

# Rendimiento, estabilidad fenotípica y contenido de micronutrientes de frijol biofortificado en el Caribe seco colombiano

## Yield, Phenotypical Stability and Micronutrients Contents in the Biofortified Bean in the Colombian Sub-humid Caribbean

### Rendimiento, estabilidad fenotípica e conteúdo de micronutrientes de feijão biofortificado no Caribe seco colombiano

Adriana Patricia Tofiño-Rivera,<sup>1</sup> Iván Javier Pastrana-Vargas,<sup>2</sup> Aslenis Emidia Melo-Ríos,<sup>3</sup> Stephen Beebe,<sup>4</sup> Rodrigo Tofiño-Rivera<sup>5</sup>

<sup>1</sup> PhD, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Investigador PhD, Corpoica. Codazzi, Colombia. atofino@corpoica.org.co

<sup>2</sup> MSc, Universidad de Córdoba. Investigador máster, Corpoica. Codazzi, Colombia. ipastrana@corpoica.org.co

<sup>3</sup> Microbióloga, Universidad Popular del Cesar. Investigadora Grupo Agroecología y Parasitología Milenio, Universidad Popular del Cesar. Valledupar, Colombia. aslenismelo@unicesar.edu.co

<sup>4</sup> PhD, University of Wisconsin. Líder del Programa de Mejoramiento de Fríjol, CGIAR. Cali, Colombia. s.beebe@cgiar.org

<sup>5</sup> Ingeniero agrónomo, Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. Profesional de apoyo, Corpoica. Codazzi, Colombia. rtofino@corpoica.org.co

Fecha de recepción: 17/9/2015

Fecha de aceptación: 18/04/2016

Para citar este artículo: Tofiño-Rivera AP, Pastrana-Vargas IJ, Melo-Ríos AE, Beebe S, Tofiño-Rivera R. Rendimiento, estabilidad fenotípica y contenido de micronutrientes de genotipos de frijol biofortificado en el Caribe seco colombiano. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*. 17(3):309-329

## Resumen

DOI: [http://dx.doi.org/10.21930/rcta.vol17\\_num3\\_art:511](http://dx.doi.org/10.21930/rcta.vol17_num3_art:511)

La ingesta de proteína y micronutrientes en el Caribe seco colombiano en los últimos años ha sido motivo de preocupación pues cerca del 57% de sus habitantes tiene déficit de aminoácidos, hierro (Fe) y zinc (Zn) en su dieta. Este artículo muestra los resultados de la evaluación multilocal agronómica de rendimiento y calidad de la semilla de nueve genotipos de frijol biofortificado y un testigo local en el Cesar. La metodología incluyó la caracterización química y microbiológica del suelo, la evaluación de reacción a plagas y enfermedades, la valoración multilocal por AMMI y la selección de dos genotipos con el mejor comportamiento y contenido nutricional por ACP. Adicionalmente, para los genotipos priorizados, se determinó el coeficiente de correlación

de Pearson en el contenido de micronutrientes de semilla por localidades y años. Los genotipos biofortificados superaron significativamente en rendimiento y precocidad al testigo. Según el ACP, el grupo de biofortificados se diferenció del testigo en contenido de hierro y zinc en la semilla, lo cual confirmó su superioridad en calidad nutricional, y una mayor resistencia a plagas y enfermedades. El AMMI arrojó que el genotipo SMR43 evidenció estabilidad y predictibilidad entre ambientes y el SMR39 tuvo adaptación específica en la mejor localidad para producción de grano. Ambos genotipos conservaron niveles elevados de micronutrientes entre localidades y a lo largo del tiempo según correlación de Pearson.

**Palabras clave:** frijol, interacción genotipo ambiente, nutrición de las plantas, análisis multivariado

## Abstract

The intake of protein and micronutrients in the Colombian sub-humid Caribbean has been a concern in recent years. About 57 % of the population in the sub-humid Caribbean region, has a deficit of amino acids —iron (Fe) and zinc (Zn)— in their diet. This study shows the results of the agronomic evaluation of the performance and quality of nine genotypes of biofortified bean and one local control in four environments of Cesar. The methodology included chemical and microbiological soil characterization, reaction evaluation to pests and diseases, multi-sited valuation by AMMI and selection of two varieties with better yield and nutritional content by ACP. In addition to these two prioritized genotypes, the Pearson

correlation coefficient between seed micronutrient content for locations and years was determined. The biofortified genotypes surpassed the control group significantly in both yield and precocity. According to the ACP, the biofortified group differed from the control group in iron and zinc content in the seed, confirming its superior characteristics in nutritional quality, and resistance to pests and diseases. The AMMI showed that the genotype SMR43 reflected stability and predictability between environments and SMR39 had specific adaptation in the best location for grain production. Both genotypes retained high levels of micronutrients between locations and years as according to the Pearson correlation.

**Keywords:** Bean, Genotype environment interaction, Plant nutrition, Multivariate analysis

## Resumo

A ingestão de proteína e micronutrientes no Caribe seco colombiano nos últimos anos tem sido motivo de preocupação, pois cerca de 57% dos seus habitantes tem déficit de aminoácidos, ferro (Fe) e zinco (Zn) na sua dieta. Este artigo mostra os resultados da avaliação multilocal agrônômica de rendimento e qualidade da semente de nove genótipos de feijão biofortificado e um controle local no Cesar. A metodologia incluiu caracterização química e microbiológica do solo, avaliação de reação a pragas e doenças, valoração multilocal por AMMI e seleção de dois genótipos com o melhor comportamento e conteúdo nutricional por ACP. Adicionalmente, para os genótipos priorizados, determinou-se o coeficiente de correlação de

Pearson no conteúdo de micronutrientes de semente por localidades e anos. Os genótipos biofortificados superaram significativamente em rendimento e precocidade ao controle. Segundo o ACP, o grupo de biofortificados diferenciou-se do controle em conteúdo de ferro e zinco na semente, o qual confirmou a sua superioridade em qualidade nutricional, maior resistência a pragas e doenças. O AMMI arrojou que o genótipo SMR43 evidenciou estabilidade e preditabilidade entre ambientes e o SMR39 teve adaptação específica na melhor localidade para produção de grão. Ambos os genótipos conservaram níveis elevados de micronutrientes entre localidades e ao longo do tempo segundo correlação de Pearson.

**Palavras chave:** feijão, interação genótipo ambiente, nutrição das plantas, análise multivariada

## Introducción

La problemática de distribución de alimentos ha ocasionado deficiencia de hierro y de otros micronutrientes en cerca de tres billones de personas a nivel global (Beebe et al. 2011). Una estrategia para enfrentar este problema es la biofortificación, que usa el fitomejoramiento para aumentar la cantidad de micronutrientes en granos, raíces y tubérculos, de manera tal que las condiciones nutricionales del núcleo familiar del productor mejoran gracias al autoconsumo (Pachón 2010; Tofiño y Tofiño 2013). Los valores de referencia según el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) en 2013 indican contenidos de hierro en frijol que varían de 50 a 80 ppm. Los valores inferiores o iguales a 50 ppm se consideran bajos, mientras que los valores por encima de 80 ppm se consideran biofortificados. Por otra parte, los niveles de zinc varían entre 20 y 36 ppm, y los valores en las variedades regulares de frijol son generalmente inferiores o iguales a 20 ppm (Brigide et al. 2014).

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa más consumida a nivel mundial, con gran relevancia nutricional debido al contenido de proteína y micronutrientes (McClean et al. 2011). El germoplasma mesoamericano de frijol se ha asociado con el mayor potencial de rendimiento, la mayor diversidad de genes, gran resistencia a enfermedades y plagas, y tolerancia al calor y la sequía (Blair et al. 2012). Lo anterior exhorta a los mejoradores a evaluar y desarrollar cultivares con mayor contenido y disponibilidad nutricional desde el acervo mesoamericano (McClean et al. 2011), especialmente, en el escenario de cambio climático, que afectará la distribución y la cantidad de precipitación anual, las temperaturas, las dinámicas de las plagas y de las enfermedades. Países consumidores como Zimbabue y Malawi liberaron variedades de frijol con más contenido de hierro y zinc (Tofiño et al. 2011), y diversos estudios han verificado el efecto positivo de su ingesta sobre el metabolismo del hierro en humanos, indistintamente del acervo, color de testa y diversidad en la concentración de polifenoles y fitatos (estos últimos son nocivos,

porque son inhibidores de la biodisponibilidad del hierro presente en la semilla) (Tako et al. 2011; Tofiño et al. 2012).

Adicionalmente, el frijol es uno de los productos con mayor pertenencia para las comunidades indígenas de la región y los pequeños productores de la zona de ladera del Cesar, cuyas clases comerciales preferidas son zaragoza, blanquillo y palicero (Tofiño et al. 2011). Estos presentan una demanda de mano de obra significativa para el desarrollo del cultivo y sus costos en el mercado son competitivos respecto a los de la proteína animal. Resulta pertinente, en consecuencia, avanzar en programas de seguridad alimentaria con este producto basados en agricultura familiar (Tofiño et al. 2011), dados los niveles de pobreza regional (44,8%), el alto índice de deficiencias en la canasta básica recomendada (98,1%) y las insuficiencias en el consumo de hierro (que están entre el 34% y el 91%) (Del Castillo et al. 2012; Cancino et al. 2014; Tofiño et al. 2015). Conviene tener presente también la aplicación del sistema de nutrición de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el diseño de políticas públicas, pues aquel contempla la ingesta diaria recomendada —Recommended Dietary Allowance (RDA)— de dichos nutrientes (Simpson et al. 2011; Tofiño et al. 2015).

Deben implementarse, por tanto, programas de microlocalización de frijol que faciliten el aprovechamiento de recursos e insumos disponibles en la región, a fin de posibilitar su adopción por parte de la población vulnerable. Del mismo modo, mediante diferenciación agroecológica y socioeconómica de los ambientes, dichos programas permitirán desarrollar variedades para las más diversas circunstancias y aumentar los beneficios para los agricultores (Beebe et al. 2008). El presente trabajo permitió identificar genotipos promisorios con estabilidad y predictibilidad general y específica, los cuales pueden ser escalados a variedades que se liberen al mercado regional y hagan posible la ingesta de micronutrientes esenciales como hierro y zinc en comunidades urbanas, rurales e indígenas del Caribe seco.

