



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Aumento de semillas de *Phaseolus albicarminus* (*Leguminosae*, *Phaseoleae*) mediante técnicas de propagación asexual

Ramiro Andrés Sabogal Carvajal

Universidad Nacional de Colombia – Sede Palmira
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Palmira, Valle del Cauca, Colombia
20 mayo 2024

Aumento de semillas de *Phaseolus albicarminus* (*Leguminosae*, *Phaseoleae*) mediante técnicas de propagación asexual

Ramiro Andrés Sabogal Carvajal

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencias Agrarias

Director:

PhD., Franco Alirio Vallejo Cabrera

Codirector:

PhD., Daniel Gabriel Debouck

Línea de Investigación:

Fisiología de Cultivos

Universidad Nacional de Colombia – Sede Palmira

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Palmira, Valle del Cauca, Colombia.

20 mayo 2024

Con amor para toda mi familia y todos mis ancestros, en especial para los que ya descansan en paz: mi mamá hermosa María E. Carvajal, mi papá Iván Ramiro Sabogal, mi tío Jose Reinelio Carvajal Muñoz, mi abuela Ana Celia Muñoz y mi abuelo Gonzalo Carvajal

Una dedicatoria especial para mi mamita Blanca Aurora Carvajal Muñoz, muchas gracias por su incondicionalidad y por impulsarme a seguir adelante. Para mis tres motores que me dan la fuerza y energía día tras día, mi hermana Luisa María Acevedo Carvajal, mi esposa Sandra Milena Hernandez Alzate y lo más lindo del mundo mi hija Ivanna Sabogal Hernandez, todo lo que hago es por ustedes tres.

También quiero dedicarle este trabajo a todos los campesinos y trabajadores del campo de todo el mundo. Dios los bendiga.

Agradecimientos

Primero que todo agradezco a mi Dios, a mi familia y a la vida por la oportunidad de estudiar y realizar este maravilloso trabajo.

Un agradecimiento sincero y especial para todas las personas que trabajan en el Programa de Recursos Genéticos de la Alianza Bioersity - CIAT; y para todas las personas que trabajan en la Universidad Nacional de Colombia – sede Palmira.

Gracias infinitas a todo el equipo de regeneración de germoplasma del PRG, en especial a las personas de las estaciones experimentales de Corrales y Tenerife, muchas gracias, Yeferson Hernandez, muchas gracias, Álvaro Mestizo; muchas gracias, Jeison Ypiales, muchas gracias, Guillermo Rosero; muchas gracias, Carlos Jimenez, por su cuidado y seguimiento en el trabajo de campo. Muchas gracias, Hernán Escobar por la dedicación y paciencia con los injertos.

Muchas gracias Dr. Franco Alirio y Dr. Daniel Debouck, por sus valiosas enseñanzas, tutorías y buen direccionamiento durante la investigación. Muchas gracias, Ing. Javier Mauricio Gereda por el apoyo y constantes asesorías brindadas. Muchas gracias Dr. Peter Wenzl y Dra. Marcela Santaella por permitir llevar a cabo esta investigación en el Programa de Recursos Genéticos.

Muchas gracias a la Alianza Bioersity – CIAT. Muchas gracias al Fondo Mundial para la Diversidad de Cultivos - Crop Trust. Muchas gracias Universidad Nacional de Colombia.

Resumen

Aumento de semillas de *Phaseolus albicarminus* (Leguminosae, Phaseoleae), mediante técnicas de propagación asexual

Phaseolus albicarminus, pariente silvestre del frijol cultivado; es endémico de Costa Rica y está en peligro de extinción. El banco de germoplasma Semillas del Futuro (Palmira - Colombia), salvaguarda una sola accesión (G40901) de este frijol silvestre. La disponibilidad de semillas originales, la producción de semillas nuevas de *P. albicarminus* es limitada y escasa. Es susceptible al ataque de nemátodos y pudriciones radiculares, esto genera riesgo para la accesión. Esta investigación evaluó la propagación asexual, para identificar condiciones apropiadas para producir suficientes semillas de esta especie. Se realizaron dos experimentos bajo condiciones controladas: i. se comparó la propagación por acodos esquejes e injertos, para aumentar la cantidad plantas y semillas de *P. albicarminus*; ii. se evaluó la compatibilidad de 16 accesiones de frijol como portainjertos para propagar a *P. albicarminus*. Los resultados del primer experimento señalan que los injertos (75% de prendimiento) son significativamente más efectivos para propagar a *P. albicarminus*, en comparación con los acodos (25% de prendimiento) y los esquejes (16.6% de prendimiento). En el segundo experimento se identificaron tres portainjertos (1 *P. coccineus*, 1 *P. dumosus*, 1 *P. vulgaris*) para la propagación exitosa de *P. albicarminus*. El uso de estos portainjertos contrarresta la susceptibilidad de *P. albicarminus* a problemas del suelo (hongos y nemátodos), también se logró acortar los días a floración. Mediante injertos se establecieron 53 plantas de *P. albicarminus* distribuidas en diferentes estaciones experimentales y a la fecha se han producido 7 semillas. Este método también ha permitido producir 673 semillas de *P. chiapasanus* (G40790) y 234 semillas de un híbrido de *P. vulgaris* x *P. dumosus* (G36387); demostrando que es una alternativa de regeneración en los bancos de germoplasma.

Palabras clave: Acodo, Esqueje, Injerto, Frijol Silvestre, Recursos Genéticos.

Abstract

Increase in seeds of *Phaseolus albicarminus* (Leguminosae, Phaseoleae), through asexual propagation techniques.

Phaseolus albicarminus, wild relative of the cultivated bean; It is endemic to Costa Rica and is in danger of extinction. The Future Seeds germplasm bank (Palmira - Colombia) safeguards a single accession (G40901) of this wild bean. The availability of original seeds, the production of new seeds of *P. albicarminus* is limited and scarce. It is susceptible to attack by nematodes and root rot, this creates a risk for the accession. This research evaluated asexual propagation, to identify appropriate conditions to produce enough seeds of this species. Two experiments were carried out under controlled conditions: i. Propagation by layering cuttings and grafts was compared to increase the number of plants and seeds of *P. albicarminus*; ii. The compatibility of 16 bean accessions as rootstocks to propagate *P. albicarminus* was evaluated. The results of the first experiment indicate that grafts (75% budding) are significantly more effective in propagating *P. albicarminus*, compared to layering (25% budding) and cuttings (16.6% budding). In the second experiment, three rootstocks (1 *P. coccineus*, 1 *P. dumosus*, 1 *P. vulgaris*) were identified for the successful propagation of *P. albicarminus*. The use of these rootstocks counteracts the susceptibility of *P. albicarminus* to soil problems (fungi and nematodes), and it was also possible to shorten the days of flowering. Using grafts, 53 *P. albicarminus* plants were established distributed in different experimental stations and to date 7 seeds have been produced. This method has also allowed the production of 673 seeds of *P. chiapasanus* (G40790) and 234 seeds of a hybrid of *P. vulgaris* x *P. dumosus* (G36387); demonstrating that it is an alternative for regeneration in germplasm banks.

Keywords: Cutting, Grafting, Layering, Genetic Resources, Wild Bean

Contenido

	Pág.
Lista de figuras.....	IX
Lista de tablas	XI
Lista de abreviaturas.....	XII
Introducción	1
1. Marco referencial.....	10
1.1 Estado del arte y antecedentes	10
1.1.1 Regeneración y/o multiplicación de <i>Phaseolus</i> silvestres en el Banco de Germoplasma de la Alianza Bioersivity International – CIAT. Programa de Recursos Genéticos- PRG. Palmira – Colombia	10
1.1.2 El injerto de plantas	12
1.2 Marco conceptual.....	17
1.2.1 Los parientes silvestres del frijol	17
1.2.2 Propagación asexual	23
▪ Propagación por acodo	24
▪ Propagación por esqueje	26
▪ Propagación por injerto	29
2. Metodología.....	36
2.1 Estandarización de una metodología de propagación asexual para <i>P. albicarminus</i>	38
2.1.1 Material vegetal	38
2.1.2 Procedimientos.....	39
2.1.3 Diseño experimental	49
2.1.4 Tratamientos, repeticiones y unidad experimental	49
2.1.5 Variables.....	49
2.1.6 Equipos, insumos e instrumentos.	49
2.1.7 Análisis de datos.....	49
2.2 Evaluación de portainjertos para la propagación de <i>P. albicarminus</i>	50
2.2.1 Material vegetal	50
2.2.2 Procedimientos.....	50
2.2.3 Diseño experimental	52
2.2.4 Tratamientos, repeticiones y unidad experimental	52
2.2.5 Variables.....	52
2.2.6 Equipos, insumos e instrumentos.	53
2.2.7 Análisis de datos.....	53

2.3	Producción de semillas de <i>P. albicarminus</i> en las estaciones de regeneración Corrales y Tenerife.....	53
3.	Resultados	55
3.1	Estandarización de una metodología de propagación asexual para aumentar la cantidad plantas de <i>P. albicarminus</i>	55
3.2	Evaluación de portainjertos compatibles para la propagación de <i>P. albicarminus</i> (accesión G40901).	59
3.3	Producción de semillas de <i>P. albicarminus</i> en las estaciones de regeneración Corrales y Tenerife.....	80
4.	Discusión.....	88
5.	Conclusiones y recomendaciones	95
5.1	Conclusiones	95
5.2	Recomendaciones	96
6.	Anexos.....	97
7.	Bibliografía.....	112

