

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria
Ingeniería Agronómica



Proyecto Especial de Graduación
**Caracterización fenotípica, molecular y nutricional de la línea de frijol
común (*Phaseolus vulgaris* L.) SEF-70**

Estudiantes

Lidysce Andrea Mata Cantarero

Rafael Antonio López Cano

Asesores

Raphael Wesly Colbert Ph.D.

Iveth Yassmin Rodriguez M.Sc.

Honduras, julio 2023

Autoridades

SERGIO RODRIGUEZ ROYO

Rector

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

CELIA O. TREJO RAMOS

Directora Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria

HUGO ZAVALA MEMBREÑO

Secretario General

Contenido

Índice de Figuras	6
Índice de Anexos	7
Resumen	8
Abstract	9
Introducción	10
Materiales y Métodos	13
Localización del Estudio	13
Material Experimental	13
Datos Climatológicos.....	14
Manejo Agronómico	15
Caracterización Agronómica	15
Variables Evaluadas.....	15
Caracterización Molecular	16
Extracción de ADN	16
Calibración del Equipo de Cuantificación.....	17
Cuantificación de ADN	17
Dilución de ADN	18
Amplificación de ADN	18
Visualización de ADN	18
Diseño Experimental	19
Análisis Estadístico	19
Resultados y Discusión.....	21
Caracterización Fenotípica de la Línea SEF-70	21
Características Agronómicas de la Línea SEF-70	25
Caracterización Nutricional de la Línea SEF-70	30

Caracterización Molecular de la Línea SEF-70	31
Marcador Molecular SR2 Resistencia de Virus del Mosaico Dorado	31
Marcadores Moleculares SH13 de Mancha Angular.....	32
Marcadores Moleculares SNO2 de Mancha Angular	32
Marcadores Moleculares E-ACA/M-CTT330 de Mancha Angular	32
Marcadores Moleculares SK14 SA14/ SOAD12	33
Conclusiones	35
Recomendaciones	36
Referencias	37
Anexos	41

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Análisis de suelos de las parcelas experimentales de La Vega 4 de Monte Redondo y Lote 27 de Zona II, Zamorano, Honduras, 2022.....	13
Cuadro 2 Variedades de frijol común utilizado en el experimento en campo y laboratorio, Zamorano, Honduras, 2022.....	14
Cuadro 3 Temperaturas promedio, máximas y mínimas y precipitación acumulada en los lotes 27 y Vega 4, Zamorano, Honduras, octubre 2022-enero 2023.....	15
Cuadro 4 Marcadores moleculares usados para identificar la presencia de genes de resistencia de enfermedades en el frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i>), Zamorano, Honduras 2023.	19

Índice de Figuras

Figura 1 Plántula de Línea de Frijol Común (<i>Phaseolus vulgaris</i>) SEF-70 a los 10 días después de siembra	21
Figura 3 Forma de las Hojas de la Línea de Frijol Común (<i>Phaseolus vulgaris</i>) SEF-70.....	22
Figura 4 Estructura Floral de la Línea de Frijol Común (<i>Phaseolus vulgaris</i>) SEF-70.....	23
Figura 5 Estado de Madurez Fisiológica de la Línea de Frijol Común (<i>Phaseolus vulgaris</i>) SEF-70.....	23
Figura 7 Características de la Semillas de la Línea de Frijol Común (<i>Phaseolus vulgaris</i>) SEF-70: a) color de semilla, b) color alrededor del hilo y forma	25

Índice de Anexos

Anexo A Ubicación del lote la Vega 4, Monte redondo y Lote #27, Zona II	41
---	----

Resumen

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es un cultivo de gran interés comercial y nutricional, sin embargo, es afectado por plagas, enfermedades y factores abióticos que limitan su producción. El objetivo de esta investigación fue realizar la caracterización fenotípica, nutricional y molecular de la línea de frijol biofortificado SEF-70. La investigación se llevó a cabo en Zamorano durante los meses de octubre 2022 a enero 2023, y comprendió dos fases, siendo la primera evaluar el comportamiento agronómico y nutricional de la línea SEF-70 y tres testigos (Honduras Nutritivo y Amadeus 77, y la variedad criolla Seda) bajo diferentes niveles de fertilidad del suelo usando un diseño BCA con cuatro repeticiones. En la segunda fase, se determinó la presencia o ausencia de genes de resistencia al virus del mosaico dorado, roya y mancha angular mediante marcadores moleculares SCAR. La línea SEF-70 alcanzó rendimientos que no fueron significativamente diferentes a los testigos, sin embargo, obtuvo un mayor peso de 100 semillas, presentó menos días a floración que Amadeus 77 y Honduras Nutritivo, mientras que, en días a madurez fisiológica la diferencia no fue significativa a Amadeus 77. El contenido de hierro de SEF-70 (56 mg kg^{-1}) no fue estadísticamente significativo a Honduras Nutritivo (59 mg kg^{-1}), además posee genes que confieren resistencia al virus del mosaico dorado del frijol, mancha angular y roya. SEF-70 es una línea promisoría con excelente potencial de rendimiento, características fenotípicas y calidad de grano deseables para ser liberada como una variedad comercial.

Palabras clave: biofortificación, hierro, nutrición, resistencia a enfermedades.

Abstract

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is a crop of great commercial and nutritional interest, nevertheless it is affected by pests, diseases, and abiotic factors. The objective of this research was to perform phenotypic, nutritional, and molecular characterization of the SEF-70 biofortified bean line. The trials were carried out in Zamorano, in 2022 during the months of October to January and comprised of two phases: the first evaluated the agronomic and nutritional performance of the SEF-70 line and three checks, Honduras Nutritivo, Amadeus 77, and the landrace variety Seda under different levels of soil fertility using a RCBD with four replications. In the second phase, the presence or absence of resistance genes for bean golden mosaic virus, rust, and angular leaf spot was determined using SCAR molecular markers. The SEF-70 line presented yields with no significant difference to the checks; however, it had a higher 100-seed weight and fewer days to flowering than Amadeus77 and Honduras Nutritivo, while the difference in days to physiological maturity was not significant to Amadeus77. The iron content of SEF-70 (56 mg kg⁻¹) was not statistically significantly different to Honduras Nutritivo (59 mg kg⁻¹), and it also has genes for resistance to bean golden mosaic virus, angular leaf spot, and rust. SEF-70 is a promising line with excellent yield potential, phenotypic characteristics, and grain quality desirable to be released as a commercial variety.

Key words: Biofortification, iron, nutrition, virus resistance.

Introducción

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es considerado en Centroamérica y El Caribe como la principal fuente de proteína vegetal, ya sea en poblaciones urbanas o rurales de bajos ingresos, esto debido a su costo por gramo de proteína (Guzmán-Soria et al. 2019). Actualmente, en Honduras según IICA 2021, se produce alrededor de 2,930,914 quintales de frijol, en una superficie equivalente a 237,687 Mz en 2019

En Centroamérica en 2022 la tasa de pobreza alcanzó un 32.1% de la población total de los países viviendo en la pobreza y la inseguridad alimentaria, y el 13.8% viviendo en pobreza extrema (CEPAL). La insuficiencia de alimentos de calidad en las dietas de las personas pobres de la región hace que los niveles de anemia y desnutrición infantil sean altos y que el “hambre oculta” en los hogares de la región sea cada vez más frecuente (Hummel et al. 2020). La prevalencia de la anemia a nivel centroamericano en niños menores de 5 años es de hasta un 31.60% en Panamá, 39.50% en Honduras, 29.70% en El Salvador, 47.10% en Guatemala y 18.60% en Nicaragua (Nieves et al. 2012). La anemia puede afectar seriamente en el desarrollo cognitivo y la educación de los niños (Tinoco et al. 2013).

La biofortificación es una medida para garantizar la seguridad alimentara al implementar un método por el cual se logra aumentar el contenido de micronutrientes dentro de los alimentos normalmente hierro, zinc, yodo y vitamina A (Siwela et al. 2020). En la actualidad existen varios métodos, como son la biofortificación convencional enfocada a la selección natural, con el objetivo de mejorar un rasgo genético de una variedad determinada realizando aplicación de fertilizantes y minerales esenciales. También puede utilizarte la ingeniería genética la cual pretende introducir directamente los genes deseados desde una planta o animal diferente dentro del organismo deseado (González Vélez et al. 2023) Lamentablemente la mayoría de estos métodos no son bien vistos dentro de la sociedad (SMIA 2015) Las principales razones de dicha percepción se debe a la dificultad de obtener materiales biofortificados, ya sea por el precio o disponibilidad dentro del país. También influye la preferencia de sabor, color, y propiedades de cocinado de variedades criollas con respecto a las variedades mejoradas. Sin embargo, el fitomejoramiento de cultivos presenta como objetivo el

cumplir con todos los requerimientos para alcanzar la aceptación de la población dado que es de suma importancia el fomento y distribución de cultivos biofortificados. Pues, la falta de estos cultivos puede causar un amplio número de disfunciones fisiológicas, llevando a tener consecuencias significativas en la salud y desarrollo humano (Rubio et al. 2007).