## Materiales y métodos

### Localización espaciotemporal

Durante el periodo 2011-2012 se realizaron pruebas de evaluación agronómica (PEA) bajo condiciones de secano en cuatro localidades del Caribe seco, subregión natural de Colombia con características de clima y suelo contrastante (tabla 1): Manaure y La Paz (Serranía del Perijá), Valledupar y Pueblo Bello (Sierra Nevada de Santa Marta). El grupo de genotipos biofortificados se sembró en octubre del 2010 y enero del 2011. Las variedades Corpoica 39 y 43 se sembraron adicionalmente en 2009, 2011 y 2012 para la cuantificación de micronutrientes.

### Caracterización edáfica

En presiembra, se tomaron muestras de suelo de cada localidad para su análisis físico-químico en el laboratorio de suelos de Corpoica Tibaitatá. Se definió fósforo disponible (Bray II), potasio disponible (método de Olsen), pH (método del potenciómetro relación suelo-agua) y el contenido de materia orgánica (MO) (Walkley-Black modificado), de acuerdo con los métodos descritos en el manual de suelos del ICA (1989). También se estimó la textura (método del hidrómetro). Además, se realizó un recuento de poblaciones de bacterias, hongos y actinos en unidades formadoras de colonia (UFC) por gramo de suelo, mediante diluciones en base diez y siembra en profundidad en agar nutritivo, PDA y medio con nistatina.

### Material a evaluar

El grupo de genotipos de frijol biofortificado evaluado proviene del “Programa de Mejoramiento Genético” del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) (Beebe et al. 2011) en Palmira, Valle del Cauca (Colombia), y corresponde a nueve genotipos de frijol biofortificado rojos, negros, cremas y moteados. Durante dos años se evaluaron 35 genotipos del acervo mesoamericano en la región natural Caribe seco y se seleccionaron los de mejor comportamiento agronómico, características de grano y contenido de micronutrientes (Tofiño et al. 2011). Como testigo se incluyó la variedad tradicional de frijol negro caraota proveniente de los campos de cultivo de productores del municipio de La Paz, Cesar.

### Diseño experimental

La unidad experimental estuvo conformada por seis surcos de cinco metros de largo, con una separación de 1,0 m entre surcos. La parcela efectiva estuvo constituida por los cuatro surcos centrales (20 m<sup>2</sup>); se dejaron dos surcos de borde. El diseño experimental utilizado fue el de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones. Los ensayos se condujeron según el manual técnico de buenas prácticas agrícolas (BPA) en la producción de frijol (Arias et al. 2007). Las condiciones fueron las adecuadas para el cultivo, con el requerimiento hídrico cubierto por la precipitación; sin riego suplementario. En todas las localidades se tomaron

**Tabla 1.** Características agroambientales de las localidades incluidas en la evaluación de frijoles biofortificados y un testigo local

Localidad	Altura (msnm)	Precipitación (mm/año)	Temperatura media (°C)
Manaure	1.135	1.050	24
La Paz	605	1.580	27
Valledupar	1.100	1.050	24
Pueblo Bello	1.186	1.359	22

Fuente: Ideam 2012

datos relacionados con fenología y rendimiento, como número de vainas por planta, número de semillas por vaina y peso de mil semillas (g). También se calculó el rendimiento de grano en toneladas por hectárea, en condiciones de 14% de humedad (Montenegro 2004).

### Reacción a plagas y enfermedades

La incidencia de plagas y enfermedades se registró entre las etapas de desarrollo de la planta de frijol R6 a R8 (floración durante el llenado de vainas). La evaluación fue realizada tomando en cuenta la escala general de 1 a 9 para evaluar germoplasma de frijol frente a patógenos fungosos (como *Colletotrichum lindemuthianum*) y de 1 a 5 para plagas (CIAT 1987).

### Calidad de semilla

Se realizó análisis proximal en semillas crudas recién cosechadas, según recomendación y protocolos de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC 2011). Se evaluó la cantidad de proteína bruta por el método de Kjeldahl en el laboratorio de Corpoica Tibaitatá, y se calculó el contenido de Fe y Zn (mg/kg) por absorción atómica y fluorescencia de rayos X, en los laboratorios de Agrosalud en el CIAT, Palmira. Además, se midió la absorción de agua y el tiempo de cocción (100g de grano) de acuerdo con el método descrito por Raya-Pérez et al. (2014).

### Análisis estadístico

Se llevaron a cabo los siguientes estudios estadísticos: el análisis de varianza de clasificación doble para variables agronómicas; el cálculo del rendimiento promedio en genotipos de frijol y calidad de semilla, para lo cual se efectuó una separación de medias con la prueba de Tukey (0,05 %); y el análisis de varianza de clasificación doble para conocer la varianza y la contribución de cada uno de los factores (genotipos y localidades) y sus interacciones con

la varianza fenotípica total, a partir de un modelo de efectos aleatorios (modelo 2) (Crossa 1990). El modelo matemático correspondiente a la evaluación de las variables de producción fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \beta_i + \tau_j + \varepsilon_{ij} \quad \text{Modelo 1}$$

$$Y_{ij} = \mu + \beta_i + G_j + (G\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad \text{Modelo 2}$$

Donde  $Y_{ij}$  corresponde a la variable respuesta;  $\mu$  es la media general del experimento;  $\beta_i$  son los efectos del bloque/localidad  $i$ -ésimo;  $\tau_j$  y  $G_j$  (modelos 1 y 2, respectivamente) son los efectos  $j$ -ésimos correspondientes a los genotipos en estudio;  $(G\beta)_{ij}$  son los efectos del  $j$ -ésimo genotipo en la  $i$ -ésima localidad; y  $\varepsilon_{ij}$  (modelo 1) y  $\varepsilon_{ijk}$  (modelo 2) son los efectos residuales del modelo (error experimental).

A su vez, para evaluar la estabilidad de los contenidos de Fe y Zn a través de los años y el efecto entre las localidades evaluadas, se aplicaron correlaciones de Pearson, con datos de dos años de los genotipos postulados a liberación (SMR 39 y SMR 43). Esto se hizo solo para los contenidos de Fe y Zn en semillas de plantas establecidas bajo un plan de fertilización similar en la ecorregión, lo cual no incluyó aplicación de micronutrientes. Se repusieron los elementos extraídos según rendimiento esperado.

Las variables categóricas u ordinales resultantes de "evaluaciones visuales" de reacción a insectos y enfermedades se analizaron a través de evaluación no paramétrica de distribución de frecuencias por grados de reacción, seguida de una prueba de Chi-cuadrado (Lagarde et al. 2010). Adicionalmente, se seleccionaron los mejores biofortificados según un análisis de componentes principales (ACP). Para la estimación de la estabilidad y la adaptabilidad fenotípica, se utilizó el modelo multivariado de efectos principales de los genotipos, más los efectos de la interacción genotipo-ambiente, denominados modelos AMMI (Crossa 1990).

## Resultados y discusión

### Caracterización edáfica

En el análisis de suelo se encontró un pH moderadamente ácido en la localidad de Pueblo Bello, ligeramente ácido en Valledupar y neutro en las otras localidades. Manaure y La Paz presentaron altos contenidos de fósforo y calcio, y contenidos

medios a altos de MO. Los contenidos de potasio y magnesio fluctuaron entre bajos y medios. Con relación a la clasificación de la fertilidad del suelo (IGAC c2010), se encontró un nivel medio para las localidades de Valledupar y Pueblo Bello, y una alta fertilidad para La Paz y Manaure. Los suelos de las localidades sobre la Sierra Nevada de Santa Marta son arcillosos y arenosos, y los de la Serranía del Perijá presentan una textura franco-arcillosa (tabla 2).

**Tabla 2.** Resultados de los análisis de suelo de cada una de las localidades, Colombia, 2011

Municipio	Textura	pH	Fisicoquímicos					Fertilidad	Fe	Zn	Microbiológicos		
			MO	P	K	Ca	Mg				B	H	A
			%	Ppm	meq/100 gr suelo						ufc/g x 10 <sup>6</sup>	ufc/g x 10 <sup>4</sup>	ufc/g x 10 <sup>4</sup>
Valledupar	ArcArc	6,0	2,8	48,6	0,3	6,7	1,7	Media	28,4	0,4	44	14	25
Pueblo Bello	ArcArc	4,7	2,3	3,6	0,1	0,8	0,2	Media	465	0,9	7,3	23	7,8
La Paz	FAr	6,8	3,7	63,5	0,3	6,9	2,1	Alta	52	1,1	8,1	1,1	8,9
Manaure	FAr	6,8	1,8	81,3	0,2	9,0	1,4	Alta	12,3	0,5	0,4	1,3	1,5

B: bacterias; H: hongos; A: actinos; FAr: franco-arenosos; Arc: arcillosos; Are: arenosos

Fuente: Elaboración propia, a partir de datos obtenidos de Corpoica (2010)

Los niveles de Fe y Zn en las localidades se encuentran muy por debajo del nivel óptimo (80 ppm de Fe; 8 ppm de Zn) para el cultivo, con excepción de la localidad de Pueblo Bello, cuyos niveles de Fe son altos, favorecidos por el pH ligeramente ácido que facilita su solubilidad (Navarro y Navarro 2013). En general, los suelos de las localidades —aunque contrastantes en textura, pH y MO— pueden considerarse apropiados para el cultivo de frijón (Arias et al. 2007). Con una leve diferencia para la localidad de Manaure en cuanto al recuento de UFC para bacterias (en el que se aprecia también un menor contenido de MO), las características microbiológicas se encuentran en equilibrio para poblaciones de bacterias, hongos y actinos a nivel rizosférico, lo cual favorece la movilidad de nutrientes y minerales como el hierro hacia la planta y facilita el proceso de acumulación en semillas (Garau et al. 2012; Melo et al. 2015).

Tales características han sido reportadas en suelos de la región Caribe, cuya variedad se asocia con la presencia de arcillas expandibles, vertisoles, acumulación de sales y sodio y aridisoles (Blanco et al. 2012). Esto hace imperante la evaluación de la adaptación de los genotipos de frijón a las diferentes condiciones edafoclimáticas de la zona, para brindarle la confiabilidad al productor en cuanto al buen desempeño agronómico de los biofortificados. Los registros indican que los factores asociados al comportamiento agronómico y nutricional superior de los biofortificados corresponden a un pH ligeramente ácido, disponibilidad moderada de Fe y Zn y un contenido de medio a alto de MO. También dependen de la disponibilidad de potasio, pues este influye sobre la estimulación del crecimiento radical y sobre las poblaciones de microorganismos que contribuyen a la movilidad y captura de minerales en las localidades evaluadas (García 2006; Astudillo y Blair 2008).