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1: Control del tamaño de los árboles de manzana con portainjertos.....	13
Figura 1-2: Árbol filogenético de los grupos de <i>Phaseolus</i>	21
Figura 1-3: Dibujo de <i>Phaseolus albicarminus</i> con todas sus partes.....	22
Figura 1-4: Tipos de acodos.....	24
Figura 1-5: Esquema de propagación por esquejes.....	26
Figura 1-6: Etapas del proceso de formación de las raíces adventicias.....	28
Figura 1-7: Anatomía de los injertos.....	29
Figura 1-8: Diagrama del corte transversal de un vástago a injertar.....	30
Figura 1-9: Diagrama para analizar el éxito o fracaso de un injerto.....	31
Figura 1-10: Esquema del desarrollo de la unión de injerto hasta la reparación de la conexión vascular.....	32
Figura 1-11: Los principales métodos de injerto en hortalizas.....	34
Figura 2-1: Ubicación geográfica de las estaciones de regeneración.....	36
Figura 2-2: Infraestructura para la regeneración de germoplasma de frijol.....	37
Figura 2-3: Plantas de la accesión G40901 - <i>P. albicarminus</i> (colección viva).....	39
Figura 2-4: Flujograma para para la propagación por acodo de <i>P. albicarminus</i>	40
Figura 2-5: Registro fotográfico de la propagación por acodo de <i>P. albicarminus</i>	41
Figura 2-6: Flujograma para para la propagación por esqueje de <i>P. albicarminus</i>	42
Figura 2-7: Registro fotográfico de la propagación por esqueje de <i>P. albicarminus</i>	43
Figura 2-8: Injerto tipo hendidura.....	44
Figura 2-9: Flujograma para la propagación por injerto de <i>P. albicarminus</i> , (Fase 1).	45
Figura 2-10: Flujograma para la propagación por injerto de <i>P. albicarminus</i> , (Fase 2). ..	46
Figura 2-11: Flujograma para la propagación por injerto de <i>P. albicarminus</i> , (Fase 3). ..	47
Figura 2-12: Registro fotográfico de la propagación por injerto de <i>P. albicarminus</i>	48
Figura 3-1: Plantas de <i>P. albicarminus</i> obtenidas mediante acodos.....	57
Figura 3-2: Plantas de <i>P. albicarminus</i> obtenidas mediante esquejes.....	57
Figura 3-3: Plantas de <i>P. albicarminus</i> obtenidas mediante injertos.....	58
Figura 3-4: Plantas de <i>P. albicarminus</i> trasladadas a las estaciones.....	58
Figura 3-5: Evolución del injerto de <i>P. albicarminus</i> (G40901) sobre <i>P. lunatus</i> (G25802), tratamiento 4 que presentó 100% prendimiento, en condiciones controladas a los 43 DDI.	63
Figura 3-6: Evolución del injerto de <i>P. albicarminus</i> (G40901) sobre <i>P. vulgaris</i> (G24727), tratamiento 12 que presentó 100% prendimiento, en condiciones controladas a los 43 DDI.	64

Figura 3-7: Evolución del injerto de <i>P. albicarminus</i> (G40901) sobre <i>P. vulgaris</i> (G6573), tratamiento 15 que presentó 100% prendimiento, en condiciones controladas a los 43 DDI.	65
Figura 3-8: Injertos con mayor altura a los 43 días después de injertados	66
Figura 3-9: Injertos con más cantidad de trifolios a los 43 días después de injertados...	67
Figura 3-10: Evolución del injerto de <i>P. albicarminus</i> (G40901) sobre <i>P. vulgaris</i> (G653) – tratamiento 1, que presentó la mayor altura y más formación de trifolios en condiciones controladas a los 43 DDI.....	68
Figura 3-11: Adaptación a las estaciones de regeneración, del injerto de <i>P. albicarminus</i> sobre <i>P. coccineus</i> (G35170) –tratamiento T9.	71
Figura 3-12: Adaptación a las estaciones de regeneración, del injerto de <i>P. albicarminus</i> sobre <i>P. dumosus</i> (escape TEN) –tratamiento T13.....	72
Figura 3-13: Adaptación a las estaciones de regeneración, del injerto de <i>P. albicarminus</i> sobre <i>P. vulgaris</i> (G6573) –tratamiento T15.....	73
Figura 3-14: Adaptación a las estaciones de regeneración, del autoinjerto <i>P. coccineus</i> (G35170) –testigo tratamiento T9.....	74
Figura 3-15: Adaptación a las estaciones de regeneración, del autoinjerto <i>P. lunatus</i> (G27462) –testigo tratamiento T14.....	75
Figura 3-16: Floración de los injertos de <i>P. albicarminus</i> 365 DDTE de Corrales, sobre dos portainjertos.	76
Figura 3-17: Semilla producida por los autoinjertos en la estación de Corrales.....	77
Figura 3-18: Semilla producida por los autoinjertos en la estación de Tenerife.	78
Figura 3-19: Floración y hábito de crecimiento del injerto de <i>P. albicarminus</i> sobre <i>P. coccineus</i> (G35170) –tratamiento 9.	81
Figura 3-20: Floración y hábito de crecimiento del injerto de <i>P. albicarminus</i> sobre <i>P. dumosus</i> (escape TEN) –tratamiento 13.	82
Figura 3-21: Floración y hábito de crecimiento del injerto de <i>P. albicarminus</i> sobre <i>P. vulgaris</i> (G6573) –tratamiento 15.	83
Figura 3-22: Injerto de <i>P. albicarminus</i> sobre <i>P. dumosus</i> que produjo 7 semillas.	86

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 0-1: Colección mundial de <i>Phaseolus</i> del banco de germoplasma de la Alianza Bioversity International – CIAT.	3
Tabla 0-2: Accesiones críticas de <i>Phaseolus</i> con menos de 10 semillas.	5
Tabla 1-1: <i>Phaseolus</i> silvestres regenerados con éxito en los últimos años, por el equipo de regeneración del Programa de Recursos Genéticos del CIAT.	11
Tabla 1-2: Avances en la propagación de <i>Phaseolus</i> con la técnica del injerto.	11
Tabla 1-3: Estudios de injertos con frijol (<i>Phaseolus</i>).	14
Tabla 1-4: Especies silvestres de <i>Phaseolus</i> actualmente válidas, con indicación general sobre la distribución geográfica, el <i>clade</i> y la calificación de su área de distribución.	18
Tabla 2-1: Condiciones eco-geográficas de las estaciones experimentales y del sitio de colecta de <i>P. albicarminus</i>	37
Tabla 2-2: Material vegetal.	39
Tabla 2-3: Accesiones evaluadas como portainjertos.	51
Tabla 3-1: Plantas establecidas y porcentaje de prendimiento de acodos, esquejes e injertos, en cuatro repeticiones de tres plantas por tratamiento.	55
Tabla 3-2: ANOVA de los acodos, esquejes e injertos de <i>P. albicarminus</i>	56
Tabla 3-3: Comparación de promedios de prendimiento de los acodos, esquejes e injertos.	56
Tabla 3-4: Porcentaje general de injertos de <i>P. albicarminus</i> y autoinjertos prendidos y porcentaje de injertos descartados a los 43 DDI.	59
Tabla 3-5: Porcentaje promedio de injertos prendidos de <i>P. albicarminus</i> y porcentaje de autoinjertos prendidos a los 43 DDI, bajo condiciones controladas.	60
Tabla 3-6: ANOVA para los injertos de <i>P. albicarminus</i>	60
Tabla 3-7: ANOVA para los autoinjertos.	61
Tabla 3-8: Comparación de porcentaje promedio de prendimiento entre Injertos de <i>P. albicarminus</i> y autoinjertos, bajo condiciones controladas.	61
Tabla 3-9: Observaciones de los portainjertos identificados para la propagación de <i>P. albicarminus</i> , bajo condiciones controladas hasta los 43 DDI.	62
Tabla 3-10: Tasa de supervivencia de los injertos de <i>P. albicarminus</i> por tratamiento en las estaciones de regeneración Corrales y Tenerife.	69
Tabla 3-11: Tasa de supervivencia de los autoinjertos (testigos) en las estaciones de regeneración Corrales y Tenerife.	70
Tabla 3-12: Semilla producida por los testigos en las estaciones de Corrales y Tenerife al 15 enero 2024.	79
Tabla 3-13: Plantas de <i>P. albicarminus</i> establecidas en estaciones experimentales.	85

Lista de abreviaturas

.Abreviatura	Término
AIA	Ácido indolacético
ANDEVA	Análisis de varianza
CGIAR	Grupo Consultivo sobre Investigación Agrícola Internacional
CIAT	Centro Internacional de Agricultura Tropical
Crop Trust	Fondo Mundial para la Diversidad de Cultivos
DDI	Días después de injertado
DDTE	Días después de trasplante a la estación experimental
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
IBA	Ácido indolbutírico
Msnm	Metros sobre el nivel del mar
NAA	Ácido naftilacético
PCCMCA	Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales
PRG	Programa de Recursos Genéticos
PSC	Pariente silvestre de los cultivos
SIRGEAC	Simposio Internacional de Recursos Genéticos para las Américas y el Caribe
TIRFAA	Tratado Internacional sobre los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura

Introducción

Los humanos han sido muy exitosos a la hora de reproducirse, esto ha causado en gran medida uno de los principales desafíos que enfrentamos hoy: la pérdida de la diversidad biológica o biodiversidad (Taíz, 2013, p. 167). Las Naciones Unidas (1992), definen que la diversidad biológica comprende la variabilidad dentro de cada especie, entre las especies, de los ecosistemas y de los organismos vivos de cualquier origen. La biodiversidad es un componente fundamental para la agricultura, la seguridad y soberanía alimentaria, pues aporta recursos valiosos para la producción agrícola (FAO, 2019). La diversidad de cultivos y alimentos es esencial para la vida en la tierra, es la base de casi todo lo que comemos y bebemos, sin embargo, está desapareciendo rápidamente (Crop Trust, 2019). La FAO (2010), menciona que en el planeta todos los días hay millones de personas con hambre y teniendo en cuenta, la proyección de crecimiento de la población mundial a 9,000 millones de personas para 2050, los gobiernos de los países se tendrán que esforzar en promover el uso, la conservación sostenible y sustentable de la biodiversidad para la alimentación y la agricultura (p. iii). Mediante un proceso de selección y adaptación constante a las diferentes condiciones ambientales, la diversidad genética vegetal, puede ser un amortiguador contra cambios perjudiciales en el medio ambiente y es un insumo fundamental para la investigación científica e industrial (Vallejo Cabrera y Estrada Salazar, 2002, p. 59). A medida que la población aumente a más de 9 mil millones y el cambio climático sea más intenso, acelerando la propagación de plagas y enfermedades de los cultivos; los parientes silvestres de los cultivos (PSC), pueden llegar a ser indispensables, ya que de cierta manera ofrecen la oportunidad de mejorar la productividad y la resiliencia de la agricultura (Crop Wild Relatives, 2022). Hunter y Heywood (2011), mencionan que, los PSC constituyen una reserva de variabilidad genética que se puede utilizar en el fitomejoramiento, son recursos fundamentales para proteger la seguridad alimentaria, mejorar y sostener la producción agrícola, en el contexto del acelerado crecimiento de la población mundial (p. 3).