Al iniciar el mejoramiento genético de un cultivo es necesario realizar la caracterización de los progenitores, con el objetivo de determinar su utilidad como fuente genética de un carácter deseado, así como para planear las cruzas apropiadas (Camarena et al. 2014). Debido a que el valor comercial del frijol es influenciado por características como tamaño, color y uniformidad del grano, la caracterización de este es de suma importancia para las líneas próximas a liberación.

En Centroamérica el mercado de frijol se ve dividido por el color. En Honduras, El Salvador y Nicaragua el frijol rojo es el preferido por los consumidores; en Costa Rica y Guatemala, el frijol negro es más popular entre la población (USAID 2022). Otras características como el tamaño del grano son especialmente deseados por los productores, ya que esto incrementa su proporción de ganancia por hectárea cuando los granos son de un mayor tamaño, uno de los principales problemas en los países centroamericanos, debido a la amplia utilización de variedades criollas (Morales Santos et al. 2017).

Al momento de seleccionar una línea genética se toman en cuenta también las características de importancia agronómica como la resistencia a factores bióticos y la tolerancia a los abióticos (Miklas et al. 2006). Los estreses abióticos engloban largos periodos de sequía, exceso de viento, inundaciones, falta o exceso de minerales, altas o bajas temperatura. Los estreses bióticos, son aquellos como las enfermedades y plagas que puede afectar a los cultivos que son de un gran interés comercial como lo es el frijol, ya que es la leguminosa más consumida alrededor del mundo (Ron et al. 2016). Las enfermedades para las que se están seleccionando líneas de frijol más comúnmente son: mancha angular de la hoja, antracnosis, virus del mosaico dorado y común del frijol, roya y el tizón bacteriano (Miklas et al. 2006).

Estas enfermedades tienen graves consecuencias en el rendimiento del frijol. La mancha angular es causada por el hongo *Pseudocercospora griseola* y ataca el follaje, las vainas y las semillas

del frijol. En el caso de los mosaicos ambos son causados por virus de amplia distribución geográfica y los síntomas más comunes suelen ser confundidos con deficiencias nutricionales o toxicidad por exceso de nutrientes, atacan principalmente las hojas. La roya del frijol es causada por el hongo *Uromyces appendiculatus* infecta a hojas, tallos y vainas, causando el mayor daño sobre las hojas. Los síntomas iniciales en las hojas son pequeños puntos blancos-amarillentos levantados, en el haz como el envés, los cuales crecen y rompen la epidermis, formando pústulas de 1 a 2 mm de diámetro, mostrando una gran cantidad de esporas como polvo rojizo. En algún caso se presenta un halo de color amarillo alrededor de la pústula (Cabrera et al. 2012).

El empleo de marcadores moleculares juega un papel importante en el mejoramiento genético del frijol para la selección de la resistencia y tolerancia a factores bióticos. Se realiza la genotipificación del frijol con la ayuda de marcadores moleculares, que son una región de genoma que presenta un polimorfismo, permitiendo así distinguir los alelos procedentes de progenitores en los descendientes de los cruzamientos al momento de realizar una cruce (Cantín 2018).

El objetivo de esta investigación fue realizar la caracterización fenotípica, molecular y nutricional de la línea de frijol SEF-70.

Materiales y Métodos

Localización del Estudio

Los experimentos se realizaron en dos fases: en la primera se hizo la evaluación agronómica en los lotes La Vega 4, Monte Redondo y Lote Experimental #27, Zona II de la Unidad de Investigación y Desarrollo de Cultivos de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. La Vega 4 se encuentra a una altura de 750 m, 13°59'41" N y 86°59'19"O. El lote experimental #27 de zona II está ubicado a 14°00'22.68" N, 86°59'46.86" W, a una altura de 767 msnm.

En términos nutricionales el Lote 27 es bajo en nitrógeno y alto en fósforo (Cuadro 1), y el lote La Vega está dividido en franjas paralelas de 5 m, que se distribuyen en franjas con y sin fertilización; este lote se ha mantenido de esta forma por más de 15 años y presenta deficiencia en materia orgánica, nitrógeno y fósforo, siendo estos dos últimos los nutrientes limitantes para el cultivo del frijol (Cuadro 1).

Cuadro 1

Análisis de suelos de las parcelas experimentales de La Vega 4 de Monte Redondo y Lote 27 de Zona II, Zamorano, Honduras, 2022.

Lote	Textura	M.O (%)	Nitrógeno (N)	Fósforo (P)	Potasio (K)	pH
La Vega 4 (+F)	Franco arcillo arenoso	1.24	0.06	5	301	5.93
La Vega 4 (-F)	Franco	1.04	0.05	6	289	6.19
Lote 27	Franco	2.56	0.13	94	538	5.79
Rango aceptable		2.00-4.00	0.20-0.50	13-30	Por Saturación de Bases	

Nota. +F franja que se fertiliza; -F franja sin aplicación de fertilizante

Material Experimental

El material utilizado para esta investigación consistió en la línea promisorio SEF-70 (Rojo fortificado) y tres testigos, Honduras Nutritivo, Amadeus 77, y la variedad criolla Seda (Cuadro 2). La línea SEF-70 fue desarrollada en el CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical) y fue seleccionada de un grupo de líneas avanzadas con alto contenido de hierro y zinc con mejores cualidades agronómicas que la variedad biofortificada comercial Honduras Nutritivo. Además, presenta resistencia a las principales enfermedades del frijol común y altos rendimientos en campo.

La variedad Honduras nutritivo fue desarrollada en el CIAT a partir de parentales tolerantes a sequía, altas temperaturas, altos en hierro y resistentes a mancha angular y fue liberado por la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano en el año 2016. Amadeus 77 fue desarrollada en la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano en 1995, y cuenta con un alto rendimiento en campo, tolerancia a altas temperaturas, sequía y resistencia al virus del mosaico dorado del frijol, fue liberada en Honduras en el año 2002. Seda es una variedad criolla ampliamente utilizada por los agricultores hondureños debido al color rojo claro de su semilla y buenos rendimientos en campo. Sin embargo, es susceptible a todas las enfermedades que afectan al frijol común.

Cuadro 2

Variedades de frijol común utilizado en el experimento en campo y laboratorio, Zamorano, Honduras, 2022.

Línea	Nombre Varietal	Pedigrí
SEF-70	Rojo fortificado	(ALB 74/INB 841) F1 // RCB 593+/-1C-MC-MQ-3C-MC
MIB 397-72	Honduras nutritivo	SXB122//INB36//G23818E/F1/F1/MAB95/EAP9653-16B-1/F1/MC-1Q-MQ/MC-MC-MC
EAP-9510-77	Amadeus 77	Tío Canela 75/DICTA 105
Criolla	Seda	Variedad criolla

Datos Climatológicos

Los datos climatológicos de la zona durante el experimento fueron obtenidos de la estación meteorológica Zorrales de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano (Cuadro 3). La temperatura máxima y mínima fueron de 21.75°C y 21.55°C en promedio. La precipitación durante el experimento fue de 153.1mm para el Lote 27 y de 112.9mm para la Vega 4, completando las necesidades hídricas de los cultivos con riegos programados utilizando riego por goteo, el cual trabaja a aproximadamente 1.2 bares con un riego constante de 2 veces al día.

Cuadro 3

Temperaturas promedio, máximas y mínimas y precipitación acumulada en los lotes 27 y Vega 4, Zamorano, Honduras, octubre 2022-enero 2023.

Lote	Temperatura mínima (°C)	Temperatura máxima (°C)	Temperatura promedio (°C)	Precipitación acumulada (mm)
Lote 27	17.24	28.06	22.32	153.14
Vega 4	16.14	27.74	21.72	112.91

Manejo Agronómico

En el lote 27 de Zona II y Vega 4 con fertilización se realizaron dos aplicaciones de fertilizante, la primera con DAP (18-46-0) a la siembra, y la segunda con nitrato de amonio a los 30 días después de siembra (DDS). Los surcos en ambos lotes consistieron en hileras sencillas de 5 m (0.7 m entre surcos \times 0.1 m entre plantas). La fertilización del lote 27 y Vega 4 (con fertilización) se realizó al momento de la siembra y a los 30 DDS, aplicando una dosis de 45.5 kg de nitrógeno y 59.8 kg de fósforo.

El control de insectos y de enfermedades se realizó de manera preventiva (monitoreo) según recomendaciones. Las malezas se controlaron con herbicidas Touch Down (Glifosato) 10 días antes de la siembra y manualmente cuando fue necesario.

Caracterización Agronómica

Se condujeron tres experimentos establecidos en el lote experimental 27, en La Vega 4 con fertilización y La Vega 4 sin fertilización, para la evaluación de características agronómicas, fenotípicas y nutricionales de la línea promisorio SEF-70 (Rojo fortificado) y tres testigos, Honduras Nutritivo, Amadeus 77, y la variedad criolla Seda.