En el Caribe colombiano, en zonas de ladera, se han identificado contenidos moderados a bajos de micronutrientes, con rangos de Fe de 1,68 a 436 ppm y de Zn de 0,4 a 20,4 ppm, con un promedio de 100 ppm y 3,3 ppm, respectivamente. El 50 % de los suelos es deficiente en Zn, mientras que el 25 % es deficiente en Fe. De las localidades evaluadas, solamente Pueblo Bello supera el promedio registrado de Fe con 465 ppm, en tanto que Manaure es la más baja con 12,3. Por su parte, el contenido de Zn es bajo en todas las localidades: inferior al promedio registrado en los suelos del Caribe por Combatt et al. (2005). En el cultivo de fríjol no es rutinaria la aplicación de micronutrientes, pero en el presente estudio se adicionó fertilización en las localidades en las siguientes cantidades: 35 kg de nitrógeno, 4 kg de fósforo, 15 kg de potasio, 3 kg de calcio, 3 kg de magnesio y 5 kg de azufre por tonelada de grano/hectárea. Esto es lo correspondiente a la reposición de extracción de macronutrientes de acuerdo con el rendimiento de grano esperado de 1,5 t ha<sup>-1</sup>.

En arroz, trigo y maíz, se ha señalado el efecto de la interacción genotipo-ambiente en la acumulación de hierro y zinc, lo cual ha evidenciado que existen localidades que favorecen la acumulación de estos elementos en la semilla de dichos cereales. Adicionalmente, se ha referido que la fertilización fosfórica puede incrementar la concentración de

hierro, más no la de zinc, en la semilla. Este sinergismo se ha asociado al hecho de que la fertilización con fósforo aumenta el crecimiento radicular, lo que podría aumentar la captación de micronutrientes como hierro y zinc, pues estos son comúnmente absorbidos junto con macronutrientes. Sin embargo, se ha encontrado que en la medida que en la planta se incrementa el contenido de fósforo, el contenido de zinc decrece, por lo cual en los frijoles fertilizados con altas concentraciones de fósforo disminuye el contenido de zinc en la semilla (Astudillo y Blair 2008; Joshi et al. 2010; Velu et al. 2012; Velu et al. 2014).

### Variables agronómicas

El comportamiento del germoplasma de frijol biofortificado frente al testigo regional fue ampliamente diverso, pues en todas las variables registradas se presentaron diferencias significativas asociadas al efecto genotípico (tabla 3). En días de floración no existen diferencias estadísticas entre los biofortificados, mientras que en días de madurez fisiológica y días de cosecha sí se presentaron diferencias significativas entre ellos. En la madurez fisiológica, las líneas biofortificadas más precoces fueron SMR43, SMR39, SMN18, SMC14 y SMR43, en tanto que en los días de cosecha solo SCR3 (75 días), SMR39 (75 días) y SMN18 (74 días) mantuvieron su mayor precocidad.

**Tabla 3.** Varianza de los descriptores morfoagronómicos y de rendimiento en el análisis combinado de las cuatro localidades para genotipos de frijol biofortificado

Fuente de variación	GL	Días de floración	Días de madurez fisiológica	Días de cosecha	Altura de la inserción de la vaina	Altura de la planta	Longitud de la vaina	Diámetro de la vaina
Ambiente (A)	3	1038,7**	732,9**	1676,1 ns	1,35	308,43*	8,99**	0,12**
Repetición /A	3	0,90 ns	0,13 ns	53,9 ns	6,14	224,83	2,05	0,003
Genotipo (G)	9	135,12**	113,4**	280 **	172,54**	4830,7**	6,15**	0,249**
Ax G	27	18,32**	19,2**	37,59**	1,75	152,59	0,88	0,003
Error	117	0,35	3,1	12,6	2,99	96,55	0,79	0,0037
CV (%)		1,66	2,65	4,52	12,46	14,8	7,99	2,38

\*, \*\* = niveles de significancia al 0,05 y 0,01, respectivamente; ns = no significativo; CV = coeficiente de variación

Fuente: Elaboración propia

Específicamente en días de floración, el germoplasma evaluado fluctuó entre 34 (SMR39) y 43,50 (testigo) días. En cuanto a los días de madurez fisiológica, los datos fluctuaron entre 63,25 (SMR39, SMN18) y 72,25 (testigo) días. Igualmente, la variable días de

cosecha en el germoplasma evaluado fluctuó entre 74,13 (SMN18) y 87,19 (testigo) días. Otros biofortificados precoces fueron SCR3 y SMR39. En general, todos los biofortificados fueron más precoces que el testigo regional (tabla 4).

**Tabla 4.** Variables agronómicas y de rendimiento promedio del análisis combinado de varianzas en genotipos de frijol evaluados a través de localidades

Genotipo	Días de floración	Días de madurez fisiológica	Días de cosecha	Rendimiento (t ha <sup>-1</sup> )	Vainas / planta	Semillas / vaina	Peso/1000 semillas (g)
SMR43	35,25(b)	65,00(b)	76,38(bc)	1,06(bc)	21,39(cde)	5,60(a)	266,25(bc)
SMN18	34,50(b)	63,25(b)	74,13(c)	1,1(abc)	23,31(cd)	5,32(a)	269,86(bc)
SMC14	35,25(b)	66,13(b)	80,56(abc)	1,26(ab)	25,97(abc)	5,68(a)	258,02(bcd)
SMR4	35,00(b)	67,81(ab)	78,75(bc)	1,363(ab)	29,30(ab)	5,67(a)	245,70(cd)
SMB17	35,25(b)	65,94(b)	81,44(abc)	0,85(cd)	18,98(de)	5,51(a)	244,76(cd)
SMR39	34,00(b)	63,25(b)	75,06(c)	1,14(abc)	19,89(de)	5,718(a)	301,74(ab)
RCB591	33,50(b)	67,19(ab)	76,38(bc)	1,17(abc)	20,29(cde)	5,73(a)	302,99(ab)
DOR390	36,75(b)	68,25(ab)	82,63(ab)	1,268(ab)	30,14(a)	5,82(a)	215,41(d)
SCR3	33,75(b)	65,19(b)	74,94 (c)	1,45(a)	23,76(cd)	5,72(a)	317,97(a)
Testigo	43,50(a)	72,25(a)	87,19(a)	0,66(d)	16,77(e)	5,36(a)	224,72(cd)
DMS	5,2	5,33	7,45	<b>0,346</b>	<b>5,85</b>	<b>0,595</b>	<b>47,31</b>

Las medias con la misma letra en sentido vertical son estadísticamente iguales a  $p < 0,05$  (Tukey). DMS = diferencia mínima significativa.

Fuente: Elaboración propia

Los genotipos evaluados tienen un comportamiento diferencial en los ambientes probados con las siguientes variables: rendimiento, vainas/planta, peso de mil semillas, días de madurez fisiológica y días de cosecha. Respecto a los días de floración, los biofortificados fueron igual de precoces y se diferenciaron estadísticamente del testigo. El grupo de genotipos biofortificados superó estadísticamente al testigo regional en rendimiento de semilla, y el genotipo SCR3 fue el que presentó los mayores rendimientos (1,45 t/ha). El genotipo DOR390 presentó el mayor número de vainas por planta, mientras que en el número de semillas por vaina no

presentó diferencia estadística con el testigo, pero el peso de 1.000 semillas de este genotipo fue menor que el del testigo. El genotipo que presentó mayor peso de semilla fue SCR3. Lo anterior sugiere que el componente de rendimiento más discriminatorio en esta subregión para el grupo de biofortificados y el testigo fue el número de vainas por planta. La consideración de la importancia de esta variable en la determinación del rendimiento es consistente con lo referido en análisis de correlación y de sendero de los componentes del rendimiento, realizado en frijoles tipo bola roja y reventón (López y Ligarreto 2006).

## Reacción a plagas y enfermedades

En general, los resultados del análisis no paramétrico de incidencia de plagas y enfermedades demuestran que existen diferencias en la sanidad observada durante la prueba entre el grupo de biofortificados y el testigo. De igual forma, se aprecian dentro del grupo de biofortificados genotipos con menor frecuencia de daño, como son SMR39 y SMR 43. Esto quiere decir que la antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*) que se presentó en todas las localidades evaluadas registró variabilidad en su incidencia y severidad entre el grupo de biofortificados y el testigo regional. Lo anterior se ha referenciado en investigaciones de caracterización morfoagronómica de cultivares de frijol tradicionales y comerciales, en las cuales se evidencia que estas presentan mayor susceptibilidad a estreses bióticos, como es el caso de las diferencias estadísticas en la incidencia y severidad de la roya en Cuba (López et al. 2012).

En la tabla 5, se observa que solamente en el genotipo DOR390 se presentan diferencias en el número de

plantas sintomáticas de antracnosis entre localidades, mientras que en los otros biofortificados y en el testigo los niveles de afectación se mantuvieron sin diferencia significativa entre los ambientes evaluados. Lo anterior sugiere una interacción fuerte del componente genotípico. Con respecto a la distribución de frecuencias de niveles de enfermedad, se observó que los genotipos SMR39 y SMR43 se diferenciaron estadísticamente del grupo de biofortificados y del testigo, pues mostraron el mayor porcentaje de plantas asintomáticas. Adicionalmente, la distribución del mayor nivel de susceptibilidad identificado en la prueba permitió separar al testigo del grupo de biofortificados, pues este evidenció una mayor cantidad de plantas sintomáticas.

Debido al daño económico alto que puede ocasionar el *Empoasca kraemeri*, se han identificado técnicas económicas y rápidas para evaluar su incidencia. En este sentido, el mejor muestreo para la evaluación de adultos se consigue en la cuarta y quinta hoja a partir del ápice y en las ninfas de la quinta hoja (Moura et al. 2007). La distribución de la incidencia

**Tabla 5.** Evaluación de la frecuencia de plantas en cada escala de antracnosis por genotipo entre localidades

Genotipo	Pueblo Bello	Valledupar	La Paz	Manaure	p>0,05	% plantas (nivel 1)	% plantas (nivel 4)
SCR3	5,47	23,44	3,90	3,90	0,361	9,18	0
SMR4	7,42	7,81	2,73	0	0,272	4,492	0
SMR39	95,31	94,53	92,97	90,62	0,755	93,36	0
SMR43	94,53	91,41	96,88	96,48	0,414	94,82	0
RCB591	13,28	28,12	16,01	14,06	0,551	17,87	0
DOR390	53,12	57,42	47,67	37,5	0,093	48,92	0
SMN18	78,51	70,70	75,0	71,87	0,770	74,02	0
SMB17	49,22	51,56	46,87	44,14	0,434	47,95	0
SMC14	91,80	85,15	85,55	81,25	0,158	85,94	0
TEST.	2,73	0	2,34	3,90	0,401	2,24	87,3

Resultados de Chi-cuadrado. Nivel 1: ningún síntoma de la enfermedad visible; nivel 4: 11-20 % del área foliar infectada.