Los parientes silvestres, las variedades tradicionales, los cultivares modernos no solo son recursos fitogenéticos, también son una “póliza de seguro genético” para la alimentación mundial (CIAT, 2019). Un PSC es una planta que se vincula con un cultivo, pero a diferencia de este, no ha sido domesticada (Heywood et al., 2007, p. 247). El amplio rango de hábitats en todo el mundo, donde se encuentran los PSC, se están perdiendo o degradando, dejando a muchas especies en peligro de extinción y haciendo esencial tomar medidas urgentes para conservarlas (Hunter y Heywood, 2011, p. 3). La conservación de la diversidad vegetal no es solo un asunto de seguridad alimentaria, debe ser un principio moral de la humanidad (Vallejo Cabrera y Estrada Salazar, 2002, p. 59).

Afortunadamente, los bancos de germoplasma mediante la aplicación de normas y procedimientos luchan por conservar y asegurar la supervivencia y disponibilidad de los recursos fitogenéticos (FAO, 2014, p. 2). La colección más grande y mayormente distribuida de diversidad genética disponible bajo el Sistema Multilateral del Tratado Internacional sobre los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (TIRFAA), se encuentra en los 11 bancos de germoplasma del CGIAR que conservan cerca de 736.210 accesiones entre: cereales, leguminosas, forrajes, especies arbóreas, plátanos, cultivos de raíces y tubérculos, donde muchas de estas accesiones son parientes silvestres de cultivos (CGIAR Genebank Platform, 2022). El desarrollo de esta investigación busca contribuir a la conservación de la colección mundial de frijol (*Phaseolus*) salvaguardada por el banco de germoplasma (Palmira -Colombia) de la Alianza de Bioersity International y el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Formulación del Problema

El banco de germoplasma de la Alianza Bioersity International - CIAT en Palmira, Colombia (2022), conserva la colección de frijol más grande y diversa con 37934 accesiones de 47 especies (Tabla 0-1), que incluye variedades antiguas, variedades comerciales, variedades criollas y silvestres de las 5 especies domesticadas, también cuenta con germoplasma de otras especies silvestres. Según Freytag y Debouck (2002), conocer con detalle la localización de las poblaciones de las diferentes especies de *Phaseolus* es de gran importancia para la conservación de estos recursos genéticos (p. 266).

Tabla 0-1: Colección mundial de *Phaseolus* del banco de germoplasma de la Alianza Bioversity International – CIAT.

Género	Especie	Cantidad accesiones	Género	Especie	Cantidad accesiones		
P h a s e o l i u s	<i>acutifolius</i>	326	P h a s e o l i u s	<i>novoleonensis</i>	1		
	<i>albescens</i>	1		<i>oaxacanus</i>	1		
	<i>albicarminus</i>	1		<i>oligospermus</i>	13		
	<i>albiflorus</i>	7		<i>pachyrrhizoides</i>	20		
	<i>albiviolaecus</i>	1		<i>montanus</i>	20		
	<i>altimontanus</i>	1		<i>pedicellatus</i>	5		
	<i>angustissimus</i>	5		<i>pluriflorus</i>	1		
	<i>augusti</i>	30		<i>polystachios</i>	3		
	<i>carterae</i>	1		<i>rotundatus</i>	3		
	<i>chiapasanus</i>	4		<i>salicifolius</i>	1		
	<i>coccineus</i>	949		<i>talamancensis</i>	2		
	<i>costaricensis</i>	27		<i>texensis</i>	1		
	<i>debouckii</i>	16		<i>tuerckheimii</i>	12		
	<i>dumosus</i>	488		<i>vulgaris</i>	32328		
	<i>esperanzae</i>	7		<i>vulgaris x dumosus</i>	4		
	<i>filiiformis</i>	36		<i>coccineus x dumosus</i>	2		
	<i>glabellus</i>	8		<i>coccineus x vulgaris</i>	15		
	<i>grayanus</i>	2		<i>costaricensis x dumosus</i>	3		
	<i>hintonii</i>	4		<i>costaricensis x vulgaris</i>	1		
	<i>hygrophilus</i>	1		<i>dumosus x costaricensis</i>	6		
	<i>leptostachyus</i>	105		<i>dumosus x vulgaris</i>	14		
	<i>lignosus</i>	2		<i>lunatus x polystachyus</i>	1		
	<i>lunatus</i>	3301		<i>vulgaris x acutifolius</i>	6		
	<i>macrolepis</i>	2		<i>vulgaris x coccineus</i>	19		
	<i>maculatus</i>	1		<i>vulgaris x costaricensis</i>	4		
	<i>macvaughii</i>	2		<i>vulgaris x dumosus</i>	12		
	<i>magnilobatus</i>	4		<i>vulgaris x montanus x acutifolius)</i>	18		
	<i>marechalii</i>	5		<i>vulgaris x montanus</i>	1		
	<i>micranthus</i>	1		<i>xanthotrichus</i>	41		
	<i>microcarpus</i>	29		<i>zimapanensis</i>	8		
	<i>nodosus</i>	1					
	Cantidad total de especies: 47 + 14 híbridos interespecíficos				Cantidad total de accesiones: 37934		

Nota. Adaptado de la base de datos del Programa de Recursos Genéticos (PRG) - CIAT, (2022).

4 Aumento de semillas de *Phaseolus albicarminus* (Leguminosae, Phaseoleae) mediante técnicas de propagación asexual

El Programa de Recursos Genéticos – PRG tiene la obligación de conservar la mayor diversidad del frijol (de acuerdo con el mandato que da el TIRFAA al CIAT). Esto solo es posible si hay la capacidad de reproducir periódicamente el material conservado y en una sola vez producir la cantidad de semilla necesaria para la distribución del germoplasma y el establecimiento de copias de seguridad (Debouck, 2015). Existen desafíos y dificultades a la hora de regenerar y producir las 2000 semillas de algunas accesiones, en particular las especies silvestres. Las principales dificultades han sido: la amplia diversidad de la colección y las limitadas condiciones ecogeográficas, pues la mayoría de las especies silvestres en condiciones naturales tienen un rango eco-geográfico específico de adaptación (por ejemplo, un rango determinado de temperaturas y fotoperíodo).

Actualmente hay 18 accesiones críticas (Tabla 0-2), de especies como *P. albicarminus*, *P. coccineus*, *P. hygrophilus*, *P. lunatus*, *P. pedicellatus*, *P. tuerckheimii*, *P. vulgaris*, y dos híbridos: uno de *P. dumosus* x *P. costaricensis* y otro de *P. dumosus* x *P. vulgaris*. Son accesiones críticas porque no cuentan con las cinco reservas de semillas (para la base, para los monitoreos periódicos de viabilidad, para la distribución, para el país de origen si lo requiere, y para las copias de seguridad), que debe tener cada material conservado en el Banco de germoplasma del CIAT (Debouck, 2009). Esto genera una preocupación enorme para el PRG, debido al riesgo de perder diversidad en la colección más grande de frijol y lo más importante no poder tenerlas disponibles para su distribución.

Esta situación se ha presentado desde 1978, cuando ingresaron al Banco accesiones y colecciones de aproximadamente 113 países con condiciones ecológicas muy diferentes a las de Colombia. El reto es producir semillas en sólo 4 - 5 estaciones de regeneración, teniendo en cuenta la procedencia de la colección de *Phaseolus*. Parte del trabajo del Banco de Germoplasma es desarrollar los protocolos de regeneración y multiplicación que sean necesarios para lograr la disponibilidad del 100% de la colección de frijol (Dr. D.G. Debouck, comunicación personal, 11 de junio de 2020). Dado el tamaño de la colección, es necesario lograr un progreso neto, es decir, producir todas las semillas necesarias para todos los fines durante el período más largo posible, y continuar con otras muestras en la fila de espera que necesitan regeneración o una primera multiplicación (Debouck, 2009).

Tabla 0-2: Accesiones críticas de *Phaseolus* con menos de 10 semillas.

Accesión	Especie	Semilla Total
G40901	<i>P. albicarminus</i>	1
G35874	<i>P. coccineus</i>	4
G36107	<i>P. coccineus</i>	3
G40815	<i>P. hygrophilus</i>	0
G25617B	<i>P. lunatus</i>	4
G26706	<i>P. lunatus</i>	4
G40786	<i>P. pedicellatus</i>	6
G40884	<i>P. tuerckheimii</i>	3
G 6516	<i>P. vulgaris</i>	4
G19759	<i>P. vulgaris</i>	4
G50015D	<i>P. vulgaris</i>	5
G50101	<i>P. vulgaris</i>	5
G51971	<i>P. vulgaris</i>	5
G52044	<i>P. vulgaris</i>	9
G52261	<i>P. vulgaris</i>	2
G52412	<i>P. vulgaris</i>	2
G40896A	<i>P. dumosus</i> x <i>P. costaricensis</i>	5
G2476502	<i>P. dumosus</i> x <i>P. vulgaris</i>	5

Nota. Adaptado de documento de trabajo del PRG - CIAT, (2022).

Teniendo en cuenta que la accesión G40901 (*P. albicarminus*), es la única accesión de esta especie que tiene el banco de germoplasma y solamente tiene una semilla disponible (Tabla 0-2) y unas plantas consideradas como colección viva, establecida en cámara de ambiente controlado ubicada en la sede principal del CIAT, es urgente establecer una metodología para regenerar o multiplicar exitosamente esta accesión. Con el desarrollo de esta investigación se pretende aumentar la cantidad de semillas de la accesión G40901 (*P. albicarminus*), mediante técnicas asexuales. La experiencia que se gane con este trabajo se puede replicar con las otras accesiones de escasa producción de semillas.

