



**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO®

**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO  
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL**

**CARACTERIZACIÓN DEL FRIJOL X'PELÓN (*Vigna unguiculata* [L.] Walp) Y SU BIOFORTIFICACIÓN CON ZINC MEDIADA POR HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES**

**TESIS**

Que presenta:

**Amelio Eli Morales Morales**

Como requisito parcial para obtener el grado de:

**Doctor en Ciencias en Agricultura Tropical Sustentable**

Director de tesis:

**Dr. Carlos Juan Alvarado López**

Conkal, Yucatán, México  
Enero, 2022



**TecNM**



Conkal, Yucatán, México, a 11 de enero 2022

El comité de tesis del candidato a grado: Amelio Eli Morales Morales, constituido por los CC. **Dr. Carlos Juan Alvarado López, Dr. Rubén Humberto Andueza Noh, Dr. César Márquez Quiroz, Dr. José María Tun Suarez, y Dr. Arturo Reyes Ramirez** habiéndose reunido con el fin de evaluar el contenido teórico-metodológico y de verificar la estructura y formato de la tesis titulada: **Caracterización del frijol x'pelón (*Vigna unguiculata* [L.] Walp) y su biofortificación con zinc mediada por hongos micorrízicos arbusculares**, que presenta como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencias en Agricultura Tropical Sustentable, según lo establece el Capítulo 2, inciso 2.13.3, de los Lineamientos para la Operación de los Estudios de Posgrado en el Sistema Nacional de Institutos Tecnológicos, dictaminaron su aprobación para que pueda ser presentada en el examen de grado correspondiente.

**ATENTAMENTE**

---

Dr. Carlos Juan Alvarado López  
Director de Tesis

---

Dr. Rubén Humberto Andueza Noh  
Co-director de Tesis

---

Dr. César Márquez Quiroz  
Asesor de Tesis

---

Dr. José María Tun Suarez  
Asesor de Tesis

---

Dr. Arturo Reyes Ramírez  
Asesor de Tesis



**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Conkal

Conkal, Yucatán, México a 11 de enero de 2022.

### DECLARATORIA DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en las secciones de materiales y métodos, resultados y discusión de este documento, es producto del trabajo de investigación realizado durante mi estudio de posgrado y con base en los términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial le pertenece patrimonialmente al Instituto Tecnológico de Conkal. En virtud de lo manifestado reconozco que los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que se deriven de lo correspondiente a dicha información son propiedad de la citada institución educativa.

Amelio Eli Morales Morales

## INDICE DE CONTENIDO

DECLARATORIA DE PROPIEDAD .....	ii
INDICE DE CONTENIDO .....	iv
RESUMEN.....	8
ABSTRACT.....	9
<b>CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....</b>	<b>10</b>
1.1 INTRODUCCIÓN .....	10
1.2 ANTECEDENTES .....	11
1.2.1 Biofortificación.....	11
1.2.2 Caracterización y evaluación de germoplasma.....	15
1.2.3 Importancia económica de <i>Vigna unguiculata</i> a nivel mundial.....	15
1.2.3.1 Producción nacional y regional de frijol x'pelón .....	16
1.2.4 Importancia de los micronutrientes .....	17
1.2.5 La importancia de la biofortificación con zinc.....	17
1.2.5.1 El zinc en el suelo .....	18
1.2.6 Hongos micorrízicos arbusculares .....	19
1.3 HIPÓTESIS .....	20
1.4 OBJETIVOS.....	21
1.5 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL .....	22
1.6 LITERATURA CITADA .....	24
<b>CAPITULO 2. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE SEMILLAS DE FRIJOL CAUPÍ (<i>Vigna unguiculata</i> L. Walp) DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN .....</b>	<b>33</b>
RESUMEN .....	33
<b>CAPITULO 3. CALIDAD NUTRIMENTAL Y NUTRACÉUTICA EN EJOTES DE CAUPÍ (<i>Vigna unguiculata</i> [L] Walp.) DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN .....</b>	<b>35</b>
RESUMEN .....	35

<b>CAPITULO 4. DIVERSIDAD GENÉTICA Y FENOTÍPICA DE VARIEDADES CRIOLLAS DE CAUPÍ (<i>Vigna unguiculata</i> L. Walp.) CULTIVADAS EN SISTEMAS TRADICIONALES DEL SURESTE DE MÉXICO.....</b>	<b>37</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>37</b>
<b>CAPITULO 5. INFLUENCIA DE LA BIOFORTIFICACIÓN CON ZINC MEDIADO POR <i>Rhizophagus irregularis</i> EN EL RENDIMIENTO Y CONTENIDO NUTRIMENTAL DEL FRIJOL CAUPÍ (<i>Vigna unguiculata</i> L. Walp) .....</b>	<b>38</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>38</b>

## RESUMEN

La biofortificación agronómica es una alternativa para ayudar a mejorar el problema de bajo contenido de minerales en los alimentos provenientes de los cultivos básicos. En este sentido, el uso de microorganismos, como los hongos micorrízicos arbusculares, junto con la adición de zinc, pueden ayudar a la planta a tener mayor absorción de minerales, en especial, elementos de baja movilidad en el suelo, como el zinc. Sin embargo, para realizar el programa de biofortificación es necesario seleccionar variedades existentes disponibles que tengan las características deseables, debido a que la variabilidad genética tiene un efecto en la biodisponibilidad de minerales en los alimentos, que define si los micronutrientes se localizan en partes comestibles del cultivo y por ende, es importante realizar caracterización morfológica, mineral y molecular de los cultivos para poder implementar la biofortificación. El objetivo de este estudio fue evaluar la diversidad genética del frijol x'pelón, cultivado en la península de Yucatán y analizar el efecto de la biofortificación con zinc en interacción con hongos micorrízicos arbusculares en las variedades locales. La metodología se realizó en tres etapas: 1) Colecta, caracterización morfológica y mineral de las semillas de 15 variedades locales de frijol x'pelón, tanto en granos, como en ejotes. 2) Análisis de diversidad y relaciones genéticas utilizando marcadores morfológicos y moleculares de tipo ISSR. 3). Se realizó la biofortificación de zinc mediante el uso de HMA en dos accesiones seleccionadas previamente. Los resultados de la primera etapa indicaron amplia diversidad fenotípica en las variedades del frijol x'pelón. Las semillas de mayor tamaño presentaron mayor contenido mineral, siendo las colectas OXC04 y PET07 las que presentaron los mayores contenidos y el potencial de los ejotes del x'pelón se destaca por su valor nutrimental y nutracéutico, siendo la accesión CHE04 la que presentó el mayor contenido de humedad, proteína cruda y fibra cruda y la accesión HEC02 tuvo la mayor concentración de K, Ca, Mg y Zn. Los resultados de la segunda etapa contribuyen a nuestro conocimiento sobre la diversidad genética en variedades del frijol x'pelón cultivado en la Península de Yucatán, y se observó una mayor diversidad entre las variedades que dentro de las mismas. Las variedades FCP13, PET07 y PET08 fueron identificados como los más divergentes genéticamente y de alto rendimiento. Para la tercera etapa, los resultados indican que es viable realizar la biofortificación de Zn adicionado con micorrizas en variedades locales del frijol caupí, ya que el uso de micorrizas ayuda a disminuir el aborto floral, permite incrementar el rendimiento del frijol caupí, y mejora la calidad nutrimental en los granos.

## ABSTRACT

Agronomic biofortification is an alternative to help improve the problem of low mineral content in food from staple crops. In this sense, the use of microorganisms, such as arbuscular mycorrhizal fungi, together with the addition of zinc, can help the plant to have greater absorption of minerals, especially elements with low mobility in the soil, such as zinc. However, to carry out the biofortification program it is necessary to select existing varieties available that have the desirable characteristics, since genetic variability has an effect on the bioavailability of minerals in food, which defines whether micronutrients are located in edible parts of the food. cultivation and therefore, it is important to carry out morphological, mineral and molecular characterization of the crops in order to implement biofortification. The objective of this study was to evaluate the genetic diversity of x'pelón beans, cultivated in the Yucatan peninsula and to analyze the effect of biofortification with zinc in interaction with arbuscular mycorrhizal fungi in local varieties. The methodology was carried out in three stages: 1) Collection, morphological and mineral characterization of the seeds of 15 local varieties of x'pelón beans, both in grains and green beans. 2) Analysis of genetic diversity and relationships using morphological and molecular markers of the ISSR type. 3). Zinc biofortification was performed using AMF in two previously selected accessions. The results of the first stage indicated wide phenotypic diversity in the x'pelón bean varieties. The larger seeds presented the highest mineral content, being the collections OXC04 and PET07 the ones that presented the highest contents and the potential of the x'pelón green beans stands out for its nutritional and nutraceutical value, being the accession CHE04 the one that presented the highest moisture content, crude protein and crude fiber and the HEC02 accession had the highest concentration of K, Ca, Mg and Zn. The results of the second stage contribute to our knowledge about the genetic diversity in varieties of the x'pelón bean cultivated in the Yucatan Peninsula, and a greater diversity was observed among the varieties than within them. The varieties FCP13, PET07 and PET08 were identified as the most genetically divergent and high-yielding. For the third stage, the results indicate that it is feasible to carry out the biofortification of Zn added with mycorrhizae in local varieties of cowpea beans, since the use of mycorrhizae helps to reduce floral abortion, increases the yield of cowpea beans, and improves the yield. nutritional quality in grains.

## CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

### 1.1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la sociedad demanda alimentos ricos en vitaminas y minerales, ya que más de 840 millones de personas padecen problemas de desnutrición. La deficiencia de micronutrientes en humanos está directamente relacionada con el consumo de alimentos producidos en suelos pobres (Cakmak, 2008), por lo tanto, es necesario establecer estrategias que puedan ayudar a disminuir el problema de bajo contenido de minerales en los alimentos.

Una alternativa para lograrlo es la biofortificación, que consiste en incrementar las concentraciones biodisponibles de elementos esenciales en las partes comestibles de plantas de cultivo por medio de la intervención agronómica o selección genética (Bouis, 2003). Se considera un método rápido, eficaz y rentable, que tiene como objetivo principal el incremento del contenido nutrimental, sin la necesidad de sacrificar el rendimiento en la producción de alimentos derivados de los cultivos básicos que predominan en las dietas de la población a nivel mundial, tales como arroz, trigo, papa, yuca y frijoles (Blair *et al.*, 2013; Bouis y Welch, 2010; Brnic *et al.*, 2016; White y Broadley, 2005), principalmente en los países en desarrollo, donde existe pobreza y no cuentan con recursos económicos para comprar productos industriales fortificados (Rojas *et al.*, 2009).

Otra alternativa para mejorar la biofortificación es el uso de microorganismos, que ayudan a la planta a tener mayor absorción de minerales, en especial, los elementos de baja movilidad en el suelo. Entre las alternativas de mayor uso agrícola, están los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) que presentan una simbiosis con la planta y ayuda a aumentar la absorción de nutrientes que son poco solubles en suelos, tales como el fosforo y el zinc (de Valença *et al.*, 2017) y como resultado se obtiene plantas de mejor calidad, mayor rendimiento y de mayor acumulación de micronutrientes en los granos (Ahmed *et al.*, 2016; Timothy *et al.*, 2009; Coccina *et al.*, 2019).

Se han hecho estudios de biofortificación en diferentes cultivos y diferentes minerales, tal es el caso del selenio en brócoli y zanahoria (Banuelos *et al.*, 2015), el yodo en la producción de tomate (Smoleń *et al.*, 2015), el hierro en trigo (Borrill *et al.*, 2014), el frijol común biofortificado con zinc (Cambraia *et al.*, 2019) y frijol x'pelón con hierro (Márquez-Quiroz *et al.*, 2015) y los resultados en el incremento de micronutrientes y rendimientos son prometedores.

Por otro lado, el frijol x'pelón (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) es una especie que se cultiva principalmente en la región sureste de México, donde en el 2019 se logró producir 964.67 toneladas (SIAP, 2021), debido a que es una leguminosa rica en proteína y carbohidratos (Devi *et al.*, 2015). Por lo tanto, se considera un cultivo estratégico para la biofortificación considerando que es un alimento importante en comunidades rurales de la península de Yucatán (Morales-Morales *et al.*, 2019).

Por lo anterior, en este estudio planteamos realizar la biofortificación en el frijol x'pelón, utilizando el zinc como mineral, debido a que es considerado un elemento esencial tanto para las plantas como para el buen desarrollo del ser humano. Sin embargo, a pesar de ser indispensable, es un elemento que presenta problemas de deficiencia en el hombre y se estima que afecta al 33% de la población mundial (Alloway, 2009; Chen *et al.*, 2017), y está considerado el quinto lugar entre los factores de riesgo asociado con la enfermedad y la muerte, en particular con los países en desarrollo y comunidades rurales que basan sus alimentación en productos derivados de la agricultura (Das y Green, 2013; White *et al.*, 2012).

Para la aplicación de la biofortificación agronómica, es necesario caracterizar y explorar la variación existente en los cultivos básicos, tanto de crecimiento como del contenido mineral, así como nuevos enfoques que involucran el descubrimiento de genes (Velu *et al.*, 2014). A menudo, las plantas muestran variación genética en el contenido esencial de micronutrientes, esto es importante porque para desarrollar un cultivo biofortificado es necesario seleccionar variedades existentes y/o accesiones disponibles que tengan las características deseables, lo que permitiría mayor facilidad para cumplir con el objetivo del programa de biofortificación.

## **1.2 ANTECEDENTES**

### **1.2.1 Biofortificación**

En el mundo, se estima que el 60 % de la población mundial sufre de deficiencia de hierro (Fe), 30 % de zinc (Zn), 30 % de yodo (I) y aproximadamente 15 % de selenio (Se) (Philip J. White *et al.*, 2012). En México, de acuerdo al CONEVAL (2016), existen 53 millones de personas pobres, de las cuales 24.6 viven en condiciones de vulnerabilidad por carencia de acceso a la alimentación. Aunado a lo anterior, el 26 % de la población mexicana

presenta deficiencias de hierro y 28 % de Zn (Rivera-Dommarco, 2012), especialmente, en zonas rurales y comunidades indígenas, que basan su alimentación en cultivos básicos.

Uno de los mayores desafíos del futuro cercano, es producir alimentos suficientes y nutritivos, sin afectar el ambiente, considerando los efectos adversos como el panorama del cambio climático y el crecimiento rápido de la población (Tripathi *et al.*, 2020). Por todo lo anterior, existen diferentes técnicas para solventar los problemas de producción de alimentos, y al mismo tiempo, mejorar la calidad nutrimental, entre las de mayor relevancia son la fortificación y suplementación (Baltussen *et al.*, 2004; Paganini y Zimmermann, 2017). Estos enfoques han presentado buenos resultados, sin embargo, presentan ciertas desventajas, como la estabilidad limitada de los aditivos y que estos mismo aditivos también pueden afectar la calidad de los alimentos provocando malestares en niños (Diaz-Gomez *et al.*, 2017; Kim, 2007), además, existe una tercera desventaja y es considerada la principal limitación de la fortificación convencional, debido a que están desarrollados principalmente para áreas urbanas centralizadas, para países con buena infraestructura técnica y las redes de distribución necesarias, por lo que lo hace poco apropiada para los países en desarrollo que dependen en gran manera de la agricultura (Bouis y Welch, 2010).

Otra alternativa es la biofortificación agronómica de cultivos básicos. Esta técnica puede abordar los tres problemas, al facilitar el desarrollo de cultivos bajos en nutrientes que se pueden cultivar y mejorar la calidad mediante prácticas agrícolas existentes, tanto para países desarrollados, pero principalmente a los países en desarrollo (Diaz-Gómez *et al.*, 2017).

A nivel internacional no existe una definición reconocida para biofortificación, sin embargo, Bouis, (2003) lo definió como el método para incrementar las concentraciones biodisponibles de elementos esenciales en partes comestibles de plantas de cultivo por medio de la intervención agronómica o selección genética. Mientras que Mayer *et al.*, (2008) lo definen como la capacidad biosintética o fisiológica que tienen las plantas para producir o acumular los nutrientes deseados.

El objetivo final de la biofortificación es incrementar el contenido nutrimental en los alimentos derivados de los cultivos básicos, porque dominan las dietas a nivel mundial, sin tener la necesidad de sacrificar el rendimiento de los mismos, principalmente en los países en desarrollo, donde existe pobreza y no cuentan con recursos económicos para comprar productos industriales fortificados (Rojas *et al.*, 2009).

Los resultados del incremento al contenido de micronutrientes de los cultivos básicos a través de biofortificación son especialmente prometedores, como se ha demostrado en los múltiples trabajos de biofortificación que se han realizado, por ejemplo Oikeh *et al.* (2003) incrementaron significativamente el Zn en el grano de maíz, mientras que Haas *et al.* (2005) reportaron un incremento de hasta cinco veces el contenido de hierro en el grano de arroz. Por otra parte, se ha demostrado que la biofortificación no solo ha incrementado los micronutrientes, además, también compuestos bioactivos como fenoles totales. Park *et al.* (2014) reportan que al biofortificar con hierro la alfalfa, incrementó de 8.0 a 13.5%.

La biofortificación es un método rentable para llegar a las personas que basan su alimentación en cultivos básicos y de variedades locales. Sin embargo, para asegurar que resulte efectiva, es de vital importancia conocer el material vegetal, desde las características fenológicas, agronómicas, nutrimentales y genéticas para seleccionar las de mayor potencial para ayudar a solventar los problemas en la seguridad y calidad alimentaria. Así mismo, es necesario establecer las concentraciones en las cuales el grano de frijol pueda brindar al consumidor los niveles recomendados para evitar deficiencias nutricionales.

Existen diferentes estrategias para realizar el proceso de biofortificación y cumplir con los objetivos principales que son acumular micronutrientes en los tejidos vegetales comestibles y aumentar su biodisponibilidad para los seres humanos.

1. Una manera es la biofortificación genética, esta implica el enfoque de mejoramiento clásico, o convencional que consiste en mejoramiento de nuevas variedades de cultivos con el potencial genético para acumular una alta densidad de minerales en los granos (Khush *et al.*, 2012), sin embargo, para llegar a ese paso, es necesario primero caracterizar y explotar la variación genética que existe. Además, la biofortificación genética también incluye nuevos enfoques de la ingeniería genética que involucran el descubrimiento de genes (Saltzman *et al.*, 2013; Velu *et al.*, 2014) y mecanismos moleculares que afectan la acumulación de minerales en plantas (White y Broadley, 2005). Por ejemplo, se desarrollaron productos modificados como el arroz dorado que fue manipulado para producir beta-caroteno, al realizar una modificación del ADN utilizando información de la planta *Narcissus pseudonarcissus* (Ye *et al.*, 2000) o papas genéticamente modificadas para alterar su composición nutricional (Prescha *et al.*, 2003).