P: valor de probabilidad de la prueba de Chi-cuadrado

Fuente: Elaboración propia

de lorito verde (*E. kraemeri*) identificada en la prueba sugiere que los genotipos mantuvieron una distribución de frecuencias similar entre localidades; solamente se diferencian DOR390, con comportamiento variable, y los biofortificados, que en general mostraron una menor frecuencia de plantas con daño de lorito verde con respecto al testigo regional.

Se observaron diferencias entre la frecuencia de la incidencia de la plaga en nivel 3 por genotipo (con valor de Chi-cuadrado de 247,058 y  $P=0,000$ ), pues el testigo se separa estadísticamente del grupo de biofortificados por su mayor afectación. La prueba de Chi-cuadrado evidencia diferencias entre la frecuencia de incidencia de plagas en nivel 3 por genotipo (con valor de Chi-cuadrado de 247,058 y  $P=0,000$ ) (tablas 5 y 6). Algunos estudios indican que existen mecanismos de defensa en los genotipos tolerantes al lorito verde que inciden en el desarrollo ninfal, como defensas de tipo morfológico en las hojas de las plantas con presencia de tricomas que impiden la alimentación adecuada de los insectos o que producen heridas en el cuerpo de las ninfas y les ocasionan la muerte. Lo anterior se traduce en que el incremento en el número de insectos en el genotipo susceptible será aproximada-

mente cuatro veces mayor (en un tiempo menor de aproximadamente cinco días) respecto al genotipo tolerante. Esto se asoció con una menor esperanza media de vida de las ninfas y una mayor mortalidad de estas, así como con menores tasas de supervivencia y de reproducción en los genotipos tolerantes (Maya et al. 2000).

El CIAT ha realizado una investigación orientada a evaluar la resistencia de variedades frente al *E. kraemeri*, sin embargo, a la fecha no se tiene oferta de variedades comerciales resistentes. En los ensayos también se presentó ataque de *Phyllophaga obsoleta* Blanchard, una especie-plaga del denominado "complejo chisa" de Colombia, que ataca a diversos cultivos como cereales, pastos y leguminosas (Corpoica 2005). Esta plaga se ha registrado en frijol mesoamericano en zonas cálidas tropicales. Su presencia en el cultivo es consistente con los periodos de siembra en 2011 y 2014, que concuerdan con periodos secos después de los 15 días del desarrollo del cultivo, con pico poblacional durante las primeras fases fenológicas del cultivo (V2) y en la fase fenológica (R4), en la cual da inicio a una segunda generación (Hernández et al. 2013).

**Tabla 6.** Incidencia de *Empoasca kraemeri* por localidad y genotipo

Genotipo	Pueblo Bello	Valledupar	La paz	Manaure	p	(Nivel 3)
SCR3	15,5	15,7	9,0	10,75	0,227	19,9
SMR4	7,75	5,5	11,5	13	0,51	14,8
SMR39	0,0	0,0	0,0	0,0	-	0,00
SMR43	1,0	0,0	1,0	0,0	0,624	0,78
RCB591	12,5	7,0	10,75	13	0,481	15,0
DOR390	18,5	2,0	19,5	20	0,980	13,7
SMN18	4,75	7,25	5,50	7,0	0,867	9,5
SMB17	11,25	17,0	11,25	12,75	0,328	20,4
SMC14	2,0	3,5	5,25	6,25	0,554	6,7
TEST.	57	61,5	55,5	58,5	0,504	90,7

Nivel 3: 3 = 11-25 % porcentaje de plantas afectadas; p: valor de probabilidad de la prueba de Chi-cuadrado

Fuente: Elaboración propia

## Calidad de la semilla de frijol

Se detectaron diferencias altamente significativas según el genotipo para el contenido de hierro en la semilla ( $P < 0,01$ ). El grupo de biofortificados se diferenció estadísticamente del testigo regional, que alcanzó 57,33 ppm de hierro, mientras que el mejor biofortificado (SMR43) acumuló 127,78 ppm. En cuanto al contenido de zinc, los biofortificados no se diferenciaron estadísticamente del testigo regional (tabla 7). Sin embargo, con excepción del genotipo SCR3, todos los genotipos biofortificados estuvieron por encima de 30 ppm, mientras que el testigo regional marcó una media de 27,0 ppm. De modo similar a lo obtenido en esta investigación, se ha registrado variabilidad en el contenido de proteína de genotipos nativos de México, con un rango del 16 % al 29,6 % (Muñoz et al. 2009).

Aun cuando las medias del contenido de proteína en los genotipos biofortificados fueron superiores —entre 23,9 % (SCR3) y 27,2 % (SMR39), comparados con el testigo regional (20,0 %)—, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas, lo cual sugiere que el contenido de proteína no tiene relación con el tiempo de cocción. Esto último diferencia estadísticamente el grupo de genotipos

biofortificados respecto al testigo regional, pues evidencia tiempos menores de cocción en relación con los 90,5 minutos que presentó el genotipo regional. En este sentido, en otros estudios de evaluación de frijoles con contenidos similares de proteína (20 %), dichos contenidos no se relacionaron con el tiempo de cocción, con valores entre los 95 y los 110 minutos (Acosta-Gallegos et al. 2011).

Dentro del grupo de biofortificados también se evidenciaron diferencias. El genotipo SMR43 tardó 66,3 minutos en ablandarse homogéneamente, seguido del SMR39 con 58,4 minutos (tabla 7). Los genotipos que presentan tiempos de cocción entre 43 y 81 minutos se consideran de rápida cocción (Muñoz et al. 2009), tal como es el caso del grupo de biofortificados, a diferencia del testigo. Una tendencia similar se observó en el índice de absorción de agua entre el grupo de biofortificados y el testigo, pues este último solo absorbió 10 ml/100 g, mientras que el mejor biofortificado, nuevamente SMR43, absorbió 60,75 ml. Todos los genotipos biofortificados están dentro de rangos aceptables o superiores, para contenido de hierro y zinc (Alentado et al. 2010), mientras que el testigo se mantuvo por debajo o igual a 50 ppm, es decir, por fuera del rango de alto valor nutricional.

**Tabla 7.** Comparación de medias del análisis combinado de varianzas para variables de contenido de minerales en la semilla de genotipos de frijol biofortificado en las localidades

Genotipo	Contenido de proteína	Contenido de Fe (ppm)	Contenido de Zn (ppm)	Tiempo cocción (minutos)	Absorción agua (ml)
SMR43	24,3(a)	127,78(a)	34,35(a)	66,375(e)	60,7(a)
SMN18	24,3(a)	115,46(ab)	36,62(a)	84,063(b)	16,5(cd)
SMC14	23,6(a)	107,56(abc)	32,94(a)	81,125(bc)	15,2(cd)
SMR4	26,0(a)	103,94(abc)	33,90(a)	79,375(bcd)	15,5(cd)
SMB17	25,1(a)	100,74(abc)	36,00(a)	76,188(d)	20,7(c)
SMR39	27,2(a)	88,62(abc)	34,74(a)	58,438(f)	61,0(a)
RCB591	24,1(a)	82,02(abc)	32,48(a)	77,875(cd)	42,7(b)
DOR390	24,0(a)	78,35(abc)	31,97(a)	80,688(bcd)	39,2(b)
SCR3	23,9(a)	60,85(bc)	27,77(a)	76,125(d)	17,5(cd)
Testigo	20,0(a)	57,33(c)	27,0(a)	90,563(a)	10,0(d)
Promedio	24,3	95,05	33,17	77,081	30,15

Las medias con la misma letra en sentido vertical son estadísticamente iguales con  $P < 0,05$  (Tukey). DMS = diferencia mínima significativa

Fuente: Elaboración propia

Las correlaciones de Pearson se han utilizado en frijol en muy diversas determinaciones, por ejemplo, para verificar la estabilidad de la tolerancia de genotipos a plagas en diferentes épocas de siembra (Boiça Júnior et al. 2015), para identificar métodos eficientes y unidades de muestreo en casos de *E. kraemeri* (Moura et al. 2007), para evaluar la calidad comercial y nutricional del grano en la caracterización de genotipos de frijol nativos de México (Muñoz et al. 2009), para determinar la asociación entre tamaño de semilla y promedios multilocales de hierro y zinc, en una población recombinante de líneas andinas endocriadas de alto y bajo contenido de estos elementos, desarrollada para la identificación de los QTL de micronutrientes (Blair et al. 2011).

En el presente estudio, en general, los contenidos de hierro y zinc se mantienen a través de los años en los diferentes sitios evaluados, según se determinó a partir de las correlaciones realizadas (Pearson,  $Pr < 0,05$ ) de los contenidos de estos nutrientes evaluados en las localidades (Pueblo Bello-P, Manaure y La Paz-C) (tabla 8). Para el hierro, los coeficientes de correlación ( $r$ ) estuvieron entre 0,5844 ( $Pr = 0,0760$ ) y 0,9489 ( $Pr < 0,0001$ ). Sin embargo, se tiene en cuenta que, en su mayoría ( $> 80\%$ ), los valores de " $r$ " fueron superiores a 0,70, lo que indica que existe una alta asociación entre los datos evaluados. Para el caso del zinc, los resultados son similares: más del 90% de los valores de " $r$ " fueron superiores a 0,70 y estuvieron entre 0,6068 ( $Pr = 0,0629$ ) y 0,9881 ( $Pr < 0,0001$ ). Los resultados sugieren que los contenidos de hierro y zinc en la semilla de frijol se mantuvieron estables (tabla 8).