Justificación

Un Banco de Germoplasma debe tener la capacidad de multiplicar el material conservado; de lo contrario no es posible conservar a largo plazo, mucho menos distribuir para materializar el acceso, ni estudiar o usar posteriormente las accesiones conservadas. Proteger la biodiversidad es fundamental para las generaciones futuras, es un recurso perecedero que se agota cada vez más (Vallejo Cabrera y Estrada Salazar, 2002, p. 59). Los principales objetivos de los bancos de germoplasma son la conservación a largo plazo y el acceso de las diversas colecciones de recursos fitogenéticos, para todos los usuarios (FAO, 2014, p. 2).

Para mantener las colecciones de los bancos de germoplasma es necesario utilizar diversos métodos de propagación (Engels y Visser, 2007, p. 50). La propagación es la capacidad de las plantas para multiplicarse, ya sea de forma sexual (semillas) o de forma asexual (vegetativa, mediante células, tejidos y órganos). Existen diferentes métodos para propagar las plantas vegetativamente, estos incluyen acodos, esquejes (de madera blanda y dura, de raíces, de hojas), estratificación, injertos y micropropagación (in vitro) (Vince Prue y Yeomans, 2018, p. 162). La estrategia de conservación y de distribución de la colección de *Phaseolus* es mediante semillas botánicas conservadas a baja temperatura: -20°C si son ortodoxas o + 5°C si son intermedias como el caso de *P. hygrophilus* (Debouck y Santos, 2019). En reuniones de trabajo, el equipo de regeneración de frijol del PRG de la Alianza Bioversity International - CIAT, se ha cuestionado: ¿cómo reproducir con éxito las accesiones de *Phaseolus* resaltadas la Tabla 0-2?, ¿por qué estas accesiones no han producido la cantidad suficiente de semillas?, y ¿qué ocasionó que su inventario total de semillas sea menor a 10?

El coordinador de regeneración del PRG, menciona que algunas de las estrategias utilizadas para la producción de semilla en estas especies han sido: selección de ambiente en términos de temperatura, humedad y horas luz, utilizar suelos o sustratos adecuados, polinización manual, y uso de cámaras especiales de crecimiento (J.M. Gereda, comunicación personal, 1 de septiembre de 2020).

Muchas de estas especies crecen en suelos derivados de basaltos, por lo que en las estaciones experimentales se ha dificultado un control eficaz contra *Macrophomina* y otros hongos responsables de pudriciones, otra dificultad ha sido entender la fisiología y factores endógenos de cada especie/accesión, y principalmente su proceso de polinización en muchos casos los polinizadores naturales y los organismos benéficos de la *rhizosfera* tales como *micorrizas*, hongos y bacterias que pueden controlar hongos patógenos como *Fusarium* o *Macrophomina*, están en el país de origen (Dr. D.G. Debouck, comunicación personal, 11 de junio de 2020).

Basados en la teoría de la toti-potencialidad celular que es la capacidad de los meristemos vegetales para crecer, donde las células de la planta contienen la información necesaria para dar origen a una nueva planta con las mismas características de la planta madre y a partir de la división celular, bajo el proceso de mitosis se genera una diferenciación celular y crecimiento de tejidos somáticos (Dirección de Escuelas Agrarias - MINAGRO, 2008; Millán Ramos & Salvador Pardo, 2018; Osuna Fernández et al., 2016; Rojas González et al., 2004). Se han utilizado técnicas de propagación asexual como acodos y esquejes, para no consumir las pocas semillas originales de las accesiones críticas; esto ha permitido conservar como colección viva, unas pocas plantas de la accesión G40901 (*P. albicarminus*), y la accesión G40815 (*P. hygrophilus*). Sin embargo, en ocasiones estas accesiones se han visto comprometidas por problemas radiculares, teniendo que recurrir a conservación in vitro.

Hasta entonces no se había contemplado la técnica del injerto, que tiene múltiples usos y beneficios como el cambio de cultivar, control del tamaño, creación de formas de crecimiento inusuales, estudios fisiológicos, propagación vegetativa, reparación, tolerancia a estrés biótico y abiótico y transferencia de agentes infeccioso (Mudge et al., 2009, pp. 441–445; Osuna Fernández et al., 2016; Tedesco et al., 2022). Por estas razones desde el 2017 se empezó a utilizar los injertos como alternativa para la propagación de estas especies críticas (poca o nada disponibilidad de semilla), tanto silvestres como cultivadas. Se comprobó que es una técnica viable para la producción de semillas de frijol utilizando portainjertos adaptados y compatibles como *P. dumosus*, (Sabogal-Carvajal et al., 2021),

El frijol silvestre: *P. albicarminus* (accesión G40901), es una nueva especie, descrita en 2020 por Debouck et al., y hace parte de la colección de *Phaseolus* que salvaguarda el banco de germoplasma de la Alianza Bioversity International – CIAT. Esta accesión se logró cultivar en la estación experimental CIAT Popayán - Colombia (Araya Villalobos et al., 2014), desde entonces no se ha podido obtener otro ciclo semilla – semilla. Hasta el punto de que en el 2020 había solo tres plantas como colección viva y sin semilla para distribuir. Adicionalmente, el Laboratorio de Sanidad de Germoplasma del PRG (2022), reportó la presencia de nematodos, en la zona radicular de una de las plantas que se encuentra en una cámara de crecimiento artificial como colección viva y esto compromete la representativa de esta accesión.

En esta investigación, se buscó aumentar la cantidad plantas y semillas de *P. albicarminus*; mediante la propagación asexual (acodo esqueje e injerto). Se evaluaron diferentes portainjertos buscando acelerar los ciclos reproductivos de *P. albicarminus*. Al obtener una floración y fructificación más temprana de una accesión se acortan los ciclos de multiplicación, esto significa que el material estará disponible al público en menor tiempo y se pueden reducir los costos de operación para el Banco de Germoplasma. También se buscó identificar portainjertos resistentes a problemas radiculares, para mitigar la susceptibilidad de *P. albicarminus* a los ataques de nemátodos y *Macrophomina*.

Formulación de las hipótesis

Hi₁: Al menos mediante uno de los tres métodos de propagación asexual (acodo esqueje e injerto) se puede obtener nuevas plantas de *P. albicarminus*.

Ho₁: Ninguno de los tres métodos de propagación asexual (acodo esqueje e injerto), funciona para obtener nuevas plantas de *P. albicarminus*.

Hi₂: Al menos uno de los portainjertos utilizados presenta compatibilidad para la propagación de *P. albicarminus*.

Ho₂: Ninguno de los portainjertos utilizados presenta compatibilidad para la propagación de *P. albicarminus*.

Objetivo general

Aumentar las plantas y semillas de *Phaseolus albicarminus*,

Objetivos específicos

Estandarizar una metodología de propagación asexual para *P. albicarminus*.

Evaluar portainjertos para la propagación de *P. albicarminus*.

Producir semillas de *P. albicarminus* en las estaciones de regeneración Corrales y Tenerife

1. Marco referencial

1.1 Estado del arte y antecedentes

1.1.1 Regeneración y/o multiplicación de *Phaseolus* silvestres en el Banco de Germoplasma de la Alianza Bioersity International – CIAT. Programa de Recursos Genéticos- PRG. Palmira – Colombia

En el PRG, el equipo de regeneración enfrenta grandes retos, como la producción de semillas de las accesiones de los *Phaseolus* silvestres e híbridos naturales que salvaguarda el banco de germoplasma. Estas especies silvestres de frijol se caracterizan por adaptarse a ambientes específicos y han logrado evolucionar por muchos años (Debouck, 1988, p.5).

Otro inconveniente ha sido no contar con el número suficiente de estaciones experimentales para poder multiplicar la diversa colección de frijol, que podría venir de una docena de condiciones ecológicas distintas, y se trata de multiplicar en cuatro estaciones, algunas representativas, pero aún falta. A medida que se comprende la fisiología de cada especie y se tienen las condiciones adecuadas, se puede producir la semilla suficiente, con la calidad que exige el banco de germoplasma para su conservación y distribución.

En la Tabla 1-1, están las especies silvestres de frijol regeneradas exitosamente en los últimos años, por ejemplo: *P. filiformis*, *P. zimapanensis*, *P. tuerckheimii* y *P. chiapasanus* (Debouck, 2017; Debouck et al., 2018; Sabogal Carvajal et al., 2020; Gereda et al., 2021). Se utilizan diferentes estrategias, para obtener semillas que cumplan con los estándares de calidad fisiológica, calidad fitosanitaria y calidad en la integridad genética, para su conservación y distribución (CIAT - Programa de Recursos Genéticos et al., 2017, p. 3).

Tabla 1-1: *Phaseolus* silvestres regenerados con éxito en los últimos años, por el equipo de regeneración del Programa de Recursos Genéticos del CIAT

Año	Especie (Accesión)	País de origen	Semilla total producida	Estrategia de regeneración
2017	<i>P. filiformis</i> (G40689)	México	5258	Uso de cámaras de crecimiento artificial.
2018	<i>P. zimapanensis</i> (G40562)	México	2083	Uso de cámaras de crecimiento artificial.
2020	<i>P. tuerckheimii</i> (G40578)	Guatemala	4191	Estructura móvil en campo abierto - estación de Tenerife.
2021	<i>P. chiapasanus</i> (G40794)	México	1614	Casas de malla y polinización manual en la estación de Tenerife.

Nota. Adaptado de Debouck, D.G. (2017); Debouck, et al. (2018); Sabogal-Carvajal, et al. (2021); Gereda, et al. (2021)

En el 2018 el equipo de regeneración empezó a utilizar la técnica del injerto como estrategia para producir semillas de algunas especies de frijol, aunque no se produjo semillas, se evidenció compatibilidad de especies con diferentes secciones del género *Phaseolus* (Tabla 1-2). En el caso de la accesión G40901 (*P. albicarminus*) injertada sobre G40542 (*P. oligospermus*) se ha obtenido floración, pero no formación de frutos. La accesión G40815 (*P. hygrophilus*) injertada sobre las accesiones G40542 (*P. oligospermus*) y G35684 (*P. dumosus*) solo se ha logrado crecimiento foliar (Observación personal, datos no publicados – CIAT, 2019).

Tabla 1-2: Avances en la propagación de *Phaseolus* con la técnica del injerto.