Variables Evaluadas

Para todas las líneas se registraron datos de días a floración (etapa de desarrollo R6), cuando el 50% de las plantas presentaron una o más flores abiertas, y días a madurez fisiológica (etapa R9) cuando el 50% de las vainas de cada planta cambian de color (maduras). Durante la cosecha se evaluó el rendimiento (kg ha^{-1}) del cultivo y el peso (g) de 100 semillas.

Para la línea SEF-70 se realizó adicionalmente una descripción botánica utilizando la Guía ilustrada para la descripción de las características de variedades de frijol común de Rosas (2009). En el estado de plántula se caracterizó el color del hipocótilo y de los cotiledones. En la fase de floración se tomaron datos del momento de la antesis (días a floración) y duración de la floración. Respecto a la flor se determinó el tamaño brácteas, color de alas, color del estandarte, color de la flor, y color predominante del cáliz. Para el tallo se determinó el hábito de crecimiento, la longitud y color del tallo principal. Adicionalmente la pubescencia, tipo de ramificación y resistencia al acame. En las hojas se evaluó el color, ancho, longitud y forma.

En la fase de madurez fisiológica para las vainas se determinó el color, la distribución en la planta y la forma del ápice. Al momento de la cosecha, también para las vainas se determinó longitud, ancho, color y número de vainas por planta, asimismo como el número de semillas por vaina. Para la semilla se evaluó el color primario y secundario, y forma de la semilla. Adicionalmente, se evaluó el peso de 100 semillas, longitud, ancho, brillo, color alrededor del hilo de la semilla. Finalmente, para la calidad nutricional de grano se evaluó la cantidad de hierro (Fe) en mg kg^{-1} , mediante el método de espectrofotometría de absorción atómica con llama.

Caracterización Molecular

Se evaluó la presencia/ausencia de genes de resistencia a virus del mosaico dorado y mosaico común, roya y mancha angular en el Laboratorio de Biotecnología de la Unidad de Investigación y Desarrollo de Cultivos de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Se utilizaron los protocolos de extracción, cuantificación, dilución, amplificación y separación de ADN de la UIDC.

Extracción de ADN

Para la extracción de ADN se utilizó el protocolo de la Universidad de Wisconsin-Madison. El ADN se extrajo de los primeros brotes de plantas de una semana y media de edad. Las muestras se recolectaron de plantas individuales en microtubos eppendorf de 1.5 mL, se agregó 50 μL de buffer PEX (Etil xantogenato de potasio) para macerar el tejido en el microtubo usando un Bead Ruptor 96 (macerador de tejido), se le adicionó 450 μL de buffer PEX. Las muestras se colocaron en baño María

a 65°C por 60 min; para concentrar los residuos de tejido las muestras se centrifugaron a 14000 RPM por 10 min. Luego se precipitaron los ácidos nucleicos, llenando los microtubos con una mezcla 6:1 etanol: acetato de amonio 7.5 M. por 30 min a temperatura ambiente; se peletizaron los ácidos nucleicos centrifugando las muestras a 3000 RPM durante 10 min. A los microtubos con tejido se les adicionó 300 µL de RNAasa (100 µg/mL) + buffer TE 0.1X y se colocaron en baño maría a 37°C por 1 hora, para eliminar el ARN de las muestras. Posteriormente se precipitó el ADN llenando los microtubos con una mezcla de 10:1 etanol: acetato de sodio (3M), se mezcló invirtiendo los microtubos, para permitir que se precipite el ADN a temperatura ambiente por 30 min. Para peletizar el ADN las muestras se centrifugaron a 3000 RPM por 5 min. El tejido de ADN lavado con etanol al 70% y secado a temperatura ambiente por 3 horas se rehidrató con 100 µL de buffer TE 0.1X y se almacenó a -20°C.

Calibración del Equipo de Cuantificación

Para la calibración del fluorómetro se agregó 199µl de la solución de trabajo buffer de cuantificación (Quantil Flour®) One dsDNA Dye. a un tubo PCR de 0.5ml Promega®, se adicionó 1µl de 1X TE Buffer (pH 7.5), posteriormente se agregó 199µl de la solución de trabajo de cuantificación (Quantil Flour®) One dsDNA Dye. a otro tubo de PCR (Promega®), se adicionó 1 µl de muestra estándar de (Quantil Flour®) One dsDNA Lambda DNA. Posteriormente se agitó el tubo ligeramente en un vortex y se incubó por 5 minutos en oscuridad. Posteriormente, para calibrar se presionó el botón “Calibrate” y se colocó la muestra de lectura blanca, hasta que presentó el estatus valido. Igualmente, se colocó la muestra estándar hasta que presentó el estatus valido. Por último, se seleccionó la opción guardar.

Cuantificación de ADN

Para determinar la concentración de ADN de cada una de las muestras se siguió el protocolo sugerido en el manual del módulo de Diagnóstico Molecular. Se agregó 199µl de la solución de trabajo de cuantificación (Quantil Flour®) One dsDNA Dye. a otro tubo de PCR (Promega®) después se adicionó 1 µl de muestra estándar de (Quantil Flour®) One dsDNA Lambda DNA y se agitó el tubo ligeramente en un Vortex. Posteriormente se incubó por 5 minutos en oscuridad y se colocó el tubo en el

fluorómetro. Por último, se realizó la lectura de la muestra en el Quantus de Promega®. La concentración mínima de ADN que se necesita para un protocolo SCAR es de 30 ng/μL.

Dilución de ADN

Una vez que se obtuvo el dato de concentración de ADN, las muestras que presentaron concentraciones de ADN mayor a 30 ng/μL se diluyeron con buffer TE 0.1X, para que todo el ADN tuviera la misma capacidad de amplificación. La dilución se hizo utilizando la fórmula:

$$V_i = \frac{C_f * V_f}{C_i} \quad [1]$$

Vi: Volumen inicial (μL), Cf: Concentración final (30ng/ μL), Ci: Concentración inicial (ng/ μL), Vf: Volumen final (100 μL).

Amplificación de ADN

El ADN se amplificó en un termociclador (Techne Unit TC-512), utilizando siete oligonucleótidos específicos (Cuadro 4).

Visualización de ADN

Los productos de PCR fueron observados en geles de agarosa en solución tampón TE 0.5X (TrisHCl, pH 7.5; ácido bórico, EDTA) en tanques de electroforesis. Se utilizó una escalera molecular de 50 pares de bases, para verificar la presencia o ausencia de bandas. Las bandas fueron separadas a través de una de electricidad (regulador de voltaje) de 2.5 amperios a 90 Voltios durante 2 horas. Las bandas de ADN se visualizaron en el transiluminador (Benchtop, UVP, modelo M-26VX 95-0413-01), con una longitud de onda de 302 nm, las fotografías de los geles de agarosa fueron tomadas bajo luz ultravioleta para registrar los resultados.

Cuadro 4

Marcadores moleculares usados para identificar la presencia de genes de resistencia de enfermedades en el frijol (Phaseolus vulgaris), Zamorano, Honduras 2023.

Enfermedad	Nombre del Marcador-SCAR	Secuencia del cebador Avance	Secuencia del cebador reversa
Mosaico dorado	SR2	CAC AGC TGC CCT AAC AAA AT	CAC AGC TGC CAC AGG TGG GA
Roya	SK14	CCC GCT ACA CAC CAA TAT CTG	CCC GCT ACA CTT GAT AAA ATG TTA G
	SA14	CTA TCT GCC ATT ATC AAC TCA AAC	GTG CTG GGA AAC ATT ACC TAT T
	SOAD12	AAG AGG GCG TGA GAT CGT CG	AAG AGG GCG TCT TGA AGG TT
Mancha angular	SH13	GAC GCG ACA CCC ATT ATG TT	GCC ACA CAG ATG GAG CTT TA
	SNO2	ACC AGG GGC ATT ATG AAC AG	ACC AGG GGC AAC ATA CTA TG
	E-ACA/M- CTT ₃₃₀	CTT GTT CTG AGT CAT TTA CCT TGC	GGA TTC ACA GTC CAA ACT CAT ATC
Bacteriosis	SU91	CCA CAT CGG TTA ACA TGA GT	CCA CAT CGG TGT CAA CGT GA

Diseño Experimental

Para los experimentos de La Vega 4 con y sin fertilización y el Lote #27 se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Los tratamientos consistieron en el bloque de La Vega 4 y se utilizaron franjas divididas en: franjas con fertilización y sin fertilización. Cada una conformando cuatro repeticiones con cada una de las variedades usadas como tratamientos, teniendo un total de 50 unidades experimentales por tratamiento. Esto fue repetido en el Lote #27 bajo un ambiente de fertilidad normal como un solo bloque con cuatro repeticiones, cuatro variedades como tratamiento y 50 unidades experimentales por tratamiento.

