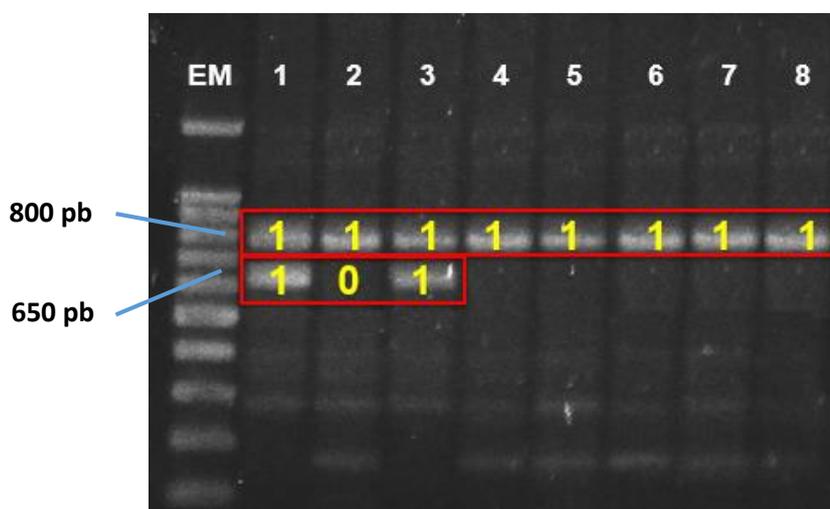


Figura 1. Visualización de bandas polimórficas de ADN usando el marcador RAPD OPAC-15, Zamorano, Honduras, 2017.

De acuerdo al dendrograma del análisis con marcadores RAPD, las líneas de frijol Campechano y Amadeus 77 presentan mayores distancias genéticas comparadas con las líneas FBN 1211-66, Seda y ALS 0532-6 (Figura 2). Las diferencias genéticas observada entre los genotipos del estudio permite identificar a aquellos que presentan menor similitud, los cuales al cruzarse podrían generar recombinaciones genéticas en su descendencia con características favorables de ambos padres, incluyendo resistencia a enfermedades, mejor adaptación a suelos de baja fertilidad y valor comercial del grano.

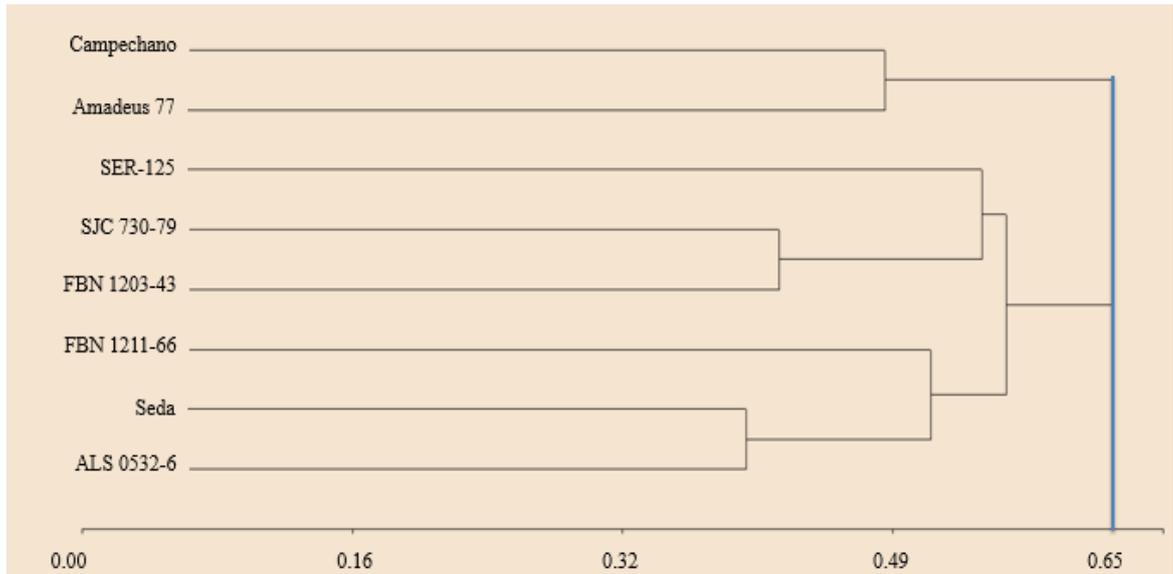


Figura 1. Dendrograma de distancias genéticas (índice de similaridad de Dice) para las seis líneas y dos testigos evaluados usando 12 marcadores RAPD, Programa de Investigaciones en frijol (PIF), Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Honduras, 2017.