**Tabla 8.** Análisis de correlación (Pearson) de los contenidos de hierro y zinc de los genotipos seleccionados por ACP, SMR39 y SMR43, a través de los años evaluados (2011-2012) en diferentes localidades

	FeQ-2012	FeC-2012	FeP-2011	FeC-2011	FeC-2011	FeC-2011	FeC-2011	FeC-2011
FeQ-2012	1,0000	0,5892	0,6890	0,8199	0,69419	0,92555	0,79451	0,88414
		0,0731	<b>0,0275</b>	<b>0,0037</b>	<b>0,0259</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0105</b>	<b>0,0016</b>
FeC-2012		1,0000	0,8664	0,5844	0,87175	0,76881	0,70916	0,73365
			<b>0,0012</b>	0,0760	<b>0,001</b>	<b>0,0094</b>	<b>0,0324</b>	<b>0,0245</b>
FeP-2011			1,0000	0,5944	0,88091	0,85373	0,84271	0,7721
				0,0699	<b>0,0008</b>	<b>0,0017</b>	<b>0,0043</b>	<b>0,0148</b>
FeC-2011				1,0000	0,71744	0,79961	0,73286	0,79187
					<b>0,0195</b>	<b>0,0055</b>	<b>0,0247</b>	<b>0,011</b>
FeC-2011					1,0000	0,80634	0,94887	0,85564
						<b>0,0048</b>	<b>&lt;,0001</b>	<b>0,0033</b>
FeC-2011						1,0000	0,76719	0,83147
							<b>0,0158</b>	<b>0,0055</b>
FeC-2011							1,0000	0,9318
								<b>0,0008</b>
FeC-2011								1,0000

(Continúa)

(Continuación tabla 8)

	ZnQ-2010	ZnC-2010	ZnP-2011	ZnC-2011	ZnC-2011	ZnC-2011	ZnC-2011	ZnC-2011
ZnQ-2012	1,0000	0,78600	0,88013	0,74629	0,74336	0,60677	0,79953	0,73275
		<b>0,0070</b>	<b>0,0008</b>	<b>0,0132</b>	<b>0,0137</b>	0,0629	<b>0,0097</b>	<b>0,0247</b>
ZnC-2012		1,0000	0,7844	0,9278	0,93844	0,85772	0,92816	0,89137
			<b>0,0072</b>	<b>0,0001</b>	<b>&lt; 0,0001</b>	<b>0,0015</b>	<b>0,0003</b>	<b>0,0012</b>
ZnP-2011			1,0000	0,7142	0,74745	0,73964	0,75453	0,76138
				<b>0,0203</b>	<b>0,013</b>	<b>0,0145</b>	<b>0,0188</b>	<b>0,0171</b>
ZnC-2011				1,0000	0,92779	0,84831	0,94822	0,85891
					<b>0,0001</b>	<b>0,0019</b>	<b>&lt; 0,0001</b>	<b>0,003</b>
ZnC-2011					1,0000	0,95087	0,9881	0,94334
						<b>&lt; 0,0001</b>	<b>&lt; 0,0001</b>	<b>0,0001</b>
ZnC-2011						1,0000	0,92476	0,9134
							<b>0,0004</b>	<b>0,0006</b>
ZnC-2011							1,0000	0,90637
								<b>0,0019</b>
ZnC-2009								1,0000

Fuente: Elaboración propia

Adicionalmente, los genotipos biofortificados presentaron mayor contenido de proteína que el testigo, pero todos se encuentran dentro del rango reportado en diversos estudios: según el tipo de frijol, el contenido de proteínas varía del 14 % al 33 %. Sin embargo, de acuerdo con evaluaciones de tipo biológico, la calidad de la proteína del frijol cocido puede llegar a ser hasta del 70 % comparada con una proteína testigo de origen animal, a la que se le asigna el 100 % (Ulloa et al. 2011). Se resaltan como los mejores biofortificados SMR39 y SMR 43, que presentan el más alto contenido de zinc y hierro, los menores tiempos de cocción y una mayor absorción de agua, con niveles cercanos a los reportados en

otros estudios en los que la variación en 112 variedades tradicionales de frijol, respecto a la capacidad de absorción de agua, fluctuó entre 16,08 % y 127,6 %, con un promedio igual a 97,52 %. El tiempo de cocción del grupo en estudio estuvo en un rango de 40 a 133 minutos (Dios 2012).

Diversos estudios sugieren que la variabilidad genética para los caracteres que confieren calidad nutricional en frijol hace posible que se puedan seleccionar líneas con alto valor nutricional (Beebe et al. 2000; Mesquita et al. 2007; Ribeiro et al. 2008). Sin embargo, también se ha demostrado que los contenidos nutricionales en semillas de frijol están

influenciados por las condiciones ambientales del cultivo, especialmente, por el tipo de suelo y su composición química, así como por la interacción Genotipo x Ambiente (GXA) (Moraghan et al. 2002; Cichy et al. 2005; Silva et al. 2012). A partir de los resultados obtenidos en este estudio, aun cuando existe una influencia marcada de las condiciones ambientales en los contenidos nutricionales de zinc y hierro, se estableció que dichos contenidos se mantienen a través de los sitios y años evaluados. En este sentido, el número de ambientes evaluados

permitió sustentar lo afirmado por Tryphone y Nchimbi-Msolla (2010), quienes indican que la evaluación de líneas de frijol debe realizarse en un número amplio de ambientes que permita exhibir contenidos estables de zinc y hierro. Asimismo, dicha estabilidad del contenido de estos nutrientes puede ser efecto genético de las líneas de frijol, tal como lo indican Nova et al. (2014), de acuerdo con la alta asociación de los niveles de zinc y hierro en diferentes sitios y años que se presentó en las dos líneas evaluadas en el presente estudio (tabla 9).

**Tabla 9.** Variables con mayor asociación de niveles de zinc y hierro que conforman los componentes principales y explican el comportamiento de los genotipos en estudio

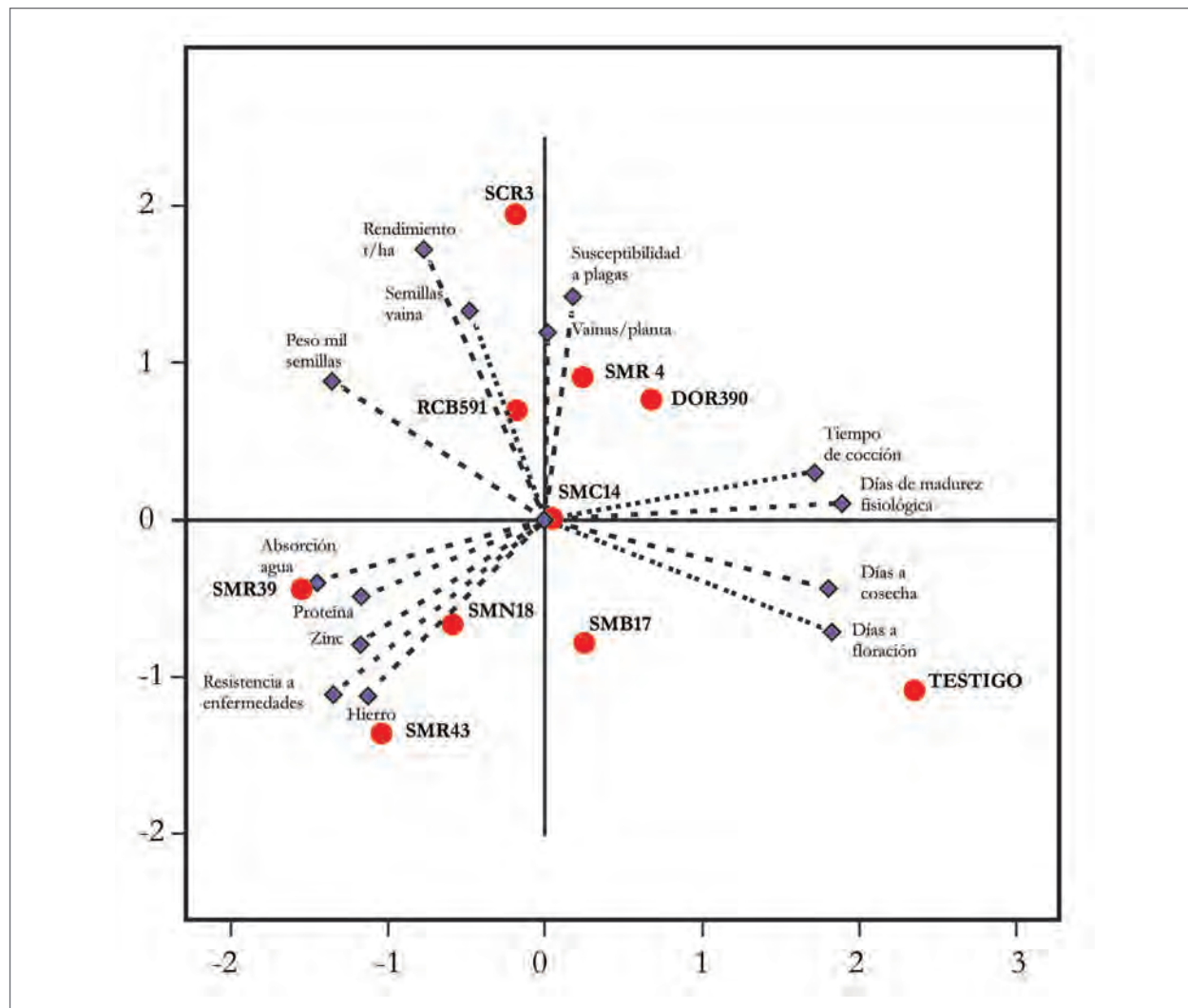
Componente	Variable	Valor de la contribución	% de variación
I	Días de madurez	0,896	38,9 %
	Días a floración	0,866	
	Cosecha	0,857	
II	Rendimiento t/ha	0,818	22,7 %
	Susceptibilidad a plagas	0,676	
III	Vainas/planta	-0,766	14,5 %
	Peso de mil semillas	0,605	
	Contenido de Zn	-0,526	

Fuente: Elaboración propia

### **Análisis de los componentes principales de las variables evaluadas en genotipos biofortificados**

Las tres primeras dimensiones del diagrama de dispersión espacial arrojado por el análisis de componentes principales explican el 76,1 % de la varianza de los genotipos (tabla 9). Las variables de mayor contribución al 38,9 % de la varianza, expresada por el primer componente principal, fueron los días de floración, los días de madurez fisiológica, los días de cosecha y el tiempo de cocción. En el componente

dos, que explica el 22,7 % de la varianza, las variables de mayor contribución son rendimiento y susceptibilidad a plagas. En el tercer componente (14,50 %) influyen el número de vainas por planta, el peso de mil semillas y el contenido de zinc. En el diagrama se evidencia la alta correlación de los biofortificados SMR43 y SMR39 con las variables de contenido de hierro y de resistencia a enfermedades, y con las variables que caracterizan al testigo regional: días de madurez fisiológica, floración, cosecha y un mayor tiempo de cocción (figura 1).