Las plantas a menudo muestran variación genética en el contenido esencial de micronutrientes lo que permite que los programas de mejoramiento de plantas mejoren los niveles de minerales y vitaminas en los cultivos.

Lo anterior es importante debido a que para desarrollar un cultivo biofortificado es necesario seleccionar variedades de cultivos existentes y accesiones disponibles para evaluar la diversidad genética e identificar plantas con los caracteres deseables.

2. Otro método aplicado en la biofortificación de alimentos es durante el manejo agronómico del cultivo, que se centra principalmente en la aplicación y optimización de algún micronutriente por medio de fertilizantes a través de las hojas de las plantas y / o la mejora de la solubilización y movilización de elementos minerales desde el suelo (Gomez-Galera *et al.*, 2010), con el fin de generar cambios en la composición de los alimentos de origen vegetal, que ha permitido desarrollar productos como frijol caupí biofortificadas con hierro (César Márquez-Quiroz *et al.*, 2018) al igual que cebollas fortificadas con zinc (Almendros *et al.*, 2015), lechuga con yodo (Smoleń *et al.*, 2015), chícharo fortificado con zinc y selenio (Poblaciones y Rengel, 2016; Poblaciones *et al.*, 2013), todos los trabajos enfocados a las necesidades nutricionales de la población.

Aunque es probable que la ruta de mejoramiento de plantas sea el enfoque más rentable a largo plazo, por el momento, la biofortificación agronómica proporciona respuestas inmediatas y efectivas para mejorar la densidad de minerales en las dietas derivadas de cultivos, mientras se llevan a cabo los programas de mejoramiento de plantas (de Valença *et al.*, 2017).

Así mismo, las dos técnicas se pueden llevar a cabo juntas, debido a que al aumento de las concentraciones de los minerales mediante la aplicación de fertilizantes también se puede complementar con cultivos que tienen una mayor capacidad para adquirir y acumular estos minerales en sus porciones comestibles (White y Broadley, 2009).

En México, la importancia de los recursos fitogenéticos existentes es invaluable, debido a que estos pueden ser utilizados en mejoramiento genético para resolver problemas básicos que tienen los cultivos en su explotación comercial (López-Guzmán *et al.*, 2015), por lo que es fundamental realizar estudios de caracterización y evaluación de estos recursos que

permitan determinar su potencial como fuente de germoplasma en el mejoramiento genético y trabajos de biofortificación.

### **1.2.2 Caracterización y evaluación de germoplasma**

La caracterización y conservación de los recursos fitogenéticos es de gran importancia estratégica para la población ya que muchos materiales se están reduciendo. Actualmente existe un desplazamiento de las variedades nativas por las exigencias del mercado, así como por el exceso de productos químicos y destrucción de ecosistemas que conducen a la erosión genética (Jaramillo y Baena, 2000). El objetivo principal de la caracterización de los recursos fitogenéticos es medir la variabilidad genética de una colección mediante el uso de descriptores definidos (Hernández-Villareal, 2013).

La caracterización e identificación tradicional de variedades se ha basado en el empleo de caracteres morfológicos o fenotípicos como la floración, tipo de planta, color de la flor, tipo de semilla, color de la semilla, tamaño de la semilla, tolerancia a estrés y atributos agronómicos cuantitativos (Stoilova y Pereira, 2013; Wamalwa *et al.*, 2016), sin embargo, el uso de marcadores morfológicos presenta algunas limitantes en la caracterización, pues su expresión puede estar sujeta a factores ambientales o fenológicos (Tan *et al.*, 2012). Además de estos, en la actualidad se han empleado otros tipos de marcadores como los bioquímicos y moleculares, siendo estos últimos los que permiten la caracterización de la variabilidad que no es detectable a simple vista son complemento útil para la caracterización morfológica de cultivares y poseen grandes ventajas, debido a que son independientes de los efectos ambientales o del tejido, permiten la identificación del cultivar en las primeras etapas del desarrollo de la planta, son muy abundantes, altamente reproducibles y de bajo costo (Malviya *et al.*, 2012; Tan *et al.*, 2012).

La variabilidad genética dentro de las mismas especies tiene un efecto en la biodisponibilidad de minerales en los alimentos, debido a que define si los micronutrientes se localizan en partes comestibles del cultivo y ahí parte la importancia de la caracterización para poder implementar la biofortificación (de Valença *et al.*, 2017).

### **1.2.3 Importancia económica de *Vigna unguiculata* a nivel mundial**

El género *Vigna* está formado por 150 especies distribuidas en el mundo, principalmente en regiones tropicales y subtropicales que se encuentran agrupadas en los subgéneros,

*Ceratotropis*, *Plectotropis*, *Sigmoidotropis*, *Macrorhyncha*, *Lasiospron*, *Haydonia*, *Vigna* (Vijaykumar *et al.*, 2010) y está estrechamente relacionada filogenéticamente con géneros de importancia agrícola como *Cajanus*, *Glycine* y *Phaseolus* (Gepts *et al.*, 2005).

El subgénero *Vigna* comprende 40 especies, entre las de mayor importancia agrícola se encuentra *Vigna unguiculata* (L) Walp, *Vigna mungo* (L) Hepper, *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek, *Vigna subterranea* (L.) Verdcourt, *Vigna angularis* (Willd.) Ohwi y Ohashi, *Vigna reflexo-pilosa* Hayata, *Vigna aconitifolia* (Jacq.) Maréchal, *Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi y Ohashi) y *Vigna vexillata* (L.) A. Rich (Sakai *et al.*, 2016; Smýkal *et al.*, 2014; Vijaykumar *et al.*, 2010). *Vigna unguiculata* fue introducido en la India en el período Neolítico, donde se encuentra su centro secundario de diversidad genética (Campbell, 2014), mientras que, en América, fue introducido en el siglo XVI por los españoles (Timko *et al.* 2007).

A nivel mundial la producción de *Vigna unguiculata* en el 2019 fue de 8.90 millones de toneladas, siendo Nigeria y Níger los países de mayor producción con más de 3.57 y 2.38 millones de toneladas, respectivamente (FAOSTAT, 2020), seguidos por Brasil que produce alrededor de 491.000 toneladas en 1.5 millones de ha (Boukar *et al.*, 2019).

### **1.2.3.1 Producción nacional y regional de frijol x'pelón**

En México, según el SIAP (2019) durante el año 2018 se cultivó una superficie total de 325.05 ha, principalmente en Yucatán, Campeche y Tabasco. Aunque es un cultivo importante, la mayor parte de la producción se realiza por campesinos en condiciones marginales que utilizan variedades locales clasificadas y nombrados informalmente según las características físicas de la semilla, hábito de crecimiento, áreas de producción y mercado (Latournerie *et al.*, 2005; Saenz-Pedroza, 2015). El frijol caupí o X'pelón como es nombrado en lengua Maya, está relacionado con la cultura maya, y los agricultores tradicionales Mayas conservan y desarrollan los recursos fitogenéticos de esta especie mediante la preservación de las variedades locales y el conocimiento tradicional asociado al manejo del cultivo, donde a menudo, se cultiva bajo el sistema tradicional de agricultura de temporal, denominado "milpa" (Arias *et al.*, 2004; Morales-Morales *et al.*, 2019).

Debido a que las variedades locales representan un reservorio de genes que pueden ser utilizados para el desarrollo de programas de conservación, mejoramiento genético y programas de biofortificación, es importante caracterizarlas y conocer su diversidad genética para generar información útil que permita desarrollar cultivares más adaptados y productivos (Govindaraj *et al.* 2015; Lopes *et al.*, 2015).

#### **1.2.4 Importancia de los micronutrientes**

La desnutrición por deficiencia de micronutrientes ha tomado cada vez más el centro de las discusiones políticas, principalmente para la promoción de métodos adecuados, e incentivos para mejorar la calidad de los alimentos y la diversificación agrícola. En productos derivados de los cultivos, las leguminosas son superiores a los cereales como fuentes de micronutrientes (Welch *et al.*, 2000), principalmente, la soya (*Glycine max* L), germinados de alfalfa (*Medicago sativa* L), chícharo (*Pisum sativum* L) y el frijol (*Phaseolus vulgaris*) (Campion *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2013; Weisany *et al.* 2014; Zhernakov *et al.*, 2017).

Los elementos traza para las plantas es similar pero no igual para los humanos, elementos como hierro, manganeso y zinc, son esenciales para las plantas y seres humanos (Almendros *et al.*, 2015; Carrasco-Gil *et al.*, 2015), mientras que el yodo y selenio es considerado como un elemento no indispensable para las plantas, pero es esencial para los humanos (Melgoza *et al.*, 2017; Takeda *et al.*, 2016; White y Brown, 2010).

En este sentido, las deficiencias en el ser humano dependen de las plantas cultivadas en suelos pobres de estos minerales, como resultado se tiene más de 3 mil millones de personas en el mundo sufren de desnutrición de hierro y zinc (Waters y Sankaran, 2011). Por lo tanto, el aumento de la densidad de micronutrientes de los cultivos básicos, por medio de programas de biofortificación pueden ayudar a mejorar en gran medida la nutrición humana a escala global (Waters y Sankaran, 2011).