Fecha injertación	Especie injertada (accesión)	Especie Portainjerto (accesión)	Observaciones
10 julio 2018	<i>P. albicarminus</i> (G40901)	<i>P. oligospermus</i> (G40542)	Son especies de la misma sección (<i>Brevilegumeni</i> Freytag). Los injertos muestran compatibilidad y en varias ocasiones han florecido. Actualmente (noviembre 2023) hay 1 injerto con esta combinación en la cámara de crecimiento artificial.
3 abril 2019	<i>P. hygrophilus</i> (G40815)	<i>P. oligospermus</i> (G40542)	Son especies de la misma sección (<i>Brevilegumeni</i> Freytag). Se ha observado compatibilidad con esta combinación y se logró establecer 2 injertos.
28 mayo 2019	<i>P. hygrophilus</i> (G40815)	<i>P. dumosus</i> (G35684)	Son especies de diferente sección (<i>Brevilegumeni</i> Freytag - <i>Phaseoli</i> DC). Se ha observado compatibilidad con esta combinación y se logró establecer 3 injertos.

Nota. Datos no publicados, por el Equipo de Regeneración- PRG - CIAT (2023).

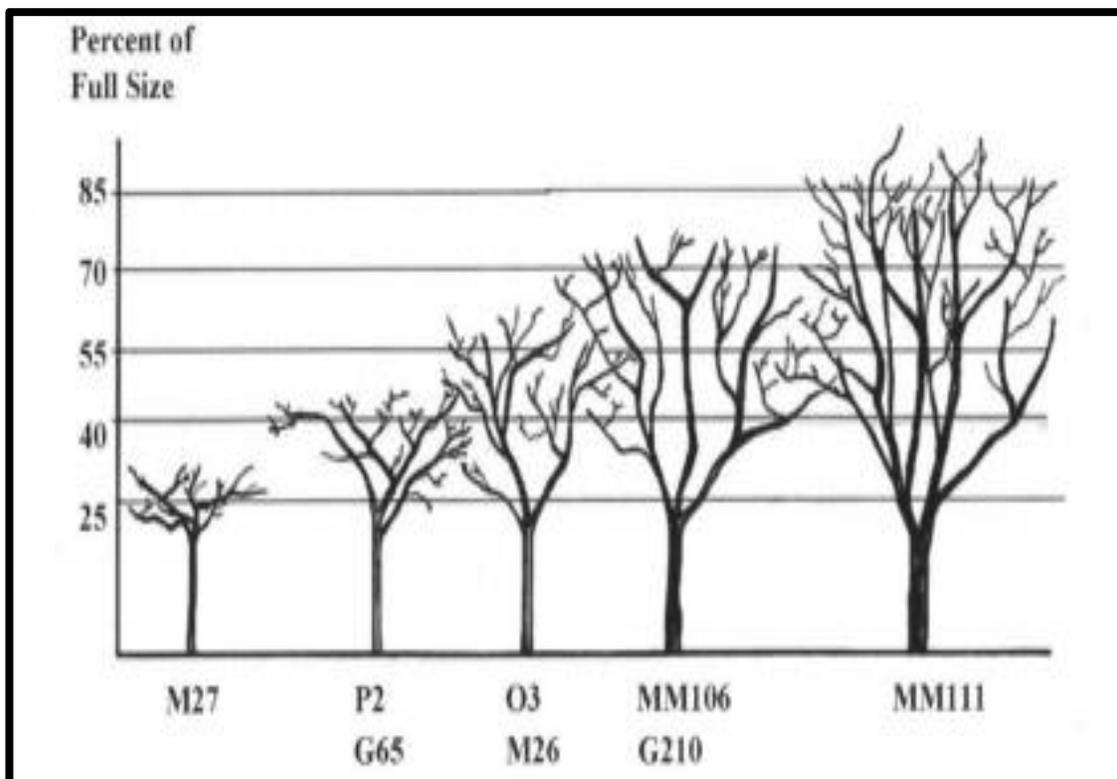
1.1.2 El injerto de plantas

Los orígenes de este arte son muy antiguos (1400 a.C.), es muy conocido y hay evidencia que ha sido practicado en muchas épocas y regiones como Mesopotamia, Fuentes bíblicas y talmúdicas, Antigua Grecia y Persia, Roma, China, Europa medieval y Período islámico, Europa renacentista, Europa moderna, Siglo XIX, XX y XI (Mudge et al., 2009, p. 449 - 475; Velasco Alvarado, 2013, p. 8). Existen casos muy famosos donde utilizaron la técnica del injerto para abordar problemas de gran impacto económico (Frey et al., 2022).

Uno caso se presentó a finales del siglo XIX, donde la invasión de filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae*), se extendió por toda Europa afectando miles de hectáreas de los cultivos de viñedo de Alemania, Francia, Italia y Portugal (Pérez Moreno, 2002, p. 218). Leo Laliman, proponía en 1869 el injerto de las viníferas europeas sobre portainjertos americanos como método de lucha contra esta plaga (Martínez Rodríguez et al., 1999, p. 20; Mudge et al., 2009, p. 469). La devastación de los viñedos causada por la filoxera se detuvo con el uso de portainjertos de especies silvestres de uva americana (Crop Wild Relatives, 2022). En el siglo XX el virus de la tristeza de los cítricos asoló muchas plantaciones ocasionando la muerte de muchos árboles en cuestión de semanas, arruinando la citricultura en España (Frey et al., 2022). La situación se controló usando portainjertos tolerantes al virus (Ministerio de Agricultura, Gobierno de España, 2014, p. 76).

Otro caso importante se presenta en el cultivo de la manzana, donde utilizaron portainjertos para la disminución del tamaño de los árboles (Figura 1-1) y con un solo cultivar injertado en diferentes portainjertos pueden generar árboles que van desde 2 a 10 m de altura (Mudge et al., 2009, p. 442). Esto facilitó el manejo agronómico del cultivo y en especial la reducción de costos en las cosechas.

Figura 1-1: Control del tamaño de los árboles de manzana con portainjertos.



Nota. Tomado de A History of Grafting (p. 477), por Mudge et al., 2009, Horticultural Reviews.

A nivel mundial son muchas y diversas las investigaciones que se han realizado sobre el injerto, principalmente en frutales como los cítricos, manzanos, perales, almendros, cacao, aguacates y castaños y algunas especies hortícolas como la calabaza, calabacín, melón, sandía berenjena, pimiento y tomate (Frey et al., 2022). Esta técnica de propagación vegetal ha sido empleada para diversos fines como mejorar la productividad, inducir tolerancia a plagas o enfermedades, aumentar la calidad de la cosecha, obtener cultivos precoces, entre otras. Los beneficios de utilizar la técnica del injerto de plántulas se reconocen en todo el mundo (Lee et al., 2010, p. 104). Sin embargo, en el cultivo de frijol, son escasas las investigaciones relacionadas con esta técnica (pocas publicaciones sobre el tema), comparado con el tomate, por ejemplo. En la Tabla 1-3, se relacionan las investigaciones relacionadas con injertos en frijol.

Tabla 1-3: Estudios de injertos con frijol (*Phaseolus*).

Espece injertada	Espece Portainjerto	Objetivo	Conclusiones	Fuente
<i>P. vulgaris</i>	<i>P. coccineous</i>	Evaluar el porcentaje de prendimiento del injerto y rendimiento en dos variedades del frijol ejotero injertadas sobre dos variedades de frijol ayocote como portainjerto.	El frijol ejotero injertado en frijol ayocote representa una alternativa para mejorar el rendimiento y calidad del fruto. Es necesario realizar más trabajos en diferentes condiciones ambientales, tipos de suelo, extensión, enfrentamiento a enfermedades y sus posibles portainjertos para su futura aplicación en la producción comercial.	Bernal Álzate et al., 2016, pp. 44, 46.
<i>P. vulgaris</i> <i>P. acutifolius</i> <i>P. angustissimus</i> (<i>P. acutifolius</i> x <i>P. angustissimus</i>)	<i>P. vulgaris</i> <i>P. coccineous</i>	Identificar portainjertos compatibles de <i>P. vulgaris</i> y <i>P. coccineus</i> , y determinar si el injerto es una forma más eficiente que los esquejes para la propagación asexual del frijol.	El injerto es una técnica eficiente en comparación con la técnica de esqueje para el aumento de la semilla en plantas de frijol y que este método en <i>Phaseolus sp.</i> permite una rápida multiplicación de plantas y el aumento de las semillas de primera generación. El ICA Pijao fue claramente el mejor portainjerto para injertar vástagos de las especies de <i>Phaseolus</i> investigadas aquí. Los injertos fueron superiores a los esquejes enraizados para la perpetuación y la multiplicación de especies de frijol.	Gurusam y et al., 2010, pp. 300, 302, 303.
<i>P. vulgaris</i>	<i>P. vulgaris</i>	Caracterizar y mitigar el enanismo híbrido en el frijol común, mediante el uso de injertos.	El injerto puede usarse para caracterizar genotipos para la presencia de los alelos DI-1 y DI-2 y para producir brotes normales en plantas que de otro modo habrían sido enanas. El injerto se utilizó con éxito para obtener brotes F1 normales y, en última instancia, para producir semillas F2 después de dos ciclos de retrocruzamiento.	White et al., 1991, p. 19.

(continúa)

Tabla 1-3: (Continuación)

Especie injertada	Especie Portainjerto	Objetivo	Conclusiones	Fuente
<i>P. vulgaris</i> <i>P. acutifolius</i>	<i>P. vulgaris</i> <i>P. acutifolius</i>	Determinar el efecto del genotipo del sistema radicular sobre el estado hídrico de las hojas y la resistencia al estrés hídrico, utilizando injertos recíprocos entre <i>P. acutifolius</i> y <i>P. vulgaris</i> .	Los portainjertos de <i>P. acutifolius</i> aumentaron los brotes <i>P. vulgaris</i> . Las raíces <i>P. acutifolius</i> pueden tener una mayor conductividad hidráulica que las raíces <i>P. vulgaris</i> .	Sanders y Markhart, 1992, p. 1563.
<i>P. vulgaris</i> <i>P. acutifolius</i>	<i>P. vulgaris</i> <i>P. acutifolius</i>	Determinar si se podían realizar injertos entre <i>P. vulgaris</i> y <i>P. acutifolius</i> , y determinar si el genotipo de la raíz condiciona una respuesta fisiológica en el tallo de las plantas injertadas.	El injerto recíproco de frijol común y tepari se comportó de forma similar al control de frijol común. No hubo ningún efecto del injerto en el frijol común (autoinjerto); sin embargo, el autoinjerto tepariano se diferenció del control tepariano en cuanto a los índices de conductancia estomática y fotosíntesis.	Sharkoff y Brick, 1990, p. 190.
<i>P. vulgaris</i>	<i>P. vulgaris</i>	Evaluar el rendimiento de injertos de frijol común bajo estrés por sequía.	En todos los ensayos, el genotipo de la raíz tuvo un efecto significativo y generalmente grande sobre el rendimiento de las semillas. Estos resultados sugieren que las características de las raíces son de importancia primordial para determinar la respuesta a la sequía del frijol común.	White & Castillo, 1989, p. 360.