α = testigo mejorado

β = testigo criollo

CONCLUSIONES

- Las líneas de frijol Campechano, FBN 1211-66 y SER 125 presentaron mayores rendimientos en la mayoría de localidades en Santa Bárbara.
- En las evaluaciones de los genotipos de frijol en La Vega 4 de Monte redondo, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, bajo el tratamiento con fertilización no se observaron diferencias significativas, sin embargo si las hubo para los tratamientos sin fertilización sobresaliendo como mejores las líneas Campechano y SER 125.
- fertilizar mejora los rendimientos en todas las líneas y variedad de frijol evaluadas.
- Según el análisis RAPD, las diferencias observadas en distancia genéticas entre las líneas de frijol, podrán orientar futuras hibridaciones en mejoramiento y selección.

RECOMENDACIONES

- Debido a variaciones inherentes a las fincas de pequeños agricultores se debe incluir un mayor número de evaluaciones con genotipos tolerantes a bajos contenidos de N y P y otros factores de suelo, clima y manejo.
- Los genotipos Campechano, SER 125 y FBN 1211-66 que poseen buenas características agronómicas y comerciales, deben ser revalidadas en fincas de agricultores para su posible liberación como nuevas variedades comerciales.
- Usar mayor cantidad de marcadores moleculares del tipo RAPD para identificar mejores padres con potencial para el mejoramiento genético.
- Fertilizar todas las líneas para obtener mejores rendimientos.

LITERATURA CITADA

- Jacinto HC, García GR, García GD, Lugo BI. 2014. Caracterización de germoplasma nativo de frijol con base en marcadores moleculares y atributos de calidad. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*; [consultado 2017 ago 09]. 5(2):1-12. <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v5n2/v5n2a7.pdf>
- Odile R, Chaveco O, Ortiz R, Ponce M, Ríos H, Miranda S, Días O, Portelles Y, Torres R, Cedeño L. 2009. Líneas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) resistentes a la sequía. Evaluación de su comportamiento frente a condiciones de riego, sin riego y enfermedades. *Temas de ciencia y tecnología*; [consultado 2017 ago 09]. 13(38):17-26. http://www.utm.mx/edi_antiores/Temas38/1ENSAYO%2038-3.pdf
- Polanía JA, Rao IM, Mejía S, Beebe SE, Cajiao C. 2012. Características morfo-fisiológicas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) relacionadas con la adaptación a sequía. *Acta Agronómica*; [consultado 2017 ago 06]. 61:1-11. https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/37526/39911
- Rosas JC, Aracely C, Flores E. 2000. Mejoramiento genético del frijol rojo y negro mesoamericano para Centroamérica y El Caribe. *Agronomía Mesoamericana*; [consultado 2017 ago 08]. 11(2):37-46. <http://www.redalyc.org/pdf/437/43711206.pdf>
- Rosas, JC, Beaver J.S, Beebe S, Viana A. 2004. Nomenclatura de variedades de frijol común liberadas en Centro América y El Caribe. *Agronomía Mesoamericana*; [consultado 2017 ago 06]. 15(2):221-224. <http://www.redalyc.org/pdf/437/43715213.pdf>
- Rosas, JC. 2011. Contribuciones del Programa de Investigaciones en Frijol en Centro América y El Caribe. *Ceiba: A Scientific and Technical Journal*. 52(1):65–73
- USDA (United States Department of Agriculture). 2013. Manual de producción de frijol [internet]; [consultado 2017 ago 08]. [http://D:/Downloads/Manual-Frijol-ACCESO%20\(6\).pdf](http://D:/Downloads/Manual-Frijol-ACCESO%20(6).pdf)

Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*; [consultado 2017 ago 08]. 18(22):6531-6535. <http://images.biomedsearch.com/1979162/nar002060065.pdf?AWSAccessKeyId=AKAIBOKHYOLP4MBMRGQ&Expires=1508544000&Signature=hsvrzIOo8BWqoHjxAwgGvIGHqos%3D>