#### **1.2.5 La importancia de la biofortificación con zinc**

El zinc es un importante micronutriente esencial para plantas y humanos. Es uno de los 17 elementos esenciales para el crecimiento y la reproducción de las plantas y el segundo más abundante en la célula vegetal y cuando el suministro de zinc disponible es deficiente, los rendimientos de los cultivos se reducen y la calidad de los productos del cultivo se ve frecuentemente afectada (Broadley *et al.*, 2007; Gupta *et al.*, 2016). En las plantas el zinc desempeña un papel importante como constituyente estructural o cofactor de diferentes enzimas y proteínas en muchas vías bioquímicas importantes, debido a que las enzimas relacionadas con el Zn están involucradas directamente con el metabolismo de los carbohidratos, fotosíntesis, la síntesis de proteínas, el mantenimiento de la integridad de las

membranas celulares, la regulación de la síntesis de auxina y formación de polen y resistencia a la infección por patógenos (Alloway, 2009; Perea-Portillo *et al.*, 2010; Sinclair y Kramer, 2012) y funciona como activador de enzimas especialmente la anhidrasa carbónica, alcohol deshidrogenasa, ARN polimerasa y superóxido dismutasas (Krithika y Balachandar, 2016).

Las plantas en promedio requieren de 15-30 mg de Zn kg<sup>-1</sup> de materia seca para su buen desarrollo (White y Broadley, 2011), pero la demanda varía en función de las partes vegetativas, siendo el polen y las hojas los que contienen mayor presencia del elemento con 80 y 30 mg Kg<sup>-1</sup> respectivamente, mientras que por otra parte, una concentración superior a 300 mg kg<sup>-1</sup> son generalmente tóxicos (Noulas *et al.*, 2018), sin embargo, en los cereales las concentraciones inferiores a 20 mg kg<sup>-1</sup> se consideran bajas y la deficiencia de este elemento se refleja en el retraso del desarrollo de la planta, la maduración de los frutos y la producción de granos se puede reducir hasta un 20% o más (Hansch y Mendel, 2009; Imran *et al.*, 2017).

El zinc procedente de los alimentos vegetales es de menor biodisponibilidad debido a la baja movilidad del zinc en el suelo, altas concentraciones de carbonatos, pH superiores a 7.0 y la presencia de antinutrientes en los granos (Rubio *et al.*, 2007), lo que se refleja en un problema nutricional común en los seres humanos (Almendros *et al.* 2015), que se estima más del 30% de personas en el mundo sufren de deficiencia de Zn (White *et al.*, 2012).

La desnutrición puede abordarse mediante el aumento de la biodisponibilidad de elementos minerales en cultivos comestibles por medio de la biofortificación agronómica que a través del buen uso de los fertilizantes se puede aumentar la concentración de nutrientes de las plantas, sin cambiar la composición genética de las mismas (Storksdieck y Hurrell, 2009).

Se han realizado múltiples trabajos con la biofortificación, por ejemplo Oikeh *et al.* (2003) incrementaron significativamente el Zn en el grano de maíz, mientras que Haas *et al.* (2005) reportaron un incremento de hasta cinco veces el contenido de hierro en el grano de arroz. Por otra parte, se ha demostrado que la biofortificación no solo ha incrementado los micronutrientes, además, también compuestos bioactivos como fenoles totales y Park *et al.* (2014) reportan que al biofortificar con quelato de hierro en alfalfa, incrementó de 8.0 a 13.5%.

#### **1.2.5.1 El zinc en el suelo**

Las plantas absorben los minerales del suelo a través de las raíces y en el suelo la principal fuente de aporte mineral es la meteorización física y química de las rocas madre. En este sentido, la concentración de Zn en los suelos varía de 10-300 mg kg<sup>-1</sup> con una media

de 50 mg Zn kg<sup>-1</sup> total (Alloway, 2008). Sin embargo, la disponibilidad del Zn para las plantas depende de las propiedades fisicoquímicas del suelo, la actividad de las raíces de las plantas y la microflora en la rizosfera y otros factores no edáficos (Gupta *et al.*, 2016) y es absorbido principalmente en forma Zn<sup>2+</sup> o en condiciones de pH alto como ZnOH<sup>+</sup>.

A nivel mundial se sabe que aproximadamente el 50% de los suelos agrícolas se consideran pobres en Zn disponible para plantas (Cakmak y Kutman, 2017). Debido a diferentes factores, pero generalmente se presentan en suelos arenosos, calcáreos, salinos y de humedales, compactados y bajos en materia orgánica con altos niveles de nitrógeno y fósforo (Noulas *et al.*, 2018). A pesar de que algunos suelos presentan una buena cantidad de Zn, principalmente en suelos vertisoles, las plantas no son capaces de crecer debido a la precipitación o adsorción a los componentes del suelo lo que lo hace poco biodisponible (Baruah, 2018). En un suelo calcáreo la actividad libre de Zn<sup>2+</sup> podría ser tan baja como 10<sup>-9</sup> - 10<sup>-11</sup>M, que puede ser demasiado baja para soportar el crecimiento óptimo del cultivo (Hacisalihoglu y Kochian, 2003).

Entre otros factores, la baja biodisponibilidad de Zn en las plantas se debe al alto contenido de carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>), el pH elevado, la abundancia de óxidos de hierro (Fe), aluminio (Al), así como la variabilidad genética de las plantas y las condiciones climáticas (Alloway, 2009). Las diferentes especies de plantas y variedades difieren en su grado de sensibilidad o tolerancia a la deficiencia de Zn, por ejemplo el trigo presenta menor eficiencia en su captación y traslocación al grano, que el centeno (*Secale cereale* L.) y el triticale (*Triticosecale* Wittmack), que son los cereales más eficientes en la asimilación del Zn (Cakmak, 2000). Algunos autores indican que la radiación tiene un efecto importante en la concentración de micronutrientes y en la disponibilidad para las plantas (Alloway 2009).

### **1.2.6 Hongos micorrízicos arbusculares**

El término micorriza se refiere a la asociación simbiótica entre el micelio de un hongo y las raíces de un vegetal. El uso de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) tienen múltiples funciones en la agricultura, entre los de mayor importancia destacan la protección de los cultivos de patógenos en el suelo y del déficit hídrico, también es importante para mejorar la estructura del suelo, e incrementa el número de raíces (Harrier y Watson, 2003) y permiten una mayor absorción de elementos poco móviles en el suelo como el fósforo, cobre y zinc. El efecto de los hongos micorrízicos por si solos no es tan fuerte como el efecto

respectivo de los fertilizantes minerales aplicados a través del suelo y foliar. Sin embargo, existe un papel para estos simbioses vegetales en la agricultura local, sostenible y orgánica, donde la calidad del suelo se mejora adicionalmente mediante técnicas de protección del suelo, labranza reducida y aplicación restringida de pesticidas y fertilizantes sintéticos (Cavagnaro, 2015; Harrier y Watson, 2003). Además, junto con la técnica de biofortificación pueden ser una alternativa viable para incrementar el rendimiento y calidad de los alimentos derivados de los cultivos. Se han realizado investigaciones en diferentes cultivos que demuestran la eficiencia de las micorrizas para absorción de nutrientes poco disponibles para las plantas, como el caso del selenio en interacción con micorrizas en lechugas (*Lactuca sativa* L.), se logró incrementar hasta un 30% de producción y mejorar la calidad (Goicoechea *et al.*, 2015), así mismo, en estudios realizados en el arroz se ha logrado obtener una mayor solubilidad del zinc con aplicaciones de micorriza (Gontia-Mishra *et al.*, 2017). En otros casos de estudio se ha logrado obtener efectos positivos tanto en rendimiento como en mejoramiento de la calidad nutricional en granos básicos como el maíz, frijol lima (*Phaseolus lunatus* L. Walp), (Rodak *et al.*, 2017) en frijol x'pelón (Caldera *et al.*, 2013) y en otros tipos de cultivos (Lehmann *et al.*, 2014).

### **1.3 HIPÓTESIS**

- I. La variabilidad genética entre los materiales de frijol x'pelón está definida con base en su origen geográfico.
- II. La biofortificación con Zn mediada por HMA incrementa el rendimiento y contenido nutricional en las partes comestibles de las plantas de *Vigna unguiculata*.