**Figura 1.** Diagrama de dispersión biespacial de componentes principales de varianza entre genotipos de frijol.  
Fuente: Elaboración propia

Los componentes principales dividen los genotipos en cuatro categorías. Ubicados en el primer cuadrante están los biofortificados de mayor rendimiento, SCR3 y RCB591, asociados al mayor peso de mil semillas y al número de semillas por vaina. En el segundo cuadrante se ubican los biofortificados más susceptibles a plagas y con rendimiento mediano, con alto número de vainas por planta: DOR 390 y SMR 4. Estos dos últimos grupos, además, son los biofortificados con menor contenido nutricional de hierro y zinc.

El testigo se ubica en el tercer cuadrante, asociado con el componente principal de varianza, que se

caracteriza por variables de ciclo fenológico largo. En el último cuadrante están los biofortificados de mayor contenido nutricional y mayor resistencia a enfermedades, con alta absorción de agua: SMR43 y SMR39. Estos dos, además, presentan buen rendimiento, razón por la cual son los genotipos propuestos para ser liberados en el Caribe colombiano. La selección parte del aprovechamiento del análisis de interacción GxA, a partir del cual se pueden seleccionar genotipos para regiones o ambientes particulares. Por ejemplo, el SMR39 se recomienda para la localidad de Manaure, puesto que su interacción se capitaliza por incremento en valor fenotípico del carácter (Silva et al. 2012) con rendimiento en este

Rendimiento, estabilidad fenotípica y contenido de micronutrientes de frijol biofortificado en el Caribe seco colombiano

sitio específico. Asimismo, se pueden identificar genotipos para diferentes ambientes dada su estabilidad, como es el caso de SMR43, recomendado para los ambientes de La Paz y Pueblo Bello.

Los genotipos seleccionados SMR43 y SMR39 han sido descritos en otros estudios de frijol como dotados con un alto contenido de hierro y zinc y con resistencia a enfermedades (Acosta-Gallegos et al. 2011). La resistencia a enfermedades está asociada a la inducción abiótica por minerales, ya que estos pueden inhibir la acción de las enzimas pectolíticas de los hongos (CIAT 1986). Adicionalmente, el análisis correlacional de características nutricionales y ambientales para estos genotipos de alto rendimiento (tabla 6) indica que sus propiedades como biofortificados se mantienen en los ambientes evaluados y se sostienen en el tiempo, con variabilidad en contenido de hierro en el grupo. En este sentido, se han reportado estudios en los que se señala que la mayor acumulación de micronutrientes podría ser una característica propia del genotipo (Nova et al. 2014).

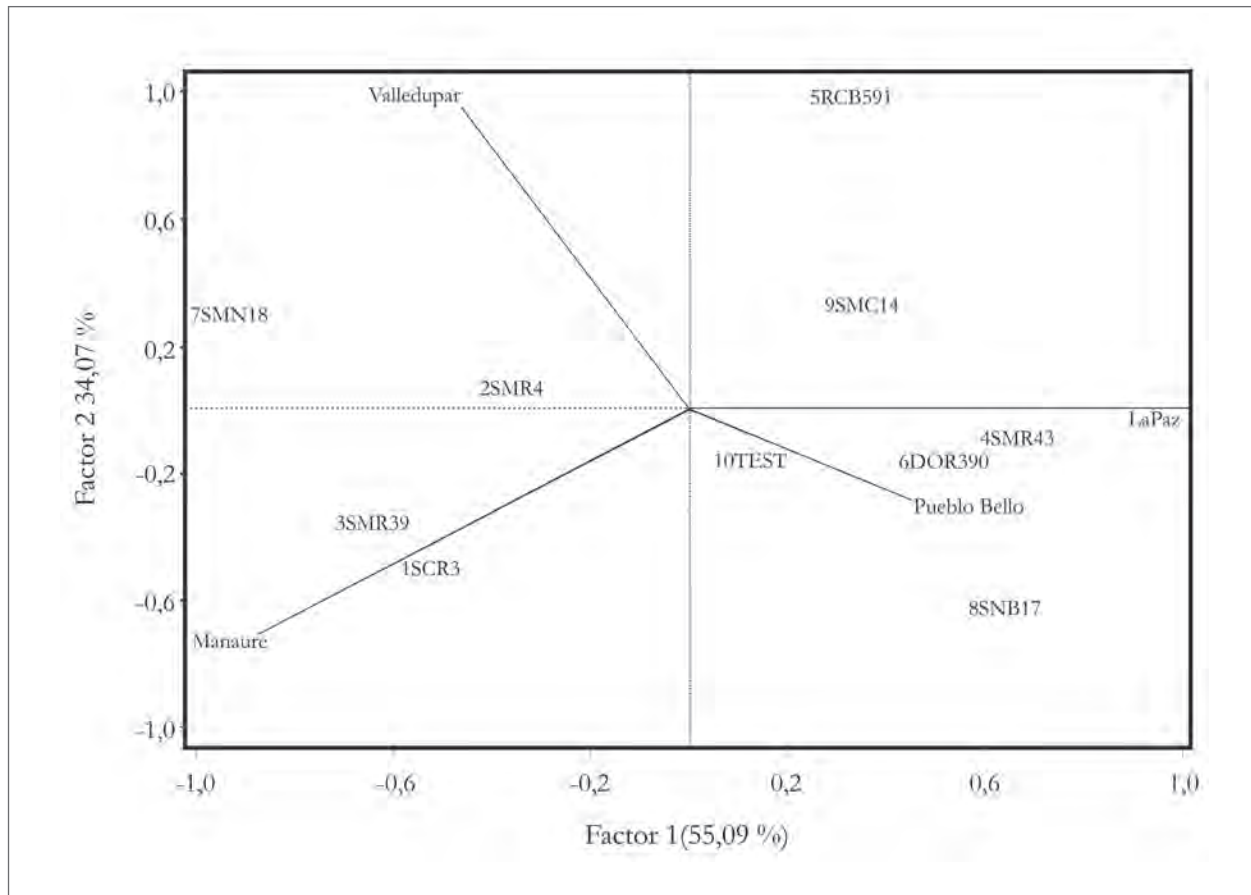
En contraste con lo anterior, otros trabajos han evidenciado que la interacción genotipo-ambiente para la acumulación de micronutrientes en biofortificados depende de la disponibilidad de los micronutrientes en el suelo (Jiménez-Hernández et al. 2012). En el caso de las localidades del Cesar, podría afirmarse que la estabilidad de los genotipos en el rango de biofortificación > 80 ppm de hierro entre localidades y años (Brigide et al. 2014) se debe a factores genéticos intrínsecos a la fisiología de los genotipos; pues, aunque se presenta disponibilidad de hierro favorecido por pH ligeramente ácido en Pueblo Bello, en las otras localidades el hierro es limitado y se presentan deficiencias de potasio. Esto limita el crecimiento radical y, con ello, la capacidad de captación de micronutrientes por parte de la planta. Tal situación obliga a una mayor expresión del componente genético propio de los biofortificados para fraccionar estos micronutrientes hacia la semilla (Astudillo y Blair 2008). Lo anterior se explica porque la eficiencia de la absorción de micronutrientes es producto del transporte de estos a través del floema de partes vegetativas de la planta, y la concentración

en el grano depende del control de los mecanismos de absorción, translocación y redistribución de minerales en diferentes tejidos de las plantas de los biofortificados.

La concentración de minerales depende de la genética del material vegetal y de las condiciones ambientales en que se cultiva (Almeida et al. 2009). En cuanto a los niveles de zinc, la baja disponibilidad de este en el suelo de las localidades evaluadas y la baja concentración en genotipos sugieren la necesidad de incluir fertilización con dicho micronutriente como plan de mejoramiento para llegar a los niveles deseados de biofortificación (40 ppm) (Velu et al. 2014).

La literatura refiere resultados contrastantes respecto a la genética de la acumulación de nutrientes en genotipos biofortificados y su relación con el origen de domesticación. Para germoplasma andino se encontraron QTL en los que se asocian loci de acumulación de nutrientes y faseolina, especialmente, ferritina, con el contenido de proteína. Además, en genotipos andinos, el efecto ambiental tuvo una mayor significancia que la interacción GxA en hierro, contrario a lo evidenciado en la acumulación de zinc, en la cual las correlaciones entre ambientes fueron más variables. Sin embargo, Blair et al. (2011) han evidenciado, de modo similar al presente estudio, correlación entre la acumulación de hierro y zinc, lo cual podría indicar una asociación fisiológica en la absorción de ambos micronutrientes en ambientes con pH ácido.

Por otro lado, Silva et al. (2012) encontraron una interacción GxA significativa para los contenidos de hierro y zinc en la evaluación de líneas de frijol en diferentes épocas. Sostienen, no obstante, que dicha "interacción" no interfiere en la identificación de genotipos con altos y bajos contenidos de estos minerales. Esto ratifica lo encontrado en el presente estudio, en el cual, a pesar de la interacción GxA encontrada para el carácter, la identificación de líneas promisorias a partir de rendimiento y calidad de la semilla fue fácil, ya que los niveles de calidad mineral (hierro y zinc) son estables entre los genotipos a través del tiempo y el espacio (tabla 8).



**Figura 2.** Análisis AMMI. Resultados de la evaluación multilocal de frijoles biofortificados en la región natural del Caribe seco.

Fuente: Elaboración propia

El AMMI permite detectar diferencias entre ambientes y genotipos, así como la interacción de ambos factores (López et al. 2011). Los dos primeros componentes explotan el 89 % de la variabilidad disponible, lo cual valida el rigor de la información y permite pasar al análisis de estabilidad de la respuesta de los genotipos en ambientes. La figura 2 expone la estabilidad de los genotipos; se observa en ella la separación entre localidades. En este caso, los genotipos más estables en su rendimiento fueron DOR390, SMR43 y SMC14, que a su vez coinciden con los de mayor promedio. A estos los sigue el SMR39, que, aunque no tiene la media alta, es estable en los ambientes señalados y presenta un comportamiento superior en Manaure, localidad de mayor expresión productiva en el grupo de genotipos evaluados.