(continúa)

Tabla 1-3: (Continuación)

Especie injertada	Especie Portainjerto	Objetivo	Conclusiones	Fuente
<i>P. vulgaris</i>	<i>P. vulgaris</i>	Evaluar la temperatura, el método de injerto y la influencia del portainjerto en la clorosis del frijol por deficiencia de hierro.	Cuando se injertaron genotipos susceptibles a la deficiencia de Fe en genotipos resistentes, las hojas de las plantas injertadas fueron más verdes que las no injertadas. En combinaciones recíprocas, las hojas de los injertos de genotipos resistentes se tornan cloróticas. Esto señala que el portainjerto de frijol parece controlar la resistencia a la clorosis, probablemente debido a la absorción radical o a la translocación de Fe.	Zaiter et al., 1987, p. 1023.
<i>P. vulgaris</i>	<i>P. vulgaris</i>	Describir el procedimiento de injerto de clip de hendidura y evaluar su utilidad para cultivar plantas de frijol común en el invernadero o campo.	Las plantas injertadas se trasplantaron al invernadero y al campo exitosamente. El rendimiento, el peso de la planta, la relación entre el peso de la semilla y el peso seco de la porción aérea de la planta, se vieron afectados por el injerto en el mismo genotipo u otros utilizados como portainjertos.	Izquierdo y Hosfield, 1982, p. 750.
<i>P. vulgaris</i> <i>P. radiatus</i> (sinónimo de <i>Vigna radiata</i>)	<i>P. vulgaris</i> <i>P. radiatus</i> (sinónimo de <i>Vigna radiata</i>)	Evaluar la respuesta de crecimiento del escarabajo azuki (<i>Callosobruchus chinensis</i> L.) en los injertos combinados entre el frijol azuki y el frijol común.	Las plantas injertadas presentaron una disminución en la actividad fisiológica de la cepa debido al efecto del injerto; y dependiendo del momento del injerto, es posible sobrevivir y dar fruto.	Umeya e Imai, 1963, p. 154.

Nota. Elaborado a partir de la bibliografía

1.2 Marco conceptual

1.2.1 Los parientes silvestres del frijol

El origen del género *Phaseolus* empieza en el Nuevo Mundo (Debouck, 1978, p. 1; Gepts y Debouck, 1991, p. 8; Freytag y Debouck, 2002; Debouck, 2021, p. 74), y fue definido por Linnaeus (1753, p. 723). La historia evolutiva y de domesticación de este género es única, tiene cinco especies domesticadas: *P. vulgaris* (frijol común), *P. coccineus* (frijol de corral o riñón), *P. lunatus* (frijol lima, mantequilla o sieva), *P. acutifolius* (frijol tepary) y *P. dumosus* (acatalete, frasco o frijol de año), como resultado de domesticaciones independientes (Debouck, 1986, p. 4; Crop Wild Relatives, 2019). Las especies silvestres de los frijoles se encuentran ampliamente distribuidas desde la frontera canadiense y llegan hasta Argentina, las Islas Bermudas, las Islas del Caribe y las Islas Galápagos; su distribución se da principalmente en el trópico y los subtrópicos del Nuevo Mundo (Debouck, 2021, p. 74; Dohle et al., 2019, p. 99).

El frijol común fue domesticado en Mesoamérica y en los Andes Centro-Sur, probablemente de forma independiente con poblaciones de frijoles silvestres morfológica y bioquímicamente distintos (Gepts y Debouck, 1991, p. 8). Se reconocen tres grupos genéticos silvestres para el frijol común: el mesoamericano, el andino y los grupos del norte de Perú – Ecuador (Crop Wild Relatives, 2019). Existe evidencia arqueológica, botánica, ecológica y argumentos bioquímicos que respaldan las anteriores apreciaciones (Debouck, 1986, p. 9; Debouck y Tohme, 1989, p. 3; Debouck, 1992, p. 10). *Phaseolus* es un género monofilético (Delgado-Salinas et al., 1993, p. 6). Se han validado 81 especies silvestres (Tabla 1-4), distribuidas en bosques diversos desde el nivel del mar hasta los 3.000 m (Debouck, 2021, p. 74).

Tabla 1-4: Especies silvestres de *Phaseolus* actualmente válidas, con indicación general sobre la distribución geográfica, el *clade* y la calificación de su área de distribución.

	Especie de <i>Phaseolus</i>	Área de distribución geográfica	Clade	R*
1	<i>acutifolius</i>	Suroeste de EE. UU., noroeste de México hasta el eje Neovolcánico	B	W
2	<i>albescens</i>	Oeste del eje Neovolcánico de México	B	I
3	<i>albicarminus</i>	Fila Bustamante en el centro de Costa Rica	A	E
4	<i>albiflorus</i>	Al norte de la Sierra Madre Oriental en México	A	E
5	<i>albinervus</i>	Oeste de Chihuahua de México	B	E
6	<i>albiviolaecus</i>	Al norte de la Sierra Madre Oriental en México	A	E
7	<i>altimontanus</i>	Al norte de la Sierra Madre Oriental en México	A	E
8	<i>amabilis</i>	Al norte de la Sierra Madre Oriental en México	A	E
9	<i>amblyosepalus</i>	Frontera de Durango y Sinaloa en México	A	E
10	<i>angucianae</i>	Fila Cruces Sureste de Costa Rica	A	E
11	<i>angustissimus</i>	Suroeste de Estados Unidos y noroeste de México	B	W
12	<i>anisophyllus</i>	Suroeste de Chihuahua y sur de Durango de México	A	E
13	<i>augusti</i>	Andes, desde el sur de Ecuador hasta el noroeste de Argentina	B	W
14	<i>campanulatus</i>	Extremo oeste del eje Neovolcánico de México	A	E
15	<i>carterae</i>	Extremo sur de Baja California de México	B	E
16	<i>chiapasanus</i>	Zonas de Veracruz, Oaxaca y Chiapas en México	A	I
17	<i>coccineus</i>	Desde Chihuahua, México, hasta Morazán, Honduras.	B	W
18	<i>costaricensis</i>	Centro y este de Costa Rica al oeste de Panamá	B	I
19	<i>dasyctarpus</i>	Extremo sur de la Sierra Madre Oriental en México	A	E
20	<i>debouckii</i>	Vertiente pacífica los Andes, suroeste de Ecuador, noroeste de Perú	B	I
21	<i>dumosus</i>	Montañas volcánicas del suroeste de Guatemala	B	E
22	<i>esperanzae</i>	Centro y este del eje Neovolcánico de México	A	I
23	<i>esquincensis</i>	Centro de Chiapas de México	A	E
24	<i>filiformis</i>	Golfo de California, noroeste de México y Texas	B	W
25	<i>glabellus</i>	Golfo de México, desde Tamaulipas hasta Chiapas	A	W
26	<i>gladiolatus</i>	México Central	A	I
27	<i>grayanus</i>	Norte de México hasta Arizona, Nuevo México y Texas hasta Jalisco	A	W
28	<i>hintonii</i>	Centro oeste de México	A	E
29	<i>hygrophilus</i>	Centro Sur de Costa Rica	A	E
30	<i>jaliscanus</i>	Centro y Sur de la Sierra Madre Occidental de México	B	I
31	<i>juquilensis</i>	Noroeste y centro de Oaxaca de México	B	E
32	<i>laxiflorus</i>	Este del eje Neovolcánico de México	A	E
33	<i>leptophyllus</i>	Centro de Guerrero de México	A	E
34	<i>leptostachyus</i>	Desde el norte de México hasta el sureste de Costa Rica	B	W
35	<i>lignosus</i>	Las Bermudas	B	E
36	<i>lunatus</i>	América Central y del Sur, el Caribe	B	W
37	<i>macrolepis</i>	Centro y suroeste de Guatemala	A	E
38	<i>maculatifolius</i>	Al norte de la Sierra Madre Oriental en México	B	E
39	<i>maculatus</i>	Arizona a través de Texas hasta Puebla de México	B	W
40	<i>macvaughii</i>	Costa Oeste de México desde Sinaloa hasta Guerrero	B	W
41	<i>magnilobatus</i>	Centro Oeste de México	A	E

* (E= endémica; I= intermedia; W= extendida).