## 1.4 OBJETIVOS

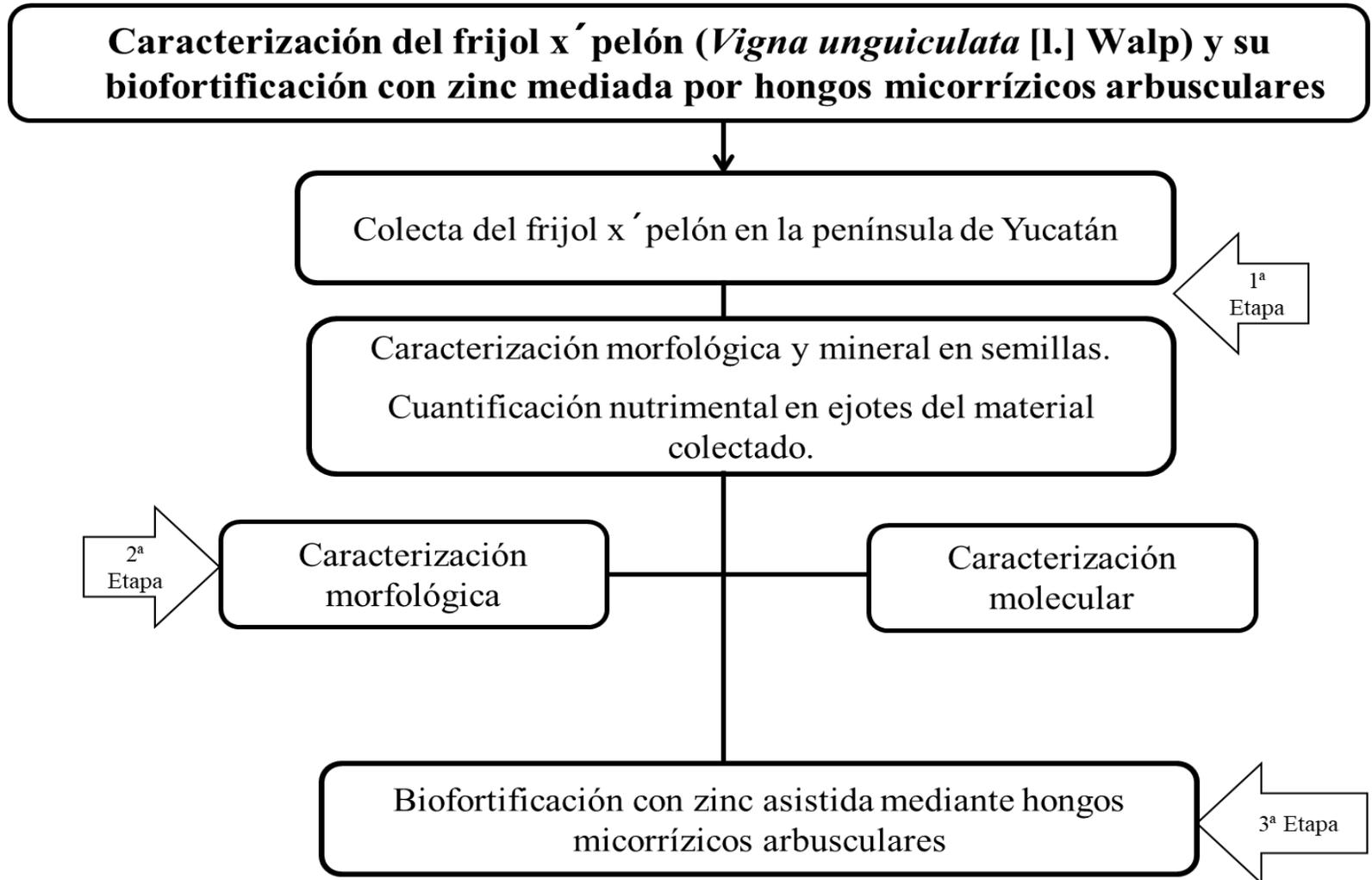
### 1.4.1 Objetivo general

Evaluar la diversidad genética del frijol X'pelón (*Vigna unguiculata* [L.] Walp), cultivado en la península de Yucatán y analizar el efecto de la biofortificación con zinc en interacción con hongos micorrízicos arbusculares en variedades locales.

### 1.4.2 Objetivos específicos

- I. Estimar la variabilidad morfológica, mineral de las semillas y la calidad nutrimental de los ejotes de *Vigna unguiculata* [L.] Walp., cultivados en la península de Yucatán.
- II. Estimar la diversidad y estructura genética mediante el uso de marcadores morfológicos y moleculares de *Vigna unguiculata* [L.] Walp., colectadas en la península de Yucatán.
- III. Evaluar la influencia de *Rhizophagus intraradices* en la biofortificación con Zn sobre el contenido nutrimental de *Vigna unguiculata* [L.] Walp.

## 1.5 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL



Par poder cumplir los objetivos planteados, el trabajo de investigación se realizó en tres etapas.

- I. La primera etapa consistió en la colecta de 15 variedades locales de frijol x'pelón a partir de octubre 2017 a abril 2018. La colecta se realizó en los tres estados que componen la península de Yucatán. Posteriormente, el material se trasladó al Tecnológico Nacional de México campus Conkal y se evaluaron tres variables morfológicas cualitativas, 10 variables cuantitativas y se determinó el contenido mineral por  $\mu$ -fluorescencia de rayos-X. Posteriormente, se sembraron las mismas accesiones en un invernadero de la institución para determinar la producción, calidad nutrimental por medio del análisis de antioxidantes, fenoles, análisis proximal y mineral de los ejotes.
- II. En la segunda etapa de nuevo se sembraron las 15 accesiones, pero sólo germinaron 14 y se realizó la caracterización morfológica y molecular. Para la caracterización morfológica se midieron 28 variables, de las cuales 15 fueron cuantitativas y 13 cualitativas, incluyendo variables morfológicas de la planta, flor, vaina y semillas. Por otra parte, la caracterización molecular consistió en la extracción de ADN del material vegetal y para la amplificación de PCR, se probaron 10 cebadores ISSR de las cuales se utilizaron 4 que produjeron una buena amplificación y alto nivel de polimorfismo en todas las accesiones. Se obtuvo la matriz binaria de datos, se realizó el análisis y se obtuvo el nivel de diversidad genética en la región.
- III. La etapa 3 consistió en realizar la biofortificación de zinc mediante el uso de HMA en dos accesiones (CHE06 y PET07) seleccionadas en base a los análisis minerales y las características de producción realizadas en la etapa I y II. En esta etapa se determinó la eficacia del HMA en la absorción y traslocación del Zn desde la raíz hasta el grano.

## 1.6 LITERATURA CITADA

- Ahmed, M. A., M. M. Shokr, W. M. Shukry, and G. M. Abdel-Fattah. (2016). Application of Mycorrhizal Technology for Improving Yield Production of Common Bean Plants. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*. 4(2): 191-197.
- Ajeesh, K. T., S. A. Ceasar, T. Maharajan, M. Ramakrishnan, V. Duraipandiyam, N. Al-Dhabi, & S. Ignacimuthu. (2017). Improving the zinc-use efficiency in plants: a review. *SABRAO Journal of Breeding & Genetics*. 49(3): 211-230.
- Almendros, P., A. Obrador, D. Gonzalez, & J. M. Alvarez. (2015). Biofortification of zinc in onions (*Allium cepa* L.) and soil Zn status by the application of different organic Zn complexes. *Scientia Horticulturae*. 186: 254-265.
- Alloway, B. (2009). Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. *Environ Geochem Health*. 31(5): 537-548.
- Alloway, B. J. (2008). Zinc in soils and crop nutrition (Second edición ed.). By IZA and IFA Brussels, Belgium and Paris, France, 2008. 139 P.
- Baltussen, R., C. C. Knai, & M. Sharan. (2004). Iron Fortification and Iron Supplementation are Cost-Effective Interventions to Reduce Iron Deficiency in Four Subregions of the World. *J Nutr*. 134(10): 2678-2684.
- Banuelos, G. S., I. Arroyo, I. J. Pickering, S. I. Yang, & J. L. Freeman. (2015). Selenium biofortification of broccoli and carrots grown in soil amended with Se-enriched hyperaccumulator *Stanleya pinnata*. *Food Chem*. 166: 603-608.
- Baruah, R. (2018). Towards the Bioavailability of Zinc in Agricultural Soils. In *Role of Rhizospheric Microbes in Soil*. Springer, Singapore. pp. 99-136.
- Blair, M. W, P. Izquierdo, C. Astudillo, & M. A. Grusak. (2013). A legume biofortification quandary: variability and genetic control of seed coat micronutrient accumulation in common beans. *Front Plant Sci*. 4: 275.
- Borrill, P., J. M. Connorton, J. Balk, A. J. Miller, D. Sanders, & C. Uauy. (2014). Biofortification of wheat grain with iron and zinc: integrating novel genomic resources and knowledge from model crops. *Front Plant Sci*. 5(53): 1-8.
- Bouis, H. (2003). Micronutrient fortification of plants through plant breeding: can it improve nutrition in man at low cost? *Proceedings of the Nutrition Society*. 62(2): 403-411.

- Bouis, H. E., & R. M. Welch. (2010). Biofortification—A Sustainable Agricultural Strategy for Reducing Micronutrient Malnutrition in the Global South. *Crop Science*. 50(Supplement\_1): S-20. Doi: 10.2135/cropsci2009.09.0531
- Brnic, M., R. Wegmuller, A. Melse-Boonstra, T. Stomph, C. Zeder, F. M. Tay, & R. F. Hurrell. (2016). Zinc Absorption by Adults Is Similar from Intrinsically Labeled Zinc-Biofortified Rice and from Rice Fortified with Labeled Zinc Sulfate. *J Nutr*. 146(1): 76-80.
- Broadley, M. ., P. J. White, J. P. Hammond, I. Zelko, & A. Lux. (2007). Zinc in plants. *New Phytol*. 173(4); 677-702.
- Cakmak, I. (2000). Tansley Review No. 111. *New Phytologist*. 146(2): 185-205.
- Cakmak, I. (2008). Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? *Plant and Soil*. 302(1-2): 1-17.
- Cakmak, I., & U. B. Kutman. (2017). Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review. *European Journal of Soil Science*. 69(1): 172-180.
- Cambraia, T. L. L., R. L. F. Fontes, L. Vergütz, R. F. Vieira, J. C. L. Neves, P. S. Corrêa Netto, & R. F. N. Dias. (2019). Agronomic biofortification of common bean grain with zinc. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 54: e01003. Doi: 10.1590/s1678-3921.pab2019.v54.01003.
- Campion, B., R. P. Glahn, A. Tava, D. Perrone, E. Dori., F. Sparvoli, R. Cecotti, V. Dani. & Nielsen, E. (2013). Genetic reduction of antinutrients in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed, increases nutrients and in vitro iron bioavailability without depressing main agronomic traits. *Field Crops Research*. 141: 27-37.
- Carrasco-Gil, S., J. J. Rios, A. Álvarez-Fernández, A. Abadía, J. M. García-Mina, & J. Abadía. (2016). Effects of individual and combined metal foliar fertilisers on iron- and manganese-deficient *Solanum lycopersicum* plants. *Plant and Soil*. 402:409–410
- Cavagnaro, T. R., S. Dickson, & F. A. Smith. (2009). Arbuscular mycorrhizas modify plant responses to soil zinc addition. *Plant and Soil*. 329(1-2): 307-313.
- Coccina, A., T. R. Cavagnaro, E. Pellegrin, L. Ercoli, M. J. McLaughlin, & S. J. Watts-Williams. (2019). The mycorrhizal pathway of zinc uptake contributes to zinc accumulation in barley and wheat grain. *BMC Plant Biol*. 19(1): 133. Doi: 10.1186/s12870-019-1741-y.