Análisis Estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y la separación de medias diferencia mínima significativa (DMS) de Fisher ($p \leq 0.05$) usando el programa estadístico "InfoStat". Se realizó un análisis de varianza combinado para los ambientes (Lote 27, Vega 4 con y sin fertilización) evaluando el efecto de las interacciones (Genotipo \times Ambiente) para las variables días a floración, madurez fisiológica, peso

de 100 semillas, rendimiento y contenido de hierro. Se empleó el análisis descriptivo de la presencia o ausencia de los genes de resistencia para virus de mosaico dorado, mancha angular y roya.

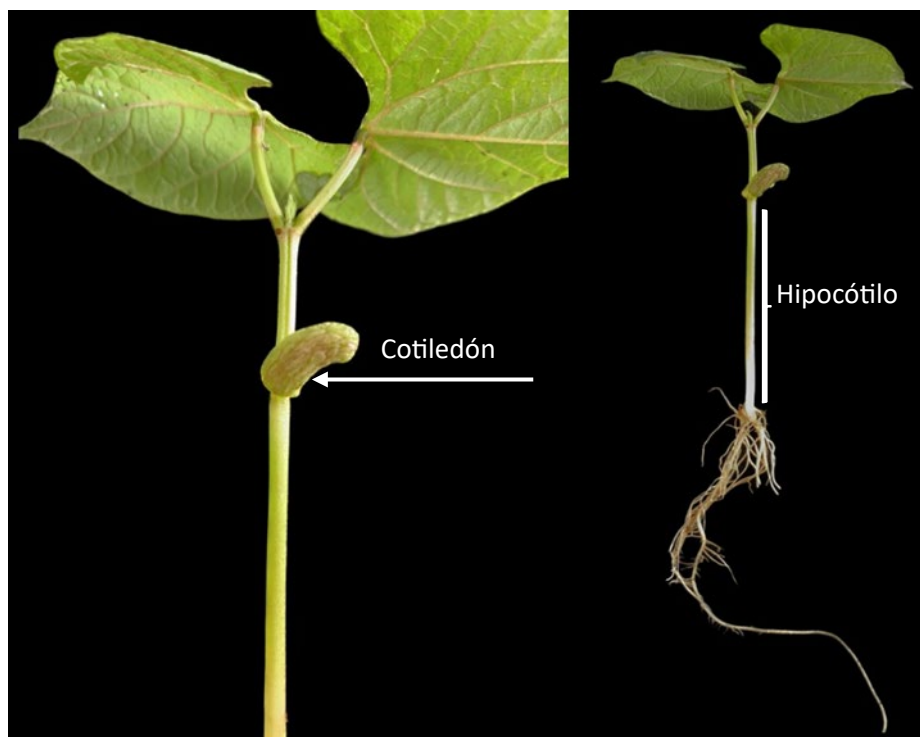
Resultados y Discusión

Caracterización Fenotípica de la Línea SEF-70

La línea promisoría SEF-70 en las primeras etapas de desarrollo presenta un color verde con pigmento café en el hipocótilo y verde con pigmento rosado en los cotiledones (Figura 1).

Figura 1

Plántula de Línea de Frijol Común (Phaseolus vulgaris) SEF-70 a los 10 días después de siembra



Como se observa en las tres pantallas todas pertenecientes a SEF-70, el tallo presenta un hábito de crecimiento de tipo indeterminado arbustivo, el tallo principal muestra una longitud promedio entre 34.6 a 76.6 cm, es de color verde, es un tallo glabro (sin pubescencia), y muestra un tipo de ramificación compacta (Figura 2). Un tallo con hábito de crecimiento de tipo II (indeterminado arbustivo) como el de la línea promisoría SEF-70 es deseado por los productores ya que permite un óptimo manejo agronómico del cultivo sin dañar la planta y al no estar en contacto con el suelo disminuye el ataque de insectos, hongos y bacterias fitopatógenas; por lo tanto, reduce las probabilidades de daño por enfermedades en las hojas y la pudrición de vainas (Rosas 2003).

Las hojas de la línea promisoría SEF-70 muestran un color verde con forma triangular. Con respecto al ancho de la hoja se encuentra en un rango de 11 a 15 cm en la parte baja de la hoja y una longitud promedio de 15 cm (Figura 3).

Figura 2

Crecimiento del Tallo de la Línea de Frijol Común (Phaseolus vulgaris) SEF-70.



Figura 3

Forma de las Hojas de la Línea de Frijol Común (Phaseolus vulgaris) SEF-70.



La antesis de la línea SEF-70 se muestra en el rango de 33 a 45 días después de la siembra. Las brácteas son hojas modificadas que se encuentran presentes en la flor, la línea expresa un tamaño grande de las mismas. El color de las alas, el estandarte y la flor son blancas, mientras que el color predominante del cáliz es el verde como se muestra en la Figura 4.

Figura 4

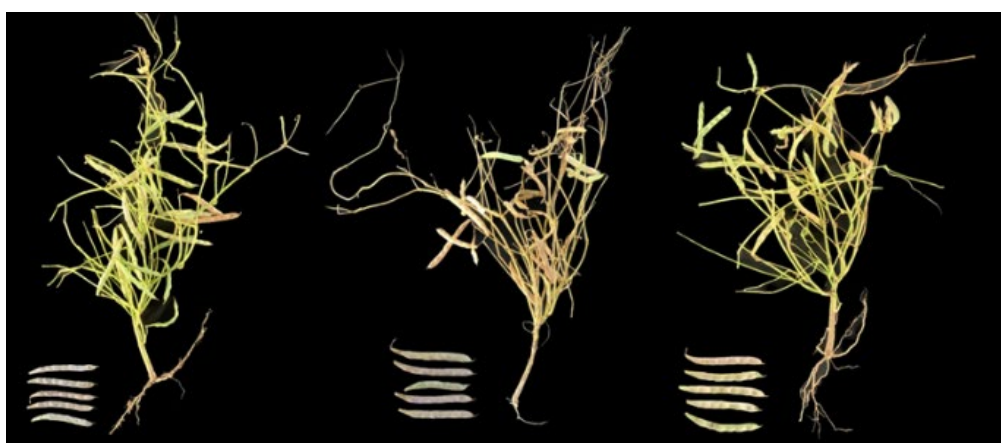
Estructura Floral de la Línea de Frijol Común (Phaseolus vulgaris) SEF-70.



La madurez fisiológica se presentó desde 73 a 78 días después de siembra, la línea experimental SEF-70 muestra una distribución uniforme de las vainas, las cuales expresan el estado de madurez fisiológica pasando de un color verde a amarillo. La forma del ápice de vaina es puntiaguda, con un grado de curvatura medianamente curvo, presenta una dirección normal de la sutura placentar y un perfil predominante de la vaina que se expresa como medianamente curvo (Figura 5).

Figura 5

Estado de Madurez Fisiológica de la Línea de Frijol Común (Phaseolus vulgaris) SEF-70.



Al momento de la cosecha la línea experimental posee un promedio de 25 vainas por planta, dichas vainas poseen un color crema, presentan una longitud con un rango de 10 a 12 cm y un ancho con un rango entre 0.9 a 1.2 cm (Figura 6). La línea promisoría SEF-70 presenta en promedio 5.6

semillas por vaina y el peso de 100 semillas es en promedio de 27 g. Por otra parte, el tamaño de la semilla es de gran influencia para la aceptación por parte de los productores dado que aumenta el valor comercial de la semilla y reduce las densidades de siembras, así como el hecho de obtener mejores rendimientos que compensan el menor precio de este tipo de grano. El tamaño del grano de la línea promisoría SEF-70 es similar al tamaño de la variedad popularizada en la región hondureña Amadeus 77, la cual cuenta con un tamaño mediano y muy similar a la variedad criolla Seda, siendo este el preferido por los agricultores hondureños.

Figura 6

Producción de vainas en la Línea de Frijol Común (Phaseolus vulgaris) SEF-70.