(continúa)

Tabla 1-4: (Continuación)

	Especie de <i>Phaseolus</i>	Área de distribución geográfica	Cla de	R *
42	<i>marchalii</i>	Centro y este del eje Neovolcánico de México	B	I
43	<i>micranthus</i>	Oeste del eje Neovolcánico y toda la costa del Pacífico de México	B	W
44	<i>microcarpus</i>	Desde Durango, México, hasta el noroeste de Costa Rica	A	W
45	<i>mollis</i>	Islas Galápagos	B	E
46	<i>montanus</i>	Arizona hasta el este de Guatemala	B	W
47	<i>neglectus</i>	Al norte de la Sierra Madre Oriental, México	A	E
48	<i>nelsonii</i>	El sur de México hasta Chiapas	A	I
49	<i>nodosus</i>	Oeste del eje Neovolcánico de México	B	E
50	<i>novoleonensis</i>	Al norte de la Sierra Madre Oriental, México	B	E
51	<i>oaxacanus</i>	Centro de Oaxaca de México	A	E
52	<i>oligospermus</i>	Chiapas de México al centro de Costa Rica	A	W
53	<i>parvulus</i>	Suroeste de EE. UU. hasta la Sierra Madre Occidental de México	A	W
54	<i>pauciflorus</i>	De Chihuahua a Oaxaca, México	A	W
55	<i>pedicellatus</i>	Eje Neovolcánico, Sierra Madre Oriental y Occidental de México	A	W
56	<i>perplexus</i>	Oeste Eje Neovolcánico de México	A	I
57	<i>persistentus</i>	Volcanes centrales de Guatemala	B	E
58	<i>plagiocylis</i>	Centro oriental de Nuevo León de México	A	E
59	<i>pluriflorus</i>	Oeste y centro de México	A	I
60	<i>polymorphus</i>	Norte y este del centro de México	A	I
61	<i>polystachyus</i>	Este de EE. UU., desde Nueva York hasta Florida y el este de Texas	B	W
62	<i>purpusii</i>	Oeste de San Luis Potosí de México	A	E
63	<i>reticulatus</i>	Suroeste de Durango en México	B	E
64	<i>ritensis</i>	Suroeste de EE. UU. y noroeste de México	B	W
65	<i>rotundatus</i>	Centro de Jalisco y Michoacán de México	B	I
66	<i>salicifolius</i>	Oeste de Durango y este de Sinaloa de México	B	E
67	<i>Scrobiculatifolius</i>	Norte de Michoacán de México	B	E
68	<i>sinuatus</i>	Sureste de EE. UU. desde Carolina del Norte hasta Florida	B	I
69	<i>smilacifolius</i>	Florida central de EE. UU.	B	E
70	<i>sonorensis</i>	Sureste de Sonora y Suroeste de Chihuahua de México	B	E
71	<i>talamancensis</i>	Centro sur y sureste de Costa Rica	A	E
72	<i>tenellus</i>	Eje Neovolcánico Central de México	A	E
73	<i>texensis</i>	Suroeste de Texas de EE. UU.	A	E
74	<i>trifidus</i>	Sureste de Nuevo León de México	A	E
75	<i>tuerckheimii</i>	Desde Chiapas de México hasta el oeste de Panamá	A	W
76	<i>venosus</i>	Aguascalientes y alrededores del centro de México	B	E
77	<i>viridis</i>	De Veracruz, México a Alta Verapaz, Guatemala	B	W
78	<i>vulgaris</i>	Suroeste de México hasta el oeste de Córdoba en Argentina	B	W
79	<i>xanthotrichus</i>	Chiapas de México al centro de Costa Rica	A	W
80	<i>xolocotzii</i>	Sierra Madre del Sur de México	B	E
81	<i>zimapanensis</i>	Suroeste de la Sierra Madre Oriental de México	A	I

*(E= endémica; I= intermedia; W= extendida).

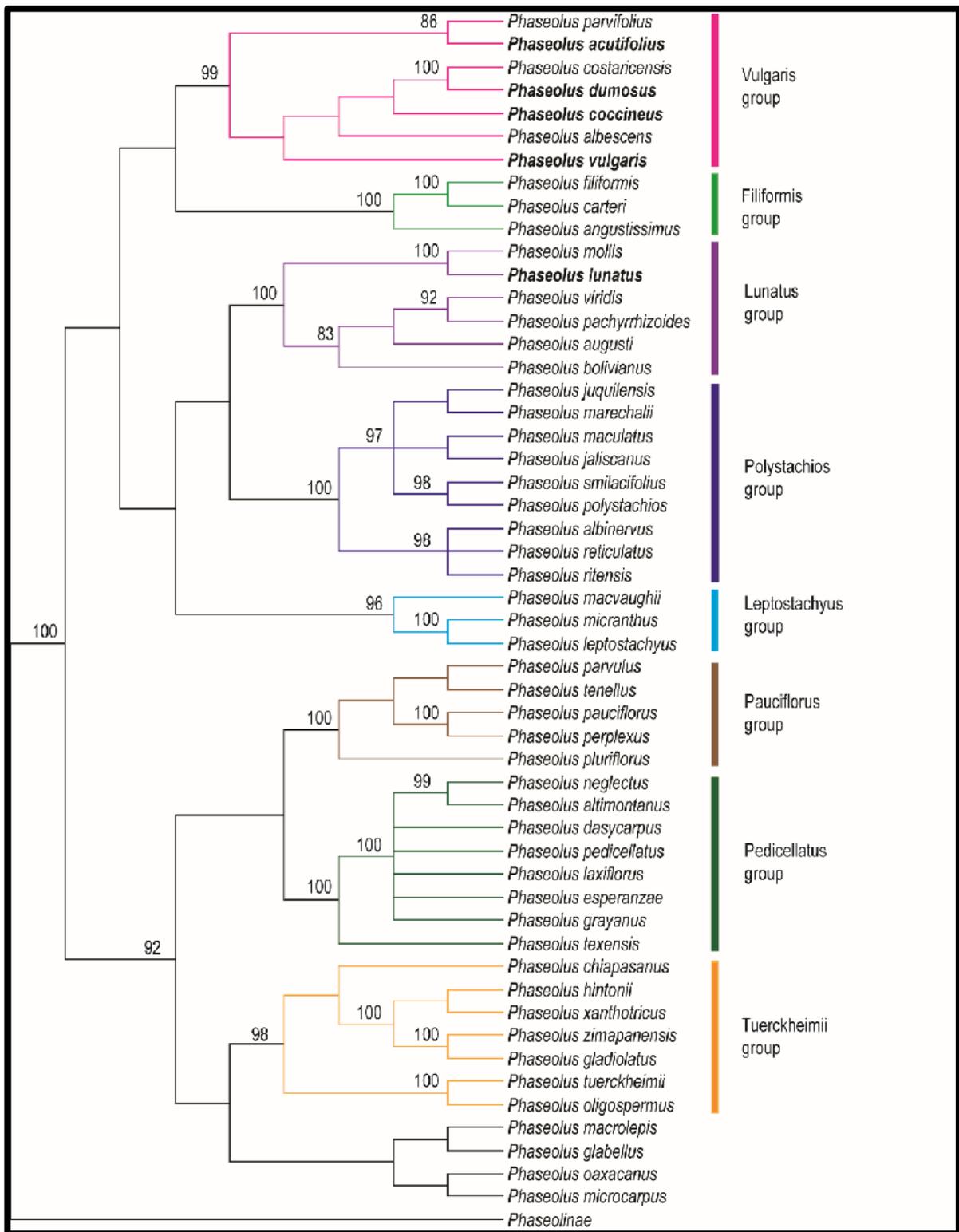
Nota. Adaptado de *Phaseolus* beans (*Leguminosae*, *Phaseoleae*): a checklist and notes on their taxonomy and ecology (pp. 76–77), por Debouck, (2021).

La Figura 1-2 ilustra los ocho grupos filogenéticos dentro de dos *clades* (A y B) (Dohle et al., 2019, p. 101). “El *clade* A sólo con especies silvestres tiene ocho secciones (*Bracteati*, *Brevilegumeni*, *Chiapasana*, *Digitati*, *Minkelersia*, *Pedicellati*, *Revoluti* y *Xanthotricha*), el *clade* B con especies silvestres (que incluyen formas cultivadas) tiene seis secciones (*Acutifolii*, *Coriacei*, *Falcati*, *Paniculati*, *Phaseoli* y *Rugosi*)” (Porch et al., 2013, p. 439). El género *Phaseolus* (*sensu stricto- Vercl court*) es más diverso de lo que parece, según la revisión de variadas colecciones de campo y herbarios (Freytag y Debouck, 2002, p. 3). Aunque la mayoría de los taxónomos de leguminosas están de acuerdo con la definición del género, el número exacto de especies dentro del género sigue siendo desconocido y resulta interesante realizar más colectas de campo (Debouck, 1999, p. 26, 2021, p. 73).

Los parientes silvestres del frijol son una fuente de diversidad inexplorada con rasgos valiosos para la tolerancia al estrés abiótico y biótico como el calor, la sequía, el anegamiento y resistencia a enfermedades como la pudrición radicular (Crop Wild Relatives, 2022). También representan un alimento de primera necesidad para sobrevivir y su consumo ha sido una costumbre ancestral (Debouck, 1990, p. 103). Muchos de los frijoles silvestres son especies endémicas poco comunes que están amenazadas en sus hábitats naturales (Dohle et al., 2019, p. 120).