- CONEVAL. Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social. [https://www.coneval.org.mx/Medicion/MP/Paginas/Pobreza\\_2016.aspx](https://www.coneval.org.mx/Medicion/MP/Paginas/Pobreza_2016.aspx). Fecha de consulta: 12 de julio 2018.
- Chen, X. P., Y. Q. Zhang, Y. P. Tong, Y. F. Xue, D. Y. Liu, W. Zhang and C. Q. Zou. (2017). Harvesting more grain zinc of wheat for human health. *Sci Rep.* 7(1): 7016. Doi: 10.1038/s41598-017-07484-2
- Das, S., & A. Green. (2013). Importance of zinc in crops and human health. *J SAT Agric Res.* 11: 1-7.
- De Valença, A. W, A. Bake, I. D. Brouwer, & K. E. Giller. (2017). Agronomic biofortification of crops to fight hidden hunger in sub-Saharan Africa. *Global Food Security.* 12: 8-14.
- Devi, C. B., A. Kushwaha, & A. Kumar. (2015). Sprouting characteristics and associated changes in nutritional composition of cowpea (*Vigna unguiculata*). *J Food Sci Technol.* 52(10): 6821-6827.
- Diaz-Gomez, J., R. M. Twyman, C. Zhu, G. Farre, J. C. Serrano, M. Portero-Otin, P. Muñoz, J. Sandmann, T. Capell, and P. Christou. (2017). Biofortification of crops with nutrients: factors affecting utilization and storage. *Curr Opin Biotechnol.* 44: 115-123.
- FAOSTAT. (2020). Estadísticas de producción de cultivos. Recuperado de <http://www.fao.org/faostat/en>
- Gepts, P., W. D. Beavis, E. C. Brumme, R. C. Shoemaker, H. T. Stalker, N. F. Weeden, & N. D. Young. (2005). Legumes as a model plant family. Genomics for food and feed report of the Cross-Legume Advances Through Genomics Conference. *Plant Physiol.* 137(4): 1228-1235.
- Gomez-Galera, S., E. Rojas, D. Sudhakar, C. Zhu, A. M. Pelacho, T. Capell, & P. Christou. (2010). Critical evaluation of strategies for mineral fortification of staple food crops. *Transgenic Res.* 19(2): 165-180.
- Grotz, N., & M. L. Guerinot. (2006). Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research.* 1763(7): 595-608.

- Gupta, N, H. Ram, & B. Kumar. (2016). Mechanism of Zinc absorption in plants: uptake, transport, translocation and accumulation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. 15(1): 89-109.
- Haas, J. D., J. L. Beard, L. E. Murray-Kolb, A. M. Del Mundo, A. Felix, & G. B. Gregorio. (2005). Iron-biofortified rice improves the iron stores of nonanemic Filipino women. *J Nutr*, 135(12): 2823-2830.
- Hacisalihoglu, G., & L. V. Kochian. (2003). How do some plants tolerate low levels of soil zinc? Mechanisms of zinc efficiency in crop plants. *New Phytologist*. 159(2): 341-350.
- Hansch, R., & R. R. Mendel. (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Curr Opin Plant Biol*. 12(3): 259-266.
- Hernández-Villareal, A. (2013). Caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. *Revista Bio Ciencias*. 2(3): 113-118.
- Imran, M., D. Garbe-Schönberg, G. Neumann, B. Boelt, & K. H. Mühling. (2017). Zinc distribution and localization in primed maize seeds and its translocation during early seedling development. *Environmental and Experimental Botany*. 143: 91-98.
- Khush, G. S, S. Lee, J. I. Cho, & J. S. Jeon. (2012). Biofortification of crops for reducing malnutrition. *Plant Biotechnology Reports*. 6(3): 195-202.
- Kim, Y. I. (2007). Folic Acid Fortification and Supplementation—Good for Some but Not So Good for Others. *Nutr Rev*. 65(11): 504-511.
- Krithika, S., & D. Balachandar. (2016). Expression of zinc transporter genes in rice as influenced by zinc-solubilizing *Enterobacter cloacae* strain ZSB14. *Frontiers in plant science*. 7: 446. Doi: 10.3389/fpls.2016.00446.
- Lasat, M. (1999). Phytoextraction of metals from contaminated soil: a review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues. *Journal of Hazardous Substance Research*. 2(1): 5. Doi.org/10.4148/1090-7025.1015.
- López-Guzmán, G., R. Medina-Torres, H. Guillén-Andrade, L. G. Ramírez-Guerrero, P. Juárez-López, & P. G. Ruelas-Hernández. (2015). Caracterización morfológica en genotipos nativos de aguacate (*Persea americana* Mill.) de clima tropical en Nayarit, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. (11): 2157-2163.

- Malviya, N., B. Sarangi, M. K. Yadav, & D. Yadav. (2012). Analysis of genetic diversity in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) cultivars with random amplified polymorphic DNA markers. *Plant systematics and evolution*. 298(2): 523-526.
- Márquez-Quiroz, C., E. De la Cruz-Lázaro, R. Osorio-Osorio, E. Sánchez-Chávez, J. J. Huijara-Vasconcelos, & J. P. Sida-Arreola. (2018). Contenido de zinc y rendimiento de frijol caupí biofortificado. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 9(SPE20): 4175-4185.
- Márquez-Quiroz, C., E. De la Cruz-Lázaro, R. Osorio-Osorio, R., & E. Sánchez-Chávez. (2015). Biofortification of cowpea beans with iron: iron's influence on mineral content and yield. *Journal of soil science and plant nutrition*. 15(4): 839-847.
- Mayer, J. E., W. H. Pfeiffer, & P. Beyer. (2008). Biofortified crops to alleviate micronutrient malnutrition. *Curr Opin Plant Biol*. 11(2): 166-170.
- Melgoza, F. A. G., F. B. Escalante, C. J. L. Cavazos, M. d. I. N. R. Mendoza, & A. B. Mendoza. (2017). Respuesta de las plantas de melón a las aplicaciones de yoduro de potasio. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 3465-3475.
- Monserrate-Rojas, F. A., H. Pachón, G. G. Hyman, & A. L. Vesga-Varela. (2009). Metodología para seleccionar zonas de intervención con cultivos biofortificados. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 26: 419-428.
- Morales-Morales, A. E., R. H. Andueza-Noh, C. Marquez-Quiroz, A. Benavides-Mendoza, J. M. Tun-Suarez, A. Gonzalez-Moreno, & C. J. Alvarado-López. (2019). Caracterización morfológica de semillas de frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp) de la Península de Yucatán. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 6(18): 463-475.
- Nestel, P., H. E Bouis., J. Meenakshi, & W. Pfeiffer. (2006). Biofortification of staple food crops. *J Nutr*. 136(4): 1064-1067.
- Noulas, C., M. Tziouvalekas, & T. Karyotis. (2018). Zinc in soils, water and food crops. *J Trace Elem Med Biol*. 49: 252-260.
- Oikeh, S. O., A. Menkir, B. Maziya-Dixon, R. Welch, & R. P. Glahn. (2003). Assessment of concentrations of iron and zinc and bioavailable iron in grains of early-maturing tropical maize varieties. *J Agric Food Chem*. 51(12): 3688-3694.
- Paganini, D., & M. B. Zimmermann. (2017). The effects of iron fortification and supplementation on the gut microbiome and diarrhea in infants and children: a review. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 106(suppl\_6): 1688S-1693S.