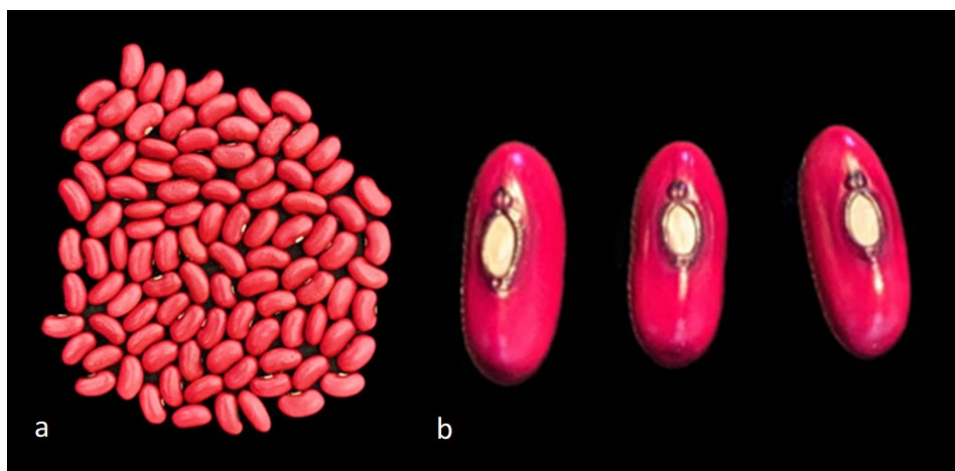


Las semillas se observan con un color primario y secundario rojo, las semillas son brillantes y alrededor del hilo se muestra coloreado. La forma de la semilla es arrañonada, y curva en el lado opuesto al hilo (Figura 7). Las variedades de frijol que presentan un tono de semilla rojo brillante son las más aceptadas por el mercado centroamericano, con un 73% de aceptación contando a Honduras, El Salvador, Nicaragua y una parte de Costa Rica (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura 2009). La variedad criolla Seda, es uno de los favoritos de la población hondureña gracias a su color casi rosado, debido a esto, se enfatiza en el desarrollo de variedades de color rojo claro brillante. Siendo esta uno de los principales obstáculos en Honduras, ya que el color rojo oscuro es característico de las variedades mejoradas (Vargas 1999; Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura 2009) Sin embargo, la línea experimental SEF-70 posee una coloración primaria y

secundaria rojo brillante, determinados al ser observados en los granos cosechados durante el experimento.

Figura 7

Características de la Semillas de la Línea de Frijol Común (Phaseolus vulgaris) SEF-70: a) color de semilla, b) color alrededor del hilo y forma



Características Agronómicas de la Línea SEF-70

Se evaluaron las variables de rendimiento (kg ha^{-1}), peso de 100 semillas (P-100s), días a floración (DF), días a madurez fisiológica (DMF).

Para las variables rendimiento y peso de 100 semillas se observa que la interacción entre genotipo por ambiente ($G \times A$) es estadísticamente significativa (P de 0.0196 y 0.00040, respectivamente), indicando que existe influencia del ambiente sobre el rendimiento de los genotipos (Cuadro 5). En el Lote 27 bajo condiciones de fertilización convencional se observa un rendimiento promedio de $1,378 \text{ kg ha}^{-1}$, mientras que, en La Vega 4 se observan rendimientos de $1,016$ y 439 kg ha^{-1} en las parcelas con y sin fertilización, respectivamente. En cambio, el peso de 100 semillas del lote 27 en promedio es de 26.3 g y en La Vega 4 de 25.5 g y 24.8 g para las parcelas con y sin fertilización, respectivamente (Cuadro 6). La disponibilidad de nutrientes es fundamental para la interacción ambiente por genotipo teniendo un fuerte impacto en términos de rendimiento (Gambin et al. 2016). En el caso de suelos con pobre fertilidad, el rendimiento es considerablemente menor, como lo expresa

(Jacome et al. 2013) quien reportó rendimientos de 370.67 kg ha⁻¹ en los tratamientos con fertilización inorgánica y 217.33 kg ha⁻¹ en los tratamientos testigo sin fertilización, en su investigación del impacto de la fertilización orgánica e inorgánica sobre el rendimiento del frijol común realizado en Cali, Colombia. Esto es confirmado por Flores-Córdova et al. (2020) quienes reportaron un rendimiento del 46.2% y peso de 100 semillas del 20.85% mayor al obtenido con el testigo sin fertilización concordando con los resultados obtenidos en esta investigación.

No hubo diferencia significativa ($P = 0.10$) del rendimiento entre los genotipos evaluados. Sin embargo, el peso de 100 semillas sí mostró diferencias significativas entre los genotipos evaluados ($P < 0.0001$). Esto es explicado por Mondal et al. (2012) ya que reportaron que el peso de 100 semillas es inherente al genotipo, esto debido a la existencia de características que están codificadas en el genotipo de las variedades, tales como la materia seca total y la tasa del crecimiento del cultivo, y que se ligan genéticamente e influyen directamente en el peso de 100 semillas. Estos resultados son similares a los de Aguilar Benítez et al. (2019) quienes reportan los mayores pesos en las semillas de raza jalisco en comparación con las razas mesoamericanas bajo las condiciones climáticas de México.

También existió efecto del ambiente (niveles de fertilización) ($P = 0.02$) en las variables rendimiento y peso de cien semillas, siendo las parcelas con fertilización las que presentaron los mejores rangos. Esto pudo deberse a la fertilidad y disponibilidad de nutrientes de cada lote, ya que en la Vega 4 las cantidades de fósforo son mucho menores comparados a las del lote 27 (Cuadro 1).

Cuadro 5

Rendimiento (RDTO), peso de 100 semillas (P100s), de los genotipos evaluados bajo tres condiciones de fertilidad de suelo, Zamorano, Honduras, 2022.

Genotipo	RDTO kg ha ⁻¹	P100s (g)
Amadeus 77	1087	25
SEF-70	1081	27
Seda	900	24
Honduras Nutritivo	869	26
Media	984	26
Valor P Genotipo x Ambiente	0.01960	0.00040
DMS (0.05) (Genotipo)	256	1.13

Genotipo	RDTO kg ha ⁻¹	P100s (g)
Valor P (Genotipo)	0.10	<0.0001
DMS (0.05) (Genotipo x Ambiente)	0.34	1.95
CV (%)	29.25	5.27
R ²	0.85	0.79

Cuadro 6

Rendimiento (RDTO), peso de 100 semillas (P100s), de los Ambientes evaluados en Zamorano, Honduras, 2022.

Ambiente	RDTO Kg ha ⁻¹	P100s g
Lote 27	1378	26.3
La Vega 4 +FV	1017	25.5
La Vega 4 -FV	439	24.8
DMS (0.05) (Ambiente)	511	1.95
Valor P (Ambiente)	0.02	0.02
CV (%)	29.25	5.27
R ²	0.85	0.79

Para días a floración (DF) y días a madurez fisiológica (DMF) no hubo interacción genotipo por ambiente (Cuadro 8). Sin embargo, sí existieron diferencias entre ambientes ($P = 0.02$), demostrando que en ambientes con baja fertilidad como La Vega 4 sin fertilización los genotipos fueron más tardíos que en el Lote 27 (Cuadro 9). Los ambientes delimitados por la fertilidad del suelo en los lotes reportan diferencias por la presencia de nutrientes limitantes. Considerando que el fósforo es el principal nutriente limitante en regiones tropicales como lo es América Latina para el crecimiento adecuado del frijol (Araya Villalobos et al. 2022), se puede decir que el fósforo es el principal factor del suelo que interviene con diversos procesos de la planta especialmente en el desarrollo vegetativo, la expansión foliar y la floración (INTAGRI 2017).

Quintana Blanco et al. (2017) reportaron que las bajas concentraciones de fósforo disponible en el suelo y el hecho que es rápidamente fijado en fracciones que están pobremente disponibles por las raíces provoca que el cultivo de frijol presente retraso en la floración y genera una formación deficiente de órganos reproductivos. Por otra parte, tiene efecto en la recepción de radiación, esto se debe a que el fósforo hace parte de enzimas fotosintéticas, como rubisco-pep-carboxilasa, también

forma parte de los compuestos análogos como adenosín trifosfato (ATP), NADP, fosfolípidos, ADN y ARN. Por último, tienen un efecto en procesos como la fotosíntesis, la absorción de iones, la síntesis de proteínas, compuestos orgánicos y la translocación de asimilados.

La precocidad de los genotipos es determinada por su genética ($P = 0.0251$), Seda es la variedad con el menor días a floración en relación con las demás variedades (Cuadro 8). Sin embargo, hubo una diferencia altamente significativa entre ambientes ($P = 0.0014$) (Cuadro 9). Además de la diferencia de fósforo entre lotes, otro efecto de la floración tardía puede deberse a los cambios de temperatura durante el periodo desde siembra hasta la floración y madurez fisiológica, ya que el frijol se desarrolla adecuadamente en un rango de temperatura entre 15°C a 27°C (Salcedo 2017). La siembra en el lote 27 fue realizada el 4/10/2022, y los rangos de floración están entre 31-35 días. La Vega 4, fue realizada el 21/10/2022, teniendo un rango de floración entre 33-45 días. Durante estos días la temperatura reportada entre lotes tiene una diferencia de 1°C (Cuadro 3). Según Marqueira López et al. (2017) las diferencias de temperatura pueden hacer que el crecimiento y desarrollo vegetativo en frijol sean lentos y retrasen la floración, haciendo que el ciclo de crecimiento se alargue y por consecuencia los DF sean tardíos.

En los DMF, de acuerdo con el análisis de varianza, el genotipo presentó diferencias estadísticamente significativas ($P = <0.0001$) siendo la variedad criolla (Seda) la que presenta una mayor precocidad en comparación con la variedad comercial Amadeus 77 y con las variedades biofortificadas llegando a madurez fisiológica a los 65 días después de la siembra (Cuadro 8). La madurez fisiológica, es una característica fenológica de alta heredabilidad a pesar de los ambientes, indicando que cada genotipo tiene en su código genético su nivel de precocidad (Beaver y Rosas 1992). Este resultado está acorde con los resultados de Tosquy Valle et al. 2017 donde la diferencia de los DMF se debió principalmente a la diferencia genética de las líneas de frijol evaluadas en su estudio en comunidades de Veracruz y Chiapas.