Es de esperarse, en el análisis AMMI, que el genotipo DOR390 presente estas características de

estabilidad, alto rendimiento y buenas propiedades agronómicas, pues en 1994 se les ofreció a los productores del trópico húmedo de México con el nombre de *negro tacaná* (López et al. 1996). Lo anterior refleja no solamente la validez del análisis, sino la eficiencia de los biofortificados SMR39 y SMC14, puesto que estos presentan características productivas similares a las de una variedad comercial. Sin embargo, en el caso del mercado en el Caribe seco, los frijoles negros y cremas no tienen aceptación comercial; solamente tienen demanda para el consumo como grano seco los tipos rosados, rojos brillantes y rojos moteados, que tienen características similares al frijol tipo zaragoza, estradita y palicero. Se hace esta aclaración, puesto que el frijol común, de gran aceptación regional, se conoce como el caupí o cabecita negra (*Vigna unguiculata*) (Tofiño et al. 2011).

Por otro lado, el genotipo SCR3, con excelentes rendimientos en Manaure, Valledupar y Pueblo Bello, también con características nutricionales superiores, presenta problemas de volcamiento, por lo cual requeriría un proceso adicional de selección por planta individual para tratar de eliminar ese rasgo indeseable. Además, dado que su calidad de grano presenta un tiempo de cocción alto, se recomienda para su explotación agroindustrial. Los genotipos DOR390 y SMC14, con excelentes características de rendimiento y calidad de grano, podrían postularse para estrategias de exportación de frijol para Estados Unidos y el Caribe, dado que su valor comercial en el mercado colombiano es limitado y de baja utilidad, mientras que en esos mercados tendrían una gran aceptación (Salinas et al. 2011).

El SMR39 presenta una alta productividad, asociada a la localidad de Manaure, donde los genotipos tienden a mostrar su mayor valor productivo. El registro de este genotipo obedece a una estrategia de microrregionalización de variedades, pues su rendimiento corresponde a la adaptación específica que presenta para la localidad de Manaure (como puede apreciarse en el análisis AMMI). Esto le confiere un potencial importante para iniciar el desarrollo local alrededor de esta cadena, pues se trata de un genotipo altamente productivo en ese agroecosistema específico (Beebe et al. 2008). Por su parte, el otro mejor biofortificado, SMR43, puede utilizarse en las localidades en las que su comportamiento fue evaluado como estable y predecible: su dominio de recomendación es la subregión del Caribe seco (figura 2) (Acosta-Gallegos et al. 2011).

## Conclusiones

Los resultados sugieren que los contenidos de hierro y zinc en la semilla para las variedades Corpoica rojo 39 y 43 se mantuvieron dentro del rango de biofortificación ( $Zn > 25$  ppm;  $Fe > 80$  ppm), a pesar de los registros sobre el efecto de la interacción  $G \times A$ , el tipo y la composición química edáfica; posiblemente, debido a efectos genéticos en las variedades evaluadas. Adicionalmente, el grupo de los genotipos biofortificados evaluados presenta un contenido de hierro superior al testigo y dentro del

rango apropiado para la RDA (95,05 ppm). Los componentes del rendimiento de mayor contribución a la productividad estuvieron asociados al peso de mil semillas y al número de vainas por planta de los genotipos biofortificados (270 g y 24 g respectivamente, frente a 16,77 g y 224 g del testigo). Asimismo, estuvieron en relación contraria o negativa respecto de los ciclos fenológicos largos expresados por el testigo local, que evidenció un mayor número de días de floración y de cosecha: 87,19 días frente a los 74 días promedio de los biofortificados.

En cuanto a la calidad de la semilla del frijol, el grupo de materiales biofortificados se diferenció estadísticamente del testigo regional en aspectos como el tiempo de cocción y el índice de absorción de agua: 77 minutos (grupo de biofortificados) frente a 90 minutos (testigo) y 30,15 ml (biofortificados) respecto a 10 ml (testigo). De acuerdo con los resultados de las pruebas de evaluación agronómica y según las preferencias de los consumidores en cuanto a características físicas del grano, se sugiere solicitar la inscripción en el Registro Nacional de Cultivares (RNC) comerciales de los genotipos de frijol rojo biofortificado SMR39 (con adaptabilidad específica para la zona de Manaure) y SMR43 (para la subregión natural del Caribe seco).

Las estrategias para el óptimo aprovechamiento de los genotipos biofortificados deben incluir la definición de la microlocalización y la fertilización con micronutrientes para aumentar los niveles de biofortificación, especialmente, los de zinc. El biofortificado SMC14 y la línea élite testigo DOR390 no tienen calidad de grano seco para el mercado colombiano, pero podrían recomendarse para aprovechamiento agroindustrial o producción para exportación a Estados Unidos o Centro América, pues las características de semilla se asemejan a las clases comerciales *black beans* y *baby lima*, respectivamente.

## Descargos de responsabilidad

Las fuentes de financiación de la investigación se obtuvieron a partir de la Gobernación del Cesar y el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia. Los autores no manifiestan conflictos de intereses.

## Referencias

- Acosta-Gallegos JA, Sánchez-García B, Jiménez-Hernández Y, Montero-Tavera V, Mendoza-Hernández FM, Herrera-Hernández G, Silva-Rosales L. 2011. Flor de Mayo Dolores: nueva variedad de frijol para riego y temporal en Guanajuato. *Rev Mex Cienc Agric.* [consultado 2014 sep]; 2(6):993-999. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342011000600016](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342011000600016).
- Alentado N, Cabo T, Vitoria I, Dalamau J. 2010. Polivitámicos y minerales en la infancia. ¿Son necesarios? *Acta Pediatr Esp.* 68(1): 25-33
- Almeida S, Alves K, Costa N, Martino H. 2009. Biofortificação: culturas enriquecidas com micronutrientes pelo melhoramento genético. *Rev Ceres.* 56(6):713-718.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 2011. Official methods of analysis of association of official analytical chemists. 19th edition. [consultado 2012 jun]. <http://www.aoac.org/News/OMA19Revisions.pdf>.
- Arias, JH, Jaramillo M, Rengifo T. 2007. Manual: buenas prácticas agrícolas (BPA) en la producción de frijol voluble. La Selva, Colombia: Corpoica y FAO.
- Astudillo C, Blair M. 2008. Contenido de hierro y cinc en la semilla y su respuesta al nivel de fertilización con fósforo en 40 variedades de frijol colombianas. *Agron Colomb.* 26(3):471-476.
- Beebe SE, González AV, Rengifo J. 2000. Research on trace minerals in the common bean. *Food Nutr Bull.* 21(4):387-391.
- Beebe SE, Ramírez J, Jarvis A, Rao I, Mosquera G, Buejo J, Blair, M. 2011. Genetic improvement of common beans and the challenges of climate changes. In: Yadav SS, Redden R, Hatfield JL, Lotze-Campen H, Hall AE. *Crop adaptation to climate change.* New Jersey, EE. UU.: Wiley and Black-Well.
- Beebe SE, Rao I, Cajiao CH, Grajales M. 2008. Selection for drought resistance in common bean also improves yield in phosphorus limited and favorable environments. *Crop Sci.* 48(2):582-592.
- Blair MW, Astudillo C, Rengifo J, Beebe SE, Graham R. 2011. QTL analyses for seed iron and zinc concentrations in an intra-genepool population of Andean common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor Appl Genet.* 122(3):511-521.
- Blair MW, Galeano CH, Tovar E, Muñoz Torres MC, Castrillón AV, Beebe SE, Rao IM. 2012. Development of a Mesoamerican intra-genepool genetic map for quantitative trait loci detection in a drought tolerant × susceptible common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. *Mol Breed.* 29(1):71-88.
- Blanco P, López-Saldaña G, Colditz R, Hardtke L, Mari N, Fischer A, Caride C, Aceñolaza P, Del Valle H, Opazo S, et al. 2012. Propuesta metodológica para la cartografía periódica de la cobertura del suelo en Latinoamérica y el Caribe: estado de situación y avances. *Rev Teledetec.* 38:65-70.
- Boiça Júnior AL, Costa EN, De Souza BH, Da Silva AG, Chiorato AF. 2015. Infestation of *Caliothrips phaseoli* (Thysanoptera: Thripidae) on bean cultivars grown in the winter, rainy, and dry seasons in Brazil. *Environ Entomol.* 44(4):1139-1148.
- Brigide P, Canniatt-Brazaca S, Silva MO. 2014. Nutritional characteristics of biofortified common beans. *Food Sci Technol (Campinas).* 34(3):493-500.
- Cancino A, Meneses G, Santander J, Blanco C, Villate A. 2014. Una mirada al panorama socioeconómico, ambiental y fiscal de la minería del carbón en el Cesar. *Civiliz Empresa Econ.* 5(9):21-37.
- [CIAT] Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1986. Mejoramiento de frijol por introducción y selección: unidad audio tutorial sobre el mismo tema. Voysest O, López M, contenido científico. Fernández F, producción. Cali, Colombia: CIAT.
- [CIAT] Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1987. Sistema estándar para evaluación de germoplasma de frijol. Van Schoonhoven A, Pastor M, editores. Cali, Colombia: CIAT.
- Cichy KA, Forster S, Grafton KF, Hosfield GL. 2005. Inheritance of seed zinc accumulation in navy bean. *Crop Sci.* 45(3):864-870.
- Combatt EM, Martínez G, Polo J. 2005. Caracterización química y física de los suelos agroforestales de la zona alta de Córdoba. *Temas Agrar.* 10(2):5-14.
- [Corpoica] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. 2005. Manual técnico. Producción y utilización de recursos forrajeros en sistemas de producción bovina de las regiones Caribe y valles interandinos. Mosquera, Colombia: Corpoica.
- [Corpoica] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. 2010. Plan de manejo ambiental para el distrito de conservación de suelos de centro de investigación Tibaitatá. Centro de referencia de manejo de suelos y aguas de la sabana de Bogotá en agricultura sostenible. [consultado 2012 oct]. <file:///D:/Descargas/PLAN%20DE%20MANEJO.pdf>
- Crossa J. 1990. Statistical analyses of multilocation trials. *Adv Agron.* 44:55-85.
- Del Castillo S, Fonseca Z, Mantilla M, Mendieta N. 2012. Estudio para la medición de seguridad alimentaria y nutricional en el Magdalena Medio colombiano. Caso Cesar. *Rev Fac Med.* 60(1):13-27.
- Dios O. 2012. Características morfológicas, culinarias y contenido de taninos de semillas de frijol criollo (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado en comunidades de la región montaña de Guerrero; [tesis de maestría]. [Puebla]: Colegio de Postgraduados. [consultado 2014 feb]. <http://www.biblio.colpos.mx:8080/xmlui/handle/10521/1825>.
- Garau G, Castaldi P, Deiana S, Campus P, Mazza A, Deiana P, Pais A. 2012. Assessment of the use potential of edible sea urchins (*Paracentrotus lividus*) processing waste within the agricultural system: influence on soil chemical and biological properties and bean (*Phaseolus vulgaris*) and wheat (*Triticum vulgare*) growth in an amended acidic soil. *J Environ Manage.* 109:12-18.
- García F. 2006. Interacción entre microorganismos; estructura del suelo y nutrición vegetal. *Cult Cient.* 4:50-55.