- Park, S. A., M. A. Grusak, & M. M. Oh. (2014). Concentrations of minerals and phenolic compounds in three edible sprout species treated with iron-chelates during imbibition. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 55(6): 471-478.
- Perea-Portillo, E., D. L. Ojeda-Barrios, O. Hernández-Rodríguez, D. Escudero-Almanza, J. J. Martínez-Téllez, & G. López-Ochoa. (2010). El Zn como promotor de crecimiento y fructificación en el nogal pecanero. *Tecnociencia Chihuahua*. 4(2): 64-71.
- Poblaciones, M. J., & Z. Rengel. (2016). Soil and foliar zinc biofortification in field pea (*Pisum sativum* L.): Grain accumulation and bioavailability in raw and cooked grains. *Food Chem*. 212: 427-433.
- Poblaciones, M. J., S. M. Rodrigo, & O. Santamaria. (2013). Evaluation of the potential of peas (*Pisum sativum* L.) to be used in selenium biofortification programs under Mediterranean conditions. *Biol Trace Elem Res*. 151(1): 132-137.
- Prescha, A., J. Biernat, R. Weber, M. Žuk, & J. Szopa. (2003). The influence of modified 14-3-3 protein synthesis in potato plants on the nutritional value of the tubers. *Food Chem*, 82(4), 611-617.
- Rivera-Dommarco, J. Á. (2012). Deficiencias de micronutrientos en México: un problema invisible de salud pública. *Salud Pública de México*. 54: 101-102.
- Rouached, H. (2013). Recent developments in plant zinc homeostasis and the path toward improved biofortification and phytoremediation programs. *Plant Signal Behav*. 8(1): e22681. doi: 10.4161/psb.22681
- Rubio, C., D. González-Weller, R. Martín-Izquierdo, C. Revert, I. Rodríguez, & A. Hardisson. (2007). El zinc: oligoelemento esencial. *Nutr Hosp*. 22(1): 101-107.
- Saha, S., B. Mandal, G. C. Hazra, A. Dey, M. Chakraborty, B. Adhikari, D. K. Mukhopadhyay, and R. Sadhukhan. (2015). Can agronomic biofortification of zinc be benign for iron in cereals? *Journal of Cereal Science*. 65: 186-191.
- Sakai, H., K. Naito, Y. Takahashi, T. Sato, T. Yamamoto, I. Muto, T. Itoh, and N. Tomooka. (2016). The *Vigna* Genome Server, ‘Vig GS’: A Genomic Knowledge Base of the Genus *Vigna* Based on High-Quality, Annotated Genome Sequence of the Azuki Bean, *Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi. *Plant and cell physiology*. 57(1): e2-e2. doi: 10.1093/pcp/pcv189

- Saltzman, A., E. Birol, H. E. Bouis, E. Boy, F. F. De Moura, Y. Islam, & W. H. Pfeiffer. (2013). Biofortification: Progress toward a more nourishing future. *Global Food Security*. 2(1): 9-17.
- Schweigel-Rontgen, M. (2014). The families of zinc (SLC30 and SLC39) and copper (SLC31) transporters. *Curr Top Membr*. 73: 321-355.
- SIAP (2019) Anuario estadístico de la producción agrícola - producción agrícola 2019. Servicio de Información Agrícola y Pecuaria. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>.
- Silva, L. R., M. J. Pereira, J. Azevedo, R. F. Gonçalves, P. Valentão, P. G. de Pinho, & P. B. Andrade. (2013). *Glycine max* (L.) Merr., *Vigna radiata* L. and *Medicago sativa* L. sprouts: A natural source of bioactive compounds. *Food Research International*, 50(1): 167-175.
- Sinclair, S. A., & U. Kramer. (2012). The zinc homeostasis network of land plants. *Biochim Biophys Acta*. 1823(9): 1553-1567.
- Smoleń, S., J. Wierzińska, W. Sady, A. Kołton, A. Wiszniewska, & M. Liszka-Skoczylas. (2015). Iodine biofortification with additional application of salicylic acid affects yield and selected parameters of chemical composition of tomato fruits (*Solanum lycopersicum* L.). *Scientia Horticulturae*. 188: 89-96.
- Smýkal, P., C. J. Coyne, M. J. Ambrose, N. Maxted, H. Schaefer, M. W. Blair, and R. K. Varshney. (2014). Legume Crops Phylogeny and Genetic Diversity for Science and Breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 34(1-3): 43-104.
- Stoilova, T., & G. Pereira. (2013). Assessment of the genetic diversity in a germplasm collection of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) using morphological traits. *African Journal of Agricultural Research*. 8(2): 208-215.
- Storksdieck, S., & R. Hurrell. (2009). The impacts of trace elements from plants on human nutrition: A case for biofortification. In: Buñuelos, G. S and Z. Q. Lin (Ed.). *Biofortified Agricultural Products*, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Takeda, T., K. Kondo, K. Ueda, & A. Iida. (2016). Antioxidant responses of selenium-enriched broccoli sprout (*Brassica oleracea*) to paraquat exposure. *Biomedical Research on Trace Elements*. 27(1): 8-14.
- Tan, H., M. Tie, Q. Luo, Y. Zhu, J. Lai, & H. Li. (2012). A review of molecular markers applied in Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) Breeding. *J Life Sci*. 6: 1190-1199

- Tripathi, K., P. G. Gore, M. Singh, R. K. Pamarthi, R. Mehra, & C. Gayacharan. (2020). Legume Genetic Resources: Status and Opportunities for Sustainability. In: Legume Crops: IntechOpen. Doi: 10.5772/intechopen.91777.
- Velu, G., I. Ortiz-Monasterio, I. Cakmak, Y. Hao, & R. P. Singh. (2014). Biofortification strategies to increase grain zinc and iron concentrations in wheat. *Journal of Cereal Science*. 59(3): 365-372.
- Vijaykumar, A., A. Saini, & N. Jawali. (2010). Phylogenetic analysis of subgenus *Vigna* species using nuclear ribosomal RNA ITS: Evidence of hybridization among *Vigna unguiculata* subspecies. *Journal of Heredity*. 101(2): 177-188.
- Wamalwa, E. N., J. Muoma, & C. Wekesa. (2016). Genetic Diversity of Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Accession in Kenya Gene Bank Based on Simple Sequence Repeat Markers. *Int J Genomics*. 2016: ID 8956412. doi: 10.1155/2016/8956412
- Waters, B. M., & M. A. Grusak. (2008). Whole-plant mineral partitioning throughout the life cycle in *Arabidopsis thaliana* ecotypes Columbia, Landsberg erecta, Cape Verde Islands, and the mutant line ysl1ysl3. *New Phytologist*. 177(2): 389-405.
- Waters, B. M., & R. P. Sankaran. (2011). Moving micronutrients from the soil to the seeds: Genes and physiological processes from a biofortification perspective. *Plant Science*. 180(4): 562-574.
- Weisany, W., Y. Sohrabi, G. Heidari, A. Siosemardeh, & H. Badakhshan. (2014). Effects of zinc application on growth, absorption and distribution of mineral nutrients under salinity stress in soybean (*Glycine max* L.). *Journal of Plant Nutrition*. 37(14): 2255-2269.
- White, P. J., & M. R. Broadley. (2005). Biofortifying crops with essential mineral elements. *Trends Plant Sci*. 10(12): 586-593.
- White, P. J., & M. R. Broadley. (2009). Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets--iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytol*. 182(1): 49-84.
- White, P. J., & M. R. Broadley. (2011). Physiological limits to zinc biofortification of edible crops. *Front Plant Sci*. 2: 80. Doi: 10.3389/fpls.2011.00080.
- White, P. J., M. R. Broadley, & P. J. Gregory. (2012). Managing the Nutrition of Plants and People. *Applied and Environmental Soil Science*. 2012: 1-13.

- White, P. J., & P. H. Brown. (2010). Plant nutrition for sustainable development and global health. *Ann Bot.* 105(7): 1073-1080.
- Ye, X., S. Al-Babili, A. Klöti, J. Zhang, P. Lucca, P. Beyer, & I. Potrykus. (2000). Engineering the provitamin A ( $\beta$ -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science.* 287 (5451): 303-305.
- Zhernakov, A., B. Rotter, P. Winter, A. Borisov, I. Tikhonovich, & V. Zhukov. (2017). Massive Analysis of cDNA Ends (MACE) for transcript-based marker design in pea (*Pisum sativum* L.). *Genomics Data.* 11: 75-76.

**CAPITULO 2. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE SEMILLAS DE  
FRIJOL CAUPÍ (*Vigna unguiculata* L. Walp) DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN  
Morphological characterization of cowpea beans (*Vigna unguiculata* L. Walp) from  
the Yucatán Peninsula**

Amelio Eli Morales-Morales<sup>1</sup>, Rubén Humberto Andueza-Noh<sup>2</sup>, César Márquez-Quiroz<sup>3</sup>,  
Adalberto Benavides-Mendoza<sup>4</sup>, José María Tun-Suarez<sup>1</sup>, Alejandra González-Moreno<sup>1</sup>,  
Carlos Juan Alvarado-López<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México /  
Instituto Tecnológico de Conkal. Av. Tecnológico s/n. <sup>2</sup>Conacyt - Instituto Tecnológico de  
Conkal. Av. Tecnológico s/n, CP. 97345. Conkal, Yucatán, México. <sup>3</sup>Posgrado en Ciencias  
Agroalimentarias. División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez  
Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Teapa km 25 R/a La Huasteca 2ª sección,  
CP. 86280. Villahermosa, Centro, Tabasco, México. <sup>4</sup>Departamento de Horticultura,  
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calz Antonio Narro 1923, CP. 25315.  
Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Primer autor: [amelio.morales@itconkal.edu.mx](mailto:amelio.morales@itconkal.edu.mx)

Autor de correspondencia: [carlos.alvarado@itconkal.edu.mx](mailto:carlos.alvarado@itconkal.edu.mx)

Artículo publicado en la revista Ecosistemas y recursos agropecuarios, 2019, 6(18):463-  
475. DOI: 10.19136/era.a6n18.2171.