Asimismo, el ambiente en DMF muestra diferencias significativas ($P = <0.0001$), esto podría deberse a la diferencia de tiempo entre siembra de los lotes: 17 días, donde la temperatura mínima

tuvo una diferencia de un grado (1°C), esto según Syngenta (2016) puede afectar en la fijación de la vainas debido a que estas se retrasan con temperaturas menores a 22 °C, como fue el caso de la Vega 4 con 21.7 °C a diferencia del Lote 27, que tuvo un promedio de 22.3 °C (Cuadro 3).

Además, a la cantidad de fósforo (P) presenten en el suelo pudo haber influido esto según Fernández (2007) la deficiencia de este nutriente genera un crecimiento lento y tiene un efecto en el retraso de la maduración. La falta de fósforo repercute en el alargamiento del tallo de las plantas, produciendo plantas enanas; también siendo responsable de bajos rendimientos, mala calidad del grano y niveles altos de humedad del grano (Herrera 2020). En el frijol, la deficiencia de fósforo tiende a hacer las raíces más susceptibles a las enfermedades; produciendo menor rizosfera para explorar el suelo por agua y nutrientes, por lo tanto, limita la absorción de nutrientes esenciales para la planta.

Cuadro 8

Días a floración (DF), días a madurez fisiológica (DMF) de los genotipos evaluados bajo tres condiciones de fertilidad de suelo, Zamorano, Honduras, 2022.

Genotipo	DF	DMF
Amadeus 77	38	75
SEF-70	37	76
Seda	35	65
Honduras Nutritivo	38	77
Media	37	73
Valor P Genotipo x Ambiente	0.3834	0.0667
DMS (0.05) (Genotipo)	1.57	0.78
Valor P (Genotipo)	0.0251	<0.0001
DMS (0.05) (Genotipo x Ambiente)	2.74	1.36
CV (%)	4.83	1.2
R ²	0.87	0.99

Cuadro 9

Días a floración (DF), días a madurez fisiológica (DMF) de los Ambientes evaluados en Zamorano, Honduras, 2022.

Ambiente	DF	DMF
Lote 27	33	70
La Vega 4 +FV	38	75
La Vega 4 -FV	40	76
DMS (0.05) (Ambiente)	2.55	0.83
Valor P (Ambiente)	0.0014	<0.0001

Ambiente	DF	DMF
CV (%)	4.83	1.2
R ²	0.87	0.99

Caracterización Nutricional de la Línea SEF-70

No se observó diferencia significativa para la interacción ambiente × genotipo ($P = 0.86340$) en el contenido de hierro (Fe) presente en los granos de frijol. La presencia de hierro en el grano de frijol se encuentra ligado al genotipo ($P < 0.0001$) por lo tanto un lote con o sin fertilización presente no afectará al contenido de hierro (Fe) en los granos de frijol de cualquier variedad. Como se observa en el cuadro 10 La línea promisoría SEF-70 posee 56 mg/kg^{-1} , la variedad Amadeus 77 cuenta con 43 mg/kg^{-1} , la variedad criolla Seda 50 mg/kg^{-1} , por último, la variedad Honduras Nutritivo siendo la de mayor contenido de hierro pues se observó 59 mg/kg^{-1} .

Las plantas biofortificadas poseen genes que reducen la concentración de anti nutrientes que pueden afectar la biodisponibilidad (Wilches Ortiz et al. 2022). Por lo tanto, mejoran la biodisponibilidad y la concentración de micronutrientes presentes en el suelo. De igual forma, las plantas mejoran su capacidad para extraer nutrientes esto sucede pues la planta exuda sustancias de origen orgánico (carbohidratos) en la rizosfera, mejorando así las asociaciones con otros microorganismos, contribuyendo con la solubilización de nutrientes poco solubles, y así aumentando la ingesta de hierro y zinc por las raíces de las plantas. lo cual expande la capacidad y el rango que poseen las raíces para que sean capaces para absorber mayor proporción de minerales presentes en el suelo (Hilton 2017).

El frijol es una fuente rica en vitaminas, proteínas y minerales, como el Fe. Las variedades biofortificadas en promedio poseen rangos 50 mg/kg^{-1} a 70 mg/kg^{-1} , por lo tanto, se puede resaltar que la línea promisoría SEF-70 cumple con estas especificaciones siendo un 15% más que los genotipos comerciales actuales en Honduras (Alvarenga 2022). La variedad Honduras Nutritivo, la cual fue liberada en 2016, cuenta con un 15-20% más hierro que las variedades comerciales actuales, con valores promedio de 72 mg/kg^{-1} (Rosas et al. 2016), sin embargo, no es el preferido por los productores

debido a su susceptibilidad al mosaico dorado (BGMV), especialmente en zonas bajas donde predomina el vector mosca blanca (*Bemisia tabaci*).

Cuadro 10

Contenido de hierro en mg kg⁻¹ (Fe) de los genotipos evaluados bajo tres condiciones de fertilidad de suelo, Zamorano, Honduras, 2022.

Genotipo	Fe mg kg ⁻¹
Amadeus 77	43
SEF-70	56
Seda	50
Honduras Nutritivo	59
Media	52
Valor P Genotipo x Ambiente	0.86340
DMS (0.05) (Genotipo)	4.40
Valor P (Genotipo)	<0.0001
DMS (0.05) (Genotipo x Ambiente)	7.61
CV (%)	8.52
R ²	0.84

Cuadro 11

Contenido de hierro en mg kg⁻¹ (Fe) de los Ambientes evaluados en Zamorano, Honduras, 2022.

Ambiente	Fe mg kg ⁻¹
Lote 27	49
La Vega 4 +FV	55
La Vega 4 -FV	52
DMS (0.05) (Ambiente)	6.30
Valor P (Ambiente)	0.12
CV (%)	8.52
R ²	0.84

Caracterización Molecular de la Línea SEF-70

Marcador Molecular SR2 Resistencia de Virus del Mosaico Dorado

Se observó la presencia del gen *bm-g-1* en los genotipos SEF-70 y Amadeus. Los genotipos Seda y Honduras nutritivo no mostraron presencia de este gen. La resistencia al Virus del Mosaico Dorado (BGMV) está conferida por dos genes: uno dominante que controla una reacción de enanismo y uno recesivo que inhibe la clorosis. El gen recesivo que se conoce como *bm-g-1* se encuentra presente en el cromosoma tres y es el que confiere resistencia a la clorosis ocasionada por el virus del mosaico

dorado, es por ello que reduce significativamente la clorosis en la planta de frijol (Velez et al. 1998). Para la detección del gen *bmg-1* mediante SCAR existe una codominancia reflejada en el patrón electroforético. Muestra el estado homocigoto recesivo del gen, en la banda a 530 pb y el homocigoto dominante se muestra a las 570 pb (Erazo 2001).

Actualmente el mosaico dorado es el virus de mayor interés debido que afecta principalmente la producción de frijol en América causando pérdidas entre el 40-100% (Ruiz-Salazar et al. 2019). Debido a eso, se buscan variedades altamente resistentes con el objetivo de obtener genotipos capaces de soportar el daño de dicho factor adverso, mantener los rendimientos altos, estables, y con características comerciales de alta calidad (Acosta-Gallegos et al. 2018).

Marcadores Moleculares SH13 de Mancha Angular

Se observó la presencia del gen *Phg-1* en lo genotipo Honduras Nutritivo. Los genotipos Seda, Amadeus 77 y SEF-70 no mostraron presencia de este gen. El *Phg-1* se observa a 520 pb, es un gen encontrado en cultivares Andinos. Este gen se encuentra estrechamente ligado con el gen *Co-1* en el cromosoma uno por lo que confiere resistencia a enfermedades como la Mancha Angular y la Antracnosis (Gonçalves-Vidigal et al. 2011).

Marcadores Moleculares SNO2 de Mancha Angular

La presencia del gen *phg-2* se observó en los genotipos SEF-70 y Amadeus 77. Los genotipos Seda y Honduras Nutritivo no mostraron presencia de este gen. El locus *Phg-2* se encuentra en cultivares Mesoamericanos y presenta un gen de resistencia dominante único en el cromosoma ocho, en el patrón electroforético se observa presencia a 890 pb.

Marcadores Moleculares E-ACA/M-CTT330 de Mancha Angular

El gen SCAR E-ACA/M-CTT₃₃₀ se observa en el cuadro 12 que en los genotipos SEF-70, Honduras Nutritivo y Amadeus 77 poseen presencia del gen. El genotipo Seda, no mostró presencia de este gen. El marcador SCAR E-ACA/M-CTT₃₃₀, es codominante y se observa en el patrón electroforético el estado homocigoto dominante del gen, en la banda a 330 pb y el homocigoto recesivo se muestra a las 280

pb. El marcador SCAR E-ACA/M-CTT₃₃₀ confiere resistencia a la raza 63-63 de *P. griseola*, considerada como la más virulenta de este patógeno (Mahuku et al. 2011), también confiere una amplia resistencia a la mayoría de las razas de *P. griseola*, y ha sido ampliamente utilizado en mejoramiento en el CIAT (Nay et al. 2019).