- Hernández H, Gómez J, Ramos Y, Pérez E, Espinosa R. 2013. Identificación y fluctuación poblacional de Empoasca en variedades de *Phaseolus vulgaris* L. en Villa Clara, Cuba. Cent Agric. 40(2):67-70.
- [Ideam] Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. 2012. Información estaciones meteorológicas Cesar. [consultado 2012 jun]. <http://www.ideam.gov.co/solicitud-de-informacion>.
- [ICA] Instituto Colombiano Agropecuario. 1989. El análisis de suelos, plantas y aguas para riego. Manual de Asistencia Técnica N.º 47. Bogotá, Colombia: ICA.
- [IGAC] Instituto Geográfico Agustín Codazzi. c2010. Laboratorio Nacional de Suelos. [consultado 2012 jun]. [http://www.igac.gov.co/wps/portal/igac/raiz/iniciohome/AreasEstrategicas!/ut/p/c4/04\\_SB8K8xLLM9MSS-zPy8xBz9CP0os3hHT3d\\_JydDRwN3t0BXA0\\_vUK-Mwf28PIwMzE\\_2CbEdFAPsOM0s!/?WCM\\_PORTLET=PC\\_7\\_AIGOBBI1A08FQE0IKHRGNJ320A0\\_WCM&WCM\\_GLOBAL\\_CONTEXT=/wps/wcm/connect/Web++Areas+Estrategicas/Areas+Estrategicas/Areas+Estrategicas/Subdireccion+de+Agrologia/Laboratorio+Nacional+de+Suelos/](http://www.igac.gov.co/wps/portal/igac/raiz/iniciohome/AreasEstrategicas!/ut/p/c4/04_SB8K8xLLM9MSS-zPy8xBz9CP0os3hHT3d_JydDRwN3t0BXA0_vUK-Mwf28PIwMzE_2CbEdFAPsOM0s!/?WCM_PORTLET=PC_7_AIGOBBI1A08FQE0IKHRGNJ320A0_WCM&WCM_GLOBAL_CONTEXT=/wps/wcm/connect/Web++Areas+Estrategicas/Areas+Estrategicas/Areas+Estrategicas/Subdireccion+de+Agrologia/Laboratorio+Nacional+de+Suelos/)
- Jiménez-Hernández Y, Acosta-Gallegos JA, Sánchez-García BM, Martínez MA. 2012. Características agronómicas y contenido de Fe y Zn en el grano de frijol tipo Rosa de Castilla (*Phaseolus vulgaris* L.). Rev Mex Cienc Agric. 3(2):311-325.
- Joshi AK, Crossa J, Arun, B, Chand R, Trethowan R, Vargas M, Ortiz-Monasterio I. 2010. Genotype × Environment interaction for zinc and iron concentration of wheat grain in eastern Gangetic plains of India. Field Crop Res. 116(3):268-277.
- Lagarde P, Medina A, Ramis C, Maselli A. 2010. Evaluación de la resistencia a la bacteriosis común causada por *Xanthomonas phaseoli* en plantas F3 de caraota (*Phaseolus vulgaris*). Fitopatol Venez. 23(2):35-39.
- López E, Acosta J, Tosquy O, Salinas R, Sánchez B, Rosales R, González C, Moreno T, Villar B, Cortinas H, et al. 2011. Yield stability of improved mesoamerican genotypes of black common bean in México. Rev Mex Cienc Agric. 2(1):29-40.
- López E, Acosta J, Tosquy O, Salinas R, Sánchez B, Rosales R, González C, Mosquera Y, Castellanos L, Rey J, et al. 2012. Caracterización morfo agronómica de 19 variedades de frijol común en un agroecosistema del municipio de Cruces. Centro Agric. 39(3):45-52.
- López E, Becerra N, Cano O, Zaleta D, Acosta J. 1996. Adaptación y calidad tecnológica de la variedad de frijol negro tacana. Agron Mesoam. 7(1): 26-34.
- López JE, Ligarreto G. 2006. Evaluación por rendimiento de 12 genotipos promisorios de frijol (*Phaseolus vulgaris* L) voluble tipo bola roja y reventón para las zonas frías de Colombia. Agron Colomb. 24(2):238-246.
- Maya-Hernández V, Vera-Graziano J, Garza-García R. 2000. Parámetros poblacionales de *Empoasca kraemeri* Ross & Moore (Homóptera: Ccadellidae) en genotipos de frijol. Agrocic. 34(5):603-610.
- McClellan PE, Burrige J, Beebe S, Rao IM, Porch TG. 2011. Crop improvement in the era of climate change: an integrated, multi-disciplinary approach for common bean (*Phaseolus vulgaris*). Funct Plant Biol. 38 (12):927-933.
- Melo A, Ariza P, Lissbrant S, Tofiño, A. 2015. Evaluation of agrochemicals and bioinputs for sustainable bean management on the Caribbean coast of Colombia. Agron Colomb. 33(2): 203-211.
- Mesquita FR, Corrêa AD, Abreu CM, Lima RA, Abreu AF. 2007. Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lines: chemical composition and protein digestibility. Cienc Agropec. 31(4):1114-1121.
- Montenegro H. 2004. Guía para la presentación de informes de pruebas de evaluación agronómica. Bogotá, Colombia: ICA.
- Moraghan JT, Padilla J, Etchevers JD, Grafton K, Acosta-Gallegos JA. 2002. Iron accumulation in seed of common bean. Plant Soil. 246(2):175-183.
- Moura MF, Picanço MC, Guedes RNC, Barros EC, Chediak M, Morais GF. 2007. Conventional sampling plan for the green leafhopper *Empoasca kraemeri* in common beans. J Appl Entomol. 131(3):215-220.
- Muñoz-Velázquez EE, Rubio-Hernández D, Bernal-Lugo I, Garza-García R, Jacinto-Hernández C. 2009. Caracterización de genotipos nativos de frijol del estado de Hidalgo, con base a calidad del grano. Agric Tec Mex. 35(4):426-435.
- Navarro G, Navarro S. 2013. Química agrícola, química del suelo y de nutrientes esencial. Madrid, España: Mundi-Prensa.
- Nova J, Pimentel A, Adames A, Contreras F, Pujols A, Jiménez F, y Mella J. 2014. Hierro y zinc en el suelo y su expresión en el grano de arroz. Rev Agropecu For. 3(1):39-46.
- Pachón H. 2010. El impacto nutricional de cultivos biofortificados o cultivos con mayor calidad nutricional. Cali, Colombia: CIAT.
- Raya-Pérez JC, Gutiérrez-Benicio GM, Ramírez JG, Covarrubias-Prieto J, Aguirre-Mancilla CL. 2014. Caracterización de proteínas y contenido mineral de dos variedades nativas de frijol de México. Agron Mesoam. 25(1):01-11.
- Ribeiro N, Jost E, Cerutti T, Maziero S, Poersch N. 2008. Micromineral composition of common bean cultivars and its application in crop breeding. Bragantia. 67(2):267-273.
- Salinas EL, Acosta-Gallegos JA, Tosquy-Valle OH, Salinas-Pérez RA, Sánchez-García BM, Rosales-Serna R, González-Rivas C, Moreno-Gallegos T, Villar-Sánchez B, Cortinas-Escobar HM, et al. 2011. Yield stability of improved Mesoamerican genotypes of black common bean in México. Rev Mex Cienc Agric. 2(1):29-40.
- Silva CA, Abreu AF, Ramalho MA, Corrêa AD. 2012. Interaction genotype by season and its influence on the identification of beans with high content of zinc and iron. Bragantia. 71(3):336-341.
- Simpson JL, Bailey LB, Pietrzik K, Shane B, Holzgreve W. 2011. Micronutrients and women of reproductive potential: required dietary intake and consequences of dietary deficiency or excess. Part II - vitamin D, vitamin A, iron, zinc, iodine, essential fatty acids. J Matern Fetal Neonatal Med. 24(1):1-24.

- Tako E, Blair MW, Glahn RP. 2011. Biofortified red mottled beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in a maize and bean diet provide more bioavailable iron than standard red mottled beans: studies in poultry (*Gallus gallus*) and an in vitro digestion/Caco-2 model. *Nutr J*. 10:113.
- Tofiño A, Melo A, Ruidiaz Y, Lissbrant S. 2015. Evaluation of the potential dietary impact of the implementation of nutritionally improved crops in rural areas of the department of Cesar (Colombia). *Agron Colomb*. 33(3):383-390.
- Tofiño A, Tofiño R. 2013. Contribución de variedades biofortificadas a la seguridad alimentaria: alimentos con mayor contenido nutricional en el contexto de la agricultura sostenible. Saarbrücken, Alemania: Editorial Académica Española.
- Tofiño A, Tofiño R, Cabal D, Melo A, Camarillo W, Pachón H. 2011. Evaluación agronómica y sensorial de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) mejorado nutricionalmente en el norte del departamento del Cesar, Colombia. *Perspect Nutrición Hum*. 13(2):60-71.
- Tofiño A, Tofiño R, Jiménez H. 2012. Determinación del potencial productivo y nutricional de un frijol biofortificado mesoamericano en el Cesar, Colombia. *Vitae*. 19(1 Supl.): 297S-299S.
- Tryphone GM, Nchimbi-Msolla S. 2010. Diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes in iron and zinc contents under screenhouse conditions. *Afr J Agric Res*. 5(8):738-747.
- Ulloa JA, Rosas P, Ramírez J, Ulloa B. 2011. El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. *Rev Fuente*. 3(8):5-9.
- Velu G, Ortiz-Monasterio I, Cakmak I, Hao Y, Singh RP. 2014. Biofortification strategies to increase grain zinc and iron concentrations in wheat. *J Cereal Sci*. 59(3):365-372.
- Velu G, Singh RP, Huerta-Espino J, Peña RJ, Arun B, Mahendru-Singh A, Yaqub Mujahid M, Sohu VS, Mavi GS, et al. 2012. Performance of biofortified spring wheat genotypes in target environments for grain zinc and iron concentrations. *Field Crop Res*. 137:261-267.