**RESUMEN**

El frijol caupí (*Vigna unguiculata* (L) Walp) es un cultivo importante en varias regiones del mundo, pero en México no es muy explotado. La caracterización de variedades agrícolas se ha basado en descriptores morfológicos, que incluyen: forma, color y tamaño de semilla, además de atributos cuantitativos como el contenido mineral. El objetivo del trabajo fue evaluar las características morfológicas y nutricionales de genotipos de frijol caupí de la Península de Yucatán, México. Se realizaron 15 colectas de octubre 2017 a enero 2018, a las que se evaluaron tres variables morfológicas cualitativas, 10 variables cuantitativas y se determinó el contenido de potasio, calcio, manganeso, hierro y zinc, mediante  $\mu$ -fluorescencia de rayos-X. A los datos se les realizó un análisis de varianza y de componentes principales. Los resultados indican que el 80% de las colectas tienen forma ovoide, 73%

textura suave a áspera y el 80% son de color negro. En las variables morfológicas cuantitativas, 53% de las colectas se consideran pequeñas, 40% medianas y 7% semillas grandes. La longitud, ancho y espesor de los genotipos fue de 6.26 a 9.56, 3.64 a 7.48 y de 2.86 a 5.56 mm, respectivamente, la colecta PET15 fue la de menor dimensión. Para el contenido mineral, la colecta OXC04 tuvo la mayor concentración de Ca, Mn, Fe y Zn, mientras que la colecta PET07 presentó mayor contenido de K. Hay altos niveles de diversidad fenotípica en las colectas estudiadas y se agrupan con base en sus características físicas y no al lugar de origen.

**Palabras clave:** Colecta, contenido mineral, diversidad fenotípica, fluorescencia de rayos-X, genotipos.

**CAPITULO 3. CALIDAD NUTRIMENTAL Y NUTRACÉUTICA EN EJOTES DE CAUPÍ (*Vigna unguiculata* [L] Walp.) DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN**  
**Nutritional and nutraceutical quality of cowpea green bean (*Vigna unguiculata* [L] walp.) from Yucatan peninsula**

Amelio Eli Morales-Morales<sup>1</sup>, Carlos Juan Alvarado López<sup>2</sup>, Rubén Humberto Andueza-Noh<sup>2</sup>, José María Tun-Suarez<sup>1</sup>, Kati Beatriz Medina-Dzul<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Conkal. Av. Tecnológico s/n. <sup>2</sup>Conacyt - Instituto Tecnológico de Conkal. Av. Tecnológico s/n, CP. 97345. Conkal, Yucatán, México. Artículo publicado en la revista Ecosistemas y recursos agropecuarios, 2020, 7(3): e2541.

DOI: 10.19136/era.a7n3.2541.

Primer autor: [amelio.morales@itconkal.edu.mx](mailto:amelio.morales@itconkal.edu.mx)

Autor de correspondencia: [kati.medina@itconkal.edu.mx](mailto:kati.medina@itconkal.edu.mx)

**RESUMEN**

El frijol caupí es una importante leguminosa cuyo consumo primario es en granos secos, aunque en ocasiones se incluyen las vainas inmaduras ricas en proteínas, vitaminas, fibra, minerales y antioxidantes. El objetivo fue determinar la calidad nutricional y nutraceutica de 13 accesiones de ejotes de caupí (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) cultivados en la Península de Yucatán. El estudio se llevó a cabo en condiciones de invernadero, bajo un diseño completamente al azar. Se determinó el contenido de humedad, cenizas, grasa, proteína, fibra cruda (PC), carbohidratos, longitud y peso de las vainas, contenido de minerales, fenoles totales (FT) y la capacidad antioxidante (CA) por el método de ABTS y DPPH. Las accesiones HEC02, OXC05, JMM09, JMM10 y JAL14 destacaron por presentar la mayor longitud y peso de las vainas. Las accesiones OXC04 y CHE06 sobresalieron en contenido de cenizas (8.48%), humedad (18.24%), PC (23.32%) y fibra (20.11%). Para el contenido de minerales, la accesión HEC02 tuvo los mayores niveles de K, Ca y Mg. Respecto al contenido de nutraceuticos, la colecta HAL14 presentó los mayores valores de FT (18.02 mg g<sup>-1</sup> EAG ps) y CA para DPPH (6.19 mg Trolox 100 g<sup>-1</sup> ps) y ABTS (4.95 mg Trolox 100 g<sup>-1</sup> ps). La variabilidad entre accesiones, sugiere que CHE06 por sus niveles de proteína y fibra cruda y HEC02 por su alto contenido de minerales podrían ofrecer ventajas

nutricionales, mientras que la accesión HAL14 podría considerarse la accesión con la mejor calidad nutracéutica.

**Palabras clave:** Capacidad antioxidante, composición nutrimental, fenoles totales,  $\mu$ -fluorescencia de rayos-X, vainas.

**CAPITULO 4. DIVERSIDAD GENÉTICA Y FENOTÍPICA DE VARIEDADES  
CRIOLLAS DE CAUPÍ (*Vigna unguiculata* L. Walp.) CULTIVADAS EN SISTEMAS  
TRADICIONALES DEL SURESTE DE MÉXICO**

**Phenotypic and genetic diversity of cowpea landraces (*Vigna unguiculata* L. Walp.)  
cultivated in traditional crop system of southeastern México**

Tesisista: Amelio Eli Morales Morales [amelio.morales@itconkal.edu.mx](mailto:amelio.morales@itconkal.edu.mx)  
Director de tesis: Dr. Carlos Juan Alvarado López [carlos.alvarado@itconkal.edu.mx](mailto:carlos.alvarado@itconkal.edu.mx)

**RESUMEN**

El frijol caupí (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.), se produce en todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo y se considera un cultivo importante para la seguridad alimentaria. En México, la mayor parte de la producción se realiza por campesinos en condiciones marginales que utilizan variedades locales clasificadas y nombrados informalmente según las características físicas de la semilla, hábito de crecimiento, áreas de producción y mercado. Por lo tanto, estudiar la diversidad genética en el frijol caupí es un paso importante para el mejoramiento genético de la especie y se evalúa midiendo las variaciones en los rasgos fenotípicos, además, el uso de marcadores moleculares ayuda a evaluar el nivel de polimorfismo que es vital para aprovechar el enorme acervo genético de las variedades locales. Para generar información útil hacia el manejo y conservación del frijol caupí en la península de Yucatán, se determinó la variabilidad genética y las relaciones entre 14 variedades locales del caupí cultivadas en la península de Yucatán, México, con base en marcadores morfológicos y moleculares (ISSR). Los resultados obtenidos en este trabajo contribuyen a nuestro conocimiento sobre la diversidad genética en variedades del frijol caupí cultivado en la Península de Yucatán, al incluir por primera vez variedades recolectadas en una región que no habían sido exploradas. La mayoría de las variedades locales estudiadas presentaron alta diversidad fenotípica. La diversidad genética fue superior entre las variedades que, dentro de las mismas, y se observó un nivel relativamente alto de similitud entre los genotipos de caupí para la mayoría de las características morfológicas. El PCA agrupó todas las poblaciones estudiadas en dos grupos principales, siendo similares tanto en análisis de ancestría, como en el dendograma, aunque se vio que existe un nivel bajo de flujo génico.

**Palabras claves:** caracterización fenotípica; marcadores genéticos; sistema milpa.

**CAPITULO 5. INFLUENCIA DE LA BIOFORTIFICACIÓN CON ZINC  
MEDIADO POR *Rhizophagus irregularis* EN EL RENDIMIENTO Y CONTENIDO  
NUTRIMENTAL DEL FRIJOL CAUPÍ (*Vigna unguiculata* L. Walp)**

**Influence of biofortification with zinc mediated by *Rhizophagus irregularis* on  
the yield and nutrimental content of cowpea beans (*Vigna unguiculata* L. Walp)**

Tesisista: Amelio Eli Morales Morales [amelio.morales@itconkal.edu.mx](mailto:amelio.morales@itconkal.edu.mx)  
Director de tesis: Dr. Carlos Juan Alvarado López [carlos.alvarado@itconkal.edu.mx](mailto:carlos.alvarado@itconkal.edu.mx)

**RESUMEN**

Uno de los mayores desafíos del futuro cercano en la actualidad es producir alimentos suficientes y nutritivos, considerando el crecimiento rápido de la población que tiene más de 840 millones de personas con problemas de nutrición y se estima que el 30% es por deficiencia de zinc (Zn). Por lo tanto, el problema de la desnutrición se puede abordar mediante el aumento de la biodisponibilidad de elementos minerales en cultivos comestibles por medio de la biofortificación agronómica que a través del buen uso de los fertilizantes y microorganismos como las micorrizas se puede aumentar la concentración de nutrientes en las partes comestibles de las plantas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la biofortificación con Zn mediado por HMA sobre el rendimiento y el contenido nutrimental en el frijol caupí. Se evaluaron dos variedades del frijol caupí (CHE06 y PET07), dos concentraciones de zinc (0 y 25  $\mu\text{M L}^{-1}$   $\text{ZnNO}_3$ ) y dos niveles de inoculación con micorrizas, teniendo en total ocho tratamientos. Se evaluó el porcentaje de aborto floral, número de vainas, rendimiento por planta y contenido mineral en el grano. Como resultado, el tratamiento PET07-Zn-HMA, presentó el porcentaje de aborto floral más bajo y el de mejor rendimiento por planta, así mismo, los tratamientos con Zn inoculado con micorriza (ZN-HMA) fueron mejores que el resto de los tratamientos. En cuanto al efecto en los minerales en los granos, los tratamientos CHE06-Zn-HMA y PET07-Zn fueron los que obtuvieron las mejores concentraciones de Zn, por lo que se ve reflejado el beneficio del uso de las micorrizas.

**Palabras clave:** calidad nutrimental, hongos micorrízicos arbusculares, micronutriente; rendimiento.