La detección de la mancha angular mediante marcadores SCAR utiliza varios genes dominantes que están estrechamente vinculado (*Phg-1*, *Phg-2* y *Phg-3* y dos QTL principales llamados *Phg-4* y *Phg-5*). Sin embargo, en el presente experimento se realizó para el gen *Phg1*, *Phg2* y el marcador E-ACA/M-CTT₃₃₀.

La mancha angular causada por (*Pseudocercospora griseola*) afecta las regiones con temperaturas intermedias (18-28°C), con días secos. Por tal motivo, las regiones de trópico seco son muy susceptibles al ataque de este hongo transmitido por semilla o restos de cosechas anteriores, diseminándose por el viento. Puede causar pérdidas entre 40 y 80% en rendimiento (RED SIGTA 2008). Los síntomas son más frecuentes en hojas y vainas, aunque también aparecen en tallos. En las hojas se observan pequeñas manchas de color gris o café, de forma cuadrada o triangular, con borde amarillento. Estas manchas crecen y se unen. En plantas adultas ocurre amarillamiento y caída de las hojas inferiores. En las vainas se observan manchas café o rojizas circulares con un borde más oscuro. Por tal razón, es importante el implementar cultivos que presenten resistencia a este hongo. Esta resistencia está determinada por varios genes recesivos y su heredabilidad es alta (0.65), favoreciendo su selección para el fitomejoramiento en las razas mesoamericanas de frijol (Diaz Galvez 2001).

Marcadores Moleculares SK14 SA14/ SOAD12

En la electroforesis se observó el gen Ur3 en los genotipos SEF-70 y Amadeus 77 y negativo para las bandas de Seda y Honduras Nutritivo como se observa en el cuadro 12. Por otro lado, el gen Ur-7 solo se encuentra presente en la línea promisorio SEF-70. Se identificó la presencia del gen Ur3 dominante a 620 pb, para el Ur4 se observa una codominancia donde el gen dominante se presenta a 1079 pb y el gen recesivo a 800 pb, por último, el gen Ur-7 a 537 pb.

La roya es favorecida en ambientes con temperaturas moderadas (17-27 °C) y lluvias frecuentes, o noches frescas con períodos prolongados de rocío durante prefloración y floración. En las hojas se observan puntos amarillentos que, después de cuatro días de su aparición, presentan en el centro un punto de color oscuro, que se abre y libera un polvo rojizo o color ladrillo, semejante a herrumbre. Estos puntos se distribuyen por toda la hoja; en algunos casos presentan borde amarillo, cuando la planta se acerca a la madurez, los puntos rojizos se vuelven negros. Ataques muy severos pueden causar amarillamiento y caída de hojas (RED SIGTA 2008).

La roya del frijol (*Uromyces appendiculatus*) es un hongo genéticamente variable lo cual ha generado numerosas razas, divididas entre razas mesoamericanas y las andinas (Tavera et al. 2010) y llega a representar pérdidas de 12.8 a 41.2% mundialmente y de 30% en América Central (Tosquy-Valle et al. 2018). Esta variabilidad genética ha causado que el frijol forme genes de resistencia, por lo tanto, se le conoce como una coevolución de ambas especies. Los genes confieren resistencia de tipo raza-específica; por ello diversas combinaciones de genes podrían conferir resistencia a diferentes razas (Corrêa et al. 2000).

Cuadro 12

Marcadores Moleculares SCAR para la resistencia a enfermedades presentes (+) en la línea promissora SEF-70 y variedades evaluadas en Zamorano, Honduras, 2022

Marcador SCAR	Enfermedad (gen)	Líneas de frijol			
		SEF-70	Amadeus	Seda	Honduras Nutritivo
SR2	MD (<i>bgm1</i>)	+	+	-	-
SK14	RY (<i>Ur3</i>)	+	+	-	-
SA14	RY (<i>Ur4</i>)	-	-	-	-
SOAD12	RY (<i>Ur7</i>)	+	-	-	-
SH13	MA (<i>Phg1</i>)	-	-	-	+
SNO2	MA (<i>Phg2</i>)	+	+	-	-
E-ACA/M-CTT ₃₃₀	MA(<i>G10474</i>)	+	+	-	+

Nota. MD= Mosaico dorado amarillo; MA= Mancha angular y RY= roya B= Bacteriosis

Conclusiones

La línea SEF-70 presenta un alto potencial de rendimiento y adaptación a ambientes diversos, con características fenotípicas y calidad de grano deseables por el mercado hondureño.

La línea SEF-70 tiene un alto valor nutricional, por su mayor contenido de hierro en comparación con las variedades tradicionales y mejoradas. Es capaz de suplir la necesidad de 8-18mg de Fe/día de cada persona, siendo una solución para solventar la insuficiencia de alimentos de calidad en las dietas de las personas pobres de Honduras, reduciendo así los niveles de anemia y desnutrición infantil que actualmente afectan al país.

Se identificaron genes de resistencia a mancha angular, roya y virus de mosaico dorado en la línea de frijol SEF-70.

Recomendaciones

Iniciar cruzas de líneas con resistencia a mancha angular para proveer genes a la línea promisoría, para asegurar una variedad altamente resistente a las enfermedades que más afecta en la región hondureña.

Realizar una evaluación de la aceptación general de los agricultores hondureños de la línea SEF-70 a través de “Pruebas de Agricultores” como siguiente paso para la liberación de la línea.

Realizar estudios sobre el contenido de Zinc para obtener mayores datos sobre este mineral presente en el grano de frijol SEF-70.

Referencias

- Acosta-Gallegos JA, Montero-Tavera V, Jiménez-Hernández Y, Anaya-López JL, Gonzalez-Chavira MM. 2018. 'Dalia', nueva variedad de frijol de grano tipo Flor de Junio para la región centro de México. *Remexca*. 5(2):331–336. doi:10.29312/remexca.v5i2.971.
- Aguilar Benítez G, Vázquez Díaz EG, Castro Rivera R, Cruz Crespo E, Jarquin Gálvez R. 2019. Germinación de cultivares de frijol con características físicas contrastantes bajo condiciones de estrés osmótico. *Remexca*. 10(2):239–251. doi:10.29312/remexca.v10i2.720.
- Alvarenga G. 2022. Establecimiento de lote demostrativo con línea promisorio SEF 70. Honduras: Dirección de Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 2 p.
- Araya Fernández CM, Hernández Fonseca JC. 2006. Guía para la identificación de las enfermedades del frijol más comunes en Costa Rica. Costa Rica: [sin editorial]. 44 p.
- Araya Villalobos R, Chaves Barrantes N, Hernández Fonseca JC, Cordero Morales C. 2022. "UCR 55" Variedad de frijol común mesoamericano de grano negro. *Agronomía Costarricense*. 46(1):77–94. www.mag.go.cr/rev_agr/index.html.
- Beaver J, Rosas JC. 1992. Selection of beans with greater reproductive periods. *Ann. Rep. of the Bean Improv. Coop.* 35:13–14.
- Camarena F, Chura J, Blas Sevillano R. 2014. Mejoramiento Genético y Biotecnológico de Plantas. Lima, Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). 286 p.
- Cantin C. 2018. La utilización de marcadores moleculares en los programas de mejora de melocotonero. España: Centro de Investigación y Tecnología de Aragón (CITA). https://citarea.cita-aragon.es/bitstream/10532/4392/1/2019_022.pdf.
- Díaz Galvez MG. 2001. Caracterización genética de la resistencia del frijol común a la mancha angular [Tesis de pregrado]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. 62 p.
- Fernández MT. 2007. Fósforo: amigo o enemigo. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar. *XLI(2)*:51–57.
- Flores-Córdova MA, Rico-Alderete IA, Sánchez-Chávez E, Soto-Parra, Manual J, Antillón-Leyva R, Salas-Salazar NA, Ojeda-Barrios DL. 2020. Fertilization management in 'Pinto Centauro' beans and its impact on yield, nutritional quality and profitability index. *rchsh*. 26(3):207–222. doi:10.5154/r.rchsh.2020.03.005.
- Gambin BL, Coyos T, Di Mauro G, Borrás L, Garibaldi LA. 2016. Impacto del genotipo, ambiente y manejo sobre el rendimiento de maíz tardío en zona núcleo. *Revista Técnica de la Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa*. 146:39–51.
- Gonçalves-Vidigal MC, Cruz AS, Garcia A, Kami J, Vidigal Filho PS, Sousa LL, McClean P, Gepts P, Pastor-Corrales MA. 2011. Linkage mapping of the Phg-1 and Co-1(4) genes for resistance to angular leaf spot and anthracnose in the common bean cultivar AND 277. *Theor Appl Genet*. 122(5):893–903. doi:10.1007/s00122-010-1496-1.
- González Vélez DF, García M, García Olivar L, Martínez Esteve P, Benito Romeral A, Gonzalo Ciria L. 2023. Alimentos tecnológicamente modificados: objetivo terapéutico. *Revista Sanitaria de Investigación*. 4(3):282. spa. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8908759>.

- Guzmán-Soria E, La Garza Carranza MT de, García Salazar JA, Rebollar S, Hernández Martínez J. 2019. Análisis económico del mercado de frijol grano en México. *Agron. Mesoam.* 30(1):131–146. doi:10.15517/am.v30i1.33760.
- Herrera MP. 2020. Importancia del Fósforo en el incremento de la producción, en cultivos de ciclo corto [Tesis de pregrado]. [sin lugar]: Universidad Técnica de Babahoyo. es. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/8194>.
- Hilton B. 2017. Cultivos biofortificados. *ECHO.* (135):1–9.
- Horton S, Ross J. 2003. The economics of iron deficiency. *Food Policy*; [consultado el 1 de feb. de 2023]. 28(1):51–75. doi:10.1016/S0306-9192(02)00070-2.
- Hummel M, Talsma EF, Taleon V, Londoño L, Brychkova G, Gallego S, Raatz B, Spillane C. 2020. Iron, Zinc and Phytic Acid Retention of Biofortified, Low Phytic Acid, and Conventional Bean Varieties When Preparing Common Household Recipes. *Nutrients*; [consultado el 1 de feb. de 2023]. 12(3). eng. doi:10.3390/nu12030658.
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. 2009. Mapeo del mercado de semillas de maíz blanco y frijol en Centroamérica. Managua, Nicaragua: Armando Ferrufino, Ph.D. ISBN: ISBN: 978-92-9248-035-6.
- INTAGRI. 2017. Síntomas Visuales de Deficiencia de Fosforo en los Cultivos. *Artículos técnicos de INTAGRI.* (103):4.
- Jacome AR, Peñarete W, Daza M. 2013. Fertilización orgánica e inorgánica en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en suelo inceptisol con propiedades ándicas. *Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente.* (12):59–67. Español. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=231130851006>.
- Mahuku GS, Henríquez MA, Montoya C, Jara C, Teran H, Beebe S. 2011. Inheritance and development of molecular markers linked to angular leaf spot resistance genes in the common bean accession G10909. *Mol Breeding.* 28(1):57–71. doi:10.1007/s11032-010-9461-x.
- Marqueira López L, Rojan Herrera O, Pérez Mesa S, Torres de la Noval, Walfredo. 2017. Crecimiento y rendimiento de cultivares de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) en la localidad de Los Palacios. *Cultivos Tropicales.* 38(3):58–63.
- Miklas PN, Kelly JD, Beebe SE, Blair MW. 2006. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical to MAS breeding. *Euphytica*; [consultado el 1 de feb. de 2023]. 147(1-2):105–131. doi:10.1007/s10681-006-4600-5.
- Mondal MMA, Puteh AB, Malek MA, Ismail MR, Rafii MY, Latif MA. 2012. Seed yield of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) in relation to growth and developmental aspects. *ScientificWorldJournal.* 2012:425168. eng. doi:10.1100/2012/425168.
- Morales Santos ME, Peña Valdivia CB, García Esteva A, Aguilar Benitez G, Kohashi Shibata J. 2017. Características físicas y de germinación en semillas y plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre, domesticado y su progenie. *Agrociencia*; [consultado el 1 de feb. de 2023]. 51(1):43–62. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952017000100043&lng=es&nrm=iso.
- Nay MM, Souza TLPO, Raatz B, Mukankusi CM, Gonçalves-Vidigal MC, Abreu AFB, Melo LC, Pastor-Corrales MA. 2019. A Review of Angular Leaf Spot Resistance in Common Bean. *Crop Sci.* 59(4):1376–1391. eng. doi:10.2135/cropsci2018.09.0596.

- Nieves I, Ramírez N, Monroy A. 2012. Bienes públicos regionales para la fortificación de alimentos con micronutrientes en Centroamérica. [sin lugar]. 25 p; [consultado el 1 de feb. de 2023]. <http://www.oda-alc.org/documentos/1364507018.pdf>.
- [PRESANCA II] Programa Regional de Seguridad Alimentaria para Centroamérica. 2011. Centroamérica en Cifras.: Datos de Seguridad Alimentaria Nutricional y Agricultura Familiar. Honduras. 28 p.
- Quintana Blanco WA, Pinzón Sandoval EH, Torres DF. 2017. Efecto de un fosfato térmico sobre el crecimiento y producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv Ica cerinza. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 20(1). doi:10.31910/rudca.v20.n1.2017.62.
- [RED SIGTA] Proyecto Red de Innovación Agrícola. 2008. Guía de Identificación y Manejo Integrado de Enfermedades en Centro América. Managua, Nicaragua: Armando Ferrufino. 8 vol. (vol. 8).
- Ron AM de, González AM, Rodiño PA, Santalla M, Godoy L, Papa R. 2016. History of the common bean crop: its evolution beyond its areas of origin and domestication. *Arbor.* 192(779):a317. doi:10.3989/arbor.2016.779n3007.
- Rosas JC. 2003. El cultivo del frijol común en América Tropical. 2ª ed. Honduras: [sin editorial]. 62 p.
- Rosas JC. 2009. Guía ilustrada para la descripción de las características de variedades del frijol común. 021881ª ed. Zamorano, Honduras: [sin editorial].
- Rosas JC, Escoto D, Meza N. 2016. Propuesta de liberación de la variedad de frijol biofortificado de grano rojo claro brillante "Honduras Nutritivo". Honduras: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, Programa Nacional de Frijol, DICTA/SAG, Programa Nacional de Investigación Agrícola, DICTA/SAG. 12 p.
- Rubio C, González Weller D, Martín-Izquierdo RE, Revert C, Rodríguez I, Hardisson A. 2007. El zinc: oligoelemento esencial. *Nutrición Hospitalaria.* 22:101–107. es. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000100012&nrm=iso.
- Ruiz-Salazar R, Vargas-Vázquez MLP, Hernández-Delgado S, Muruaga-Martinez JS, Mayek Perez N. 2019. Detección de marcadores genéticos asociados a la resistencia a patógenos en frijol ayocote de Puebla, México. *Remexca.* 10(7):1591–1602. doi:10.29312/remexca.v10i7.1956.
- Siwela M, Pillay K, Govender L, Lottering S, Mudau FN, Modi AT, Mabhaudhi T. 2020. Biofortified Crops for Combating Hidden Hunger in South Africa: Availability, Acceptability, Micronutrient Retention and Bioavailability. *Foods.* 9(6). eng. doi:10.3390/foods9060815.
- [SMIA] Sistema Mundial de Información y Alerta. 2015. América Central. Perspectivas de las cosechas de cereales de primera de 2015 y situación de los mercados. [sin lugar]: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 6 p.
- Syngenta. 2016. Determinantes del rendimiento. Argentina: [sin editorial]; [actualizado el 26 de ago. de 2016; consultado el 4 de mar. de 2023]. <https://www.syngenta.com.ar/determinantes-del-rendimiento>.
- Tosquy Valle OH, López Salinas E, Zetina Lezama R, Villar Sánchez B, Rodríguez Rodríguez JR. 2017. Producción de genotipos de frijol negro en condiciones de humedad residual y sequía terminal. *Terra Latinoamericana.* 35(1):29–39.
- Tosquy-Valle OH, López-Salinas E, Esqueda-Esquivel VA, Acosta Gallegos JA, Ugalde-Acosta FJ, Villar-Sánchez B. 2018. Rendimiento y reacción a enfermedades de genotipos de frijol en condiciones de temporal y humedad residual. *Remexca.* 3(4):727–737. doi:10.29312/remexca.v3i4.1426.

- [USAID] Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional. 2022. Honduras Boletín de Precios. Honduras. 3 p.
- Vargas F. 1999. Niveles de aceptación de germoplasma mejorado de frijol evaluado por pequeños agricultores mediante metodologías participativas en la Región del Yeguaré, Honduras. [sin lugar]: [sin editorial].
- Velez JJ, Bassett MJ, Beaver JS, Molina A. 1998. Inheritance of Resistance to Bean Golden Mosaic Virus in Common Bean. *JASHS*. 123(4):628–631. doi:10.21273/JASHS.123.4.628.
- Wilches Ortiz WA, Cruz Castiblanco GN, Sandoval Cáceres YP. 2022. Beneficios de los alimentos transgénicos biofortificados, una revisión del 2012 al 2022. *Higo*. 12(2):81–102. doi:10.5377/elhigo.v12i2.15229.

Anexos

Anexo A

Ubicación del lote la Vega 4, Monte redondo y Lote #27, Zona II