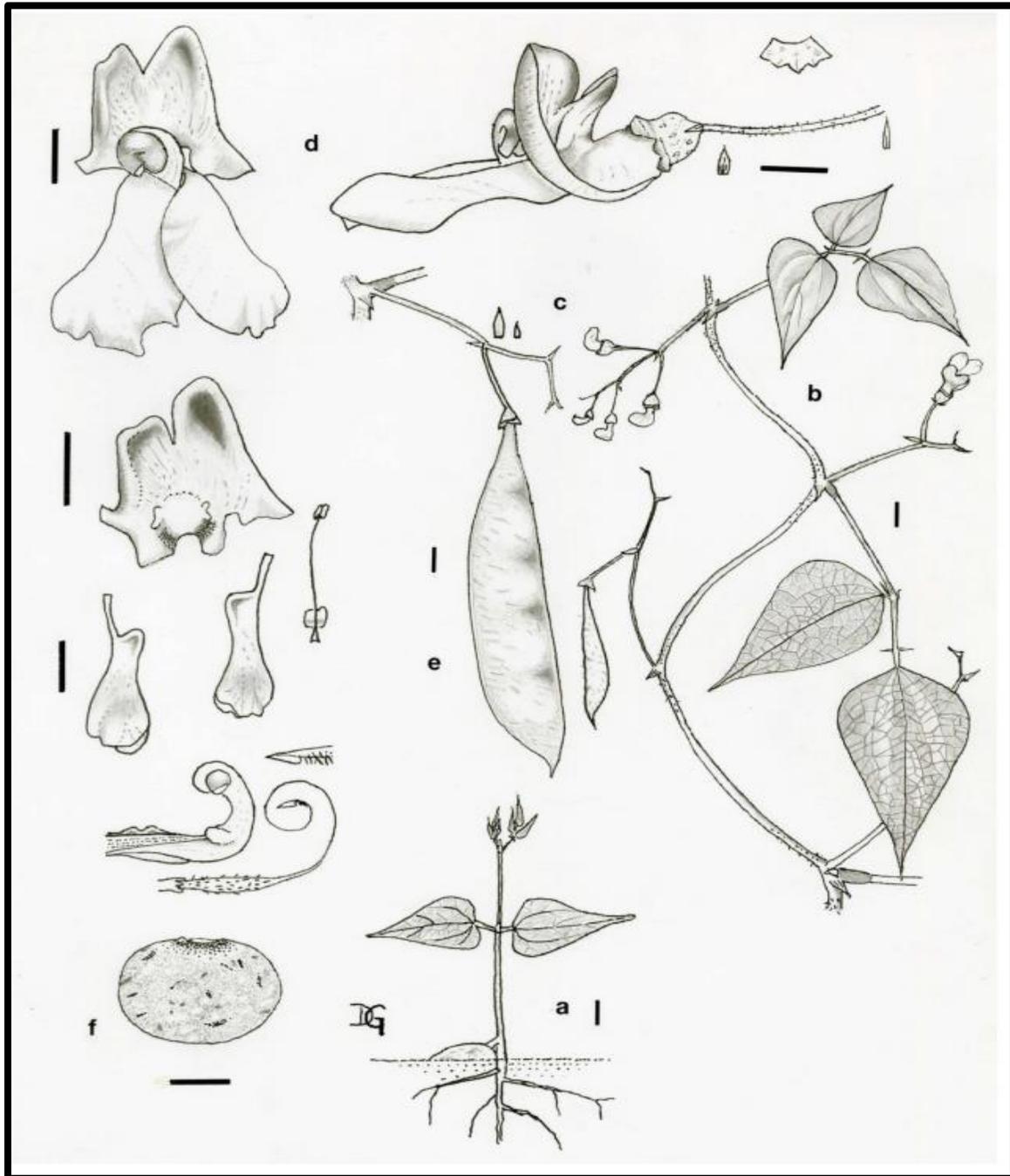
P. albicarminus endémico de Costa Rica, fue encontrado en el 2012 al sur del Valle Central en la provincia de San José, en un proyecto que muestreó las poblaciones silvestres del frijol común (Araya Villalobos et al., 2014; Debouck et al., 2020, p. 1). Este frijol silvestre (Figura 1-3) y sus principales características morfológicas se describieron por Debouck et al., (2020, pp. 5–7), comparándolo con las especies más cercanas (*P. angucianae*, *P. hygrophilus* y *P. oligospermus*), encontrando diferencias en las brácteas primarias, las bractéolas, la cara interna del estandarte, los tres sépalos inferiores y la sutura dorsal de la vaina.

Figura 1-2: Árbol filogenético de los grupos de *Phaseolus*.



Nota. Árbol modificado por Dohle et al., (2019, p. 103) a partir del análisis de máxima parsimonia trnK-ITS de Delgado-Salinas et al., (2006, pp. 782, 785).

Figura 1-3: Dibujo de *Phaseolus albicarminus* con todas sus partes.



Nota. **a:** Plántula; **b:** Tallo de floración y fructificación; **c:** Racimo, con brácteas primarias y pedicelares en el centro a la izquierda; **d:** Flor, vista frontal izquierda, vista lateral derecha (de cara al observador), cáliz superior derecho (en pleno desarrollo del botón floral), bractéola, pedicelo y bráctea pedicelar; en la parte inferior izquierda el estandarte, alas, estambre vexilar, quilla y tubo estaminal, ovario y estilo, estigma; **e:** Vaina cerca de la madurez fisiológica; **f:** Semilla madura (vista lateral). Barra de escala 5 mm. Tomado de *Phaseolus albicarminus* (*Leguminosae*, *Phaseoleae*), a new wild bean species from the subhumid forests of southern central Costa Rica, por Debouck et al., (2020, p. 4).

1.2.2 Propagación asexual

En la propagación asexual se utilizan partes de la planta como yemas, hojas raíces, ramas entre otras, para generar plantas nuevas que tendrán las mismas características de la planta madre, este método es posible gracias a la totipotencia de las células meristemáticas de muchos órganos de la planta, estas células disponen de las características genéticas y las propiedades fisiológicas necesarias para crear una nueva planta (Azcón Bieto & Talón, 2008; Cartagena Valenzuela, 1994; Millán Ramos & Salvador Pardo, 2018; Osuna Fernández et al., 2016; Reyes Quiñones, 2015; Rojas González et al., 2004). La propagación asexual se basa en la existencia de tejido meristemático en todas las plantas adultas, es un tejido indiferenciado con alta capacidad de división celular (Bidwell, 1998).

A través de la división celular que ocurre durante el proceso la mitosis en el núcleo de las células eucariotas, los genes del material hereditario (ADN) característico son replicados y normalmente concluye con la formación de dos núcleos separados (cariocinesis), seguido de la separación del citoplasma (citocinesis), para formar dos células hijas, posteriormente se genera una diferenciación y crecimiento de tejidos somáticos (Cartagena Valenzuela, 1994; Millán Ramos & Salvador Pardo, 2018; Reyes Quiñones, 2015). Pero, el crecimiento no genera un cuerpo organizado, se necesita que las células se especialicen y lleguen a ser estructural y funcionalmente diferentes (Azcón Bieto & Talón, 2008).

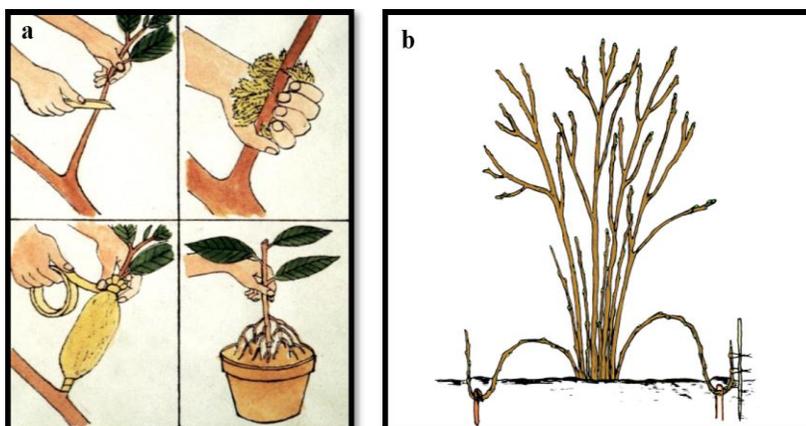
En situaciones donde la fertilidad sexual parece ser reducida, la propagación asexual es supremamente útil y recomendada (Orton, 2020, p. 309). La producción por este sistema conduce, en general, a la perpetuación de genotipos superiores con gran ventaja en el mejoramiento de plantas puesto que puede obtenerse un número muy grande de individuos idénticos genéticamente (Vallejo Cabrera y Estrada Salazar, 2002, p. 71). La propagación asexual ha adquirido mucha importancia en la multiplicación y conservación de especies en peligro de extinción o amenazadas, en especial las especies arbóreas tropicales (Rojas González et al., 2004).

Existen diferentes métodos de propagación asexual, algunos son naturales donde algunas especies se multiplican partir de estructuras como: bulbos, tubérculos, rizomas, estolones, hijuelos entre otros; y los métodos desarrollados por el hombre como los acodos, esquejes, cultivo in vitro (micropropagación) e injertos (Editorial Agro Cultivos, 2019; Osuna Fernández et al., 2016; Reyes Quiñones, 2015).

- **Propagación por acodo**

El acodo se puede presentar de forma natural, se produce cuando una rama inferior entra en contacto con el suelo y como resultado produce raíces (Wright, 1976, p. 128), Existen varios tipos de acodos, los más mencionados son los subterráneos y los aéreos (Escobar Acevedo et al., 2002, p. 18). En el acodo aéreo el suelo u otro medio de enraizamiento se lleva a la rama en lugar de la rama al suelo, el enraizamiento se facilita hiriendo la rama, rodeándola con musgo húmedo o turba, y cubriendo el conjunto con una envoltura impermeable (Figura 1-4 a). En el acodo subterráneo los brotes se inclinan hacia el suelo y se realiza una segunda curva en la rama a poca distancia de la punta (Figura 1-4 b) (Universidad de Florida et al., 2020a). Hay un ejemplo donde la conservación en bancos de germoplasma puede respaldar la conservación *in situ*, es el caso del frijol silvestre *P. lignosus*, donde los tallos que se extienden por el suelo tienen una gran capacidad para producir rápidamente raíces adventicias que se enraízan casi naturalmente en la estación adecuada (Popayán), y se obtuvieron más de 6000 semillas (Debouck, 2015, pp. 122).

Figura 1-4: Tipos de acodos.



Nota. **a:** Aéreo; **b:** Subterráneo. Tomado de Layering and Division, por Universidad de Florida et al., (2020).

El principio del acodo es colocar una parte de la planta: una rama, un brote o guía, en condiciones favorables para que desarrolle raíces antes de separarla de la planta madre, mientras tanto se sigue nutriendo a través de los haces vasculares de la planta madre y por el xilema se provee de agua y minerales (Osuna Fernández et al., 2016; Rojas González et al., 2004). La formación de la raíz es estimulada por tratamientos aplicados al tallo; mediante la interrupción de la traslocación en forma descendente de compuestos orgánicos como carbohidratos, auxinas y otros factores de crecimiento de las hojas y de las puntas de ramas. (Grozeff-Gergoff et al., 2023). Las raíces que producen los acodos se originan bajo el mismo principio que las raíces de los esquejes; se forman a partir de meristemas, donde hay una actividad celular inicial y luego una desdiferenciación celular que conduce a la reorganización de los islotes meristemáticos y al nacimiento de un meristemo radical y entonces las raíces se podrán desarrollar. (Reyes Quiñones, 2015; Rojas González et al., 2004). Algunos los factores que regulan la formación de raíces adventicias son: nutrición del tallo, acondicionamiento fisiológico, luz, oxígeno, humedad, temperatura, sustrato y tiempo. (Grozeff-Gergoff et al., 2023). En muchos casos el enraizamiento es un proceso espontáneo, pero en algunas especies se ha comprobado que la aplicación de ácido indolacético (AIA) y auxinas sintéticas, como el ácido indolbutírico (IBA) y ácido naftilacético NAA, estimula el enraizamiento (Azcón Bieto & Talón, 2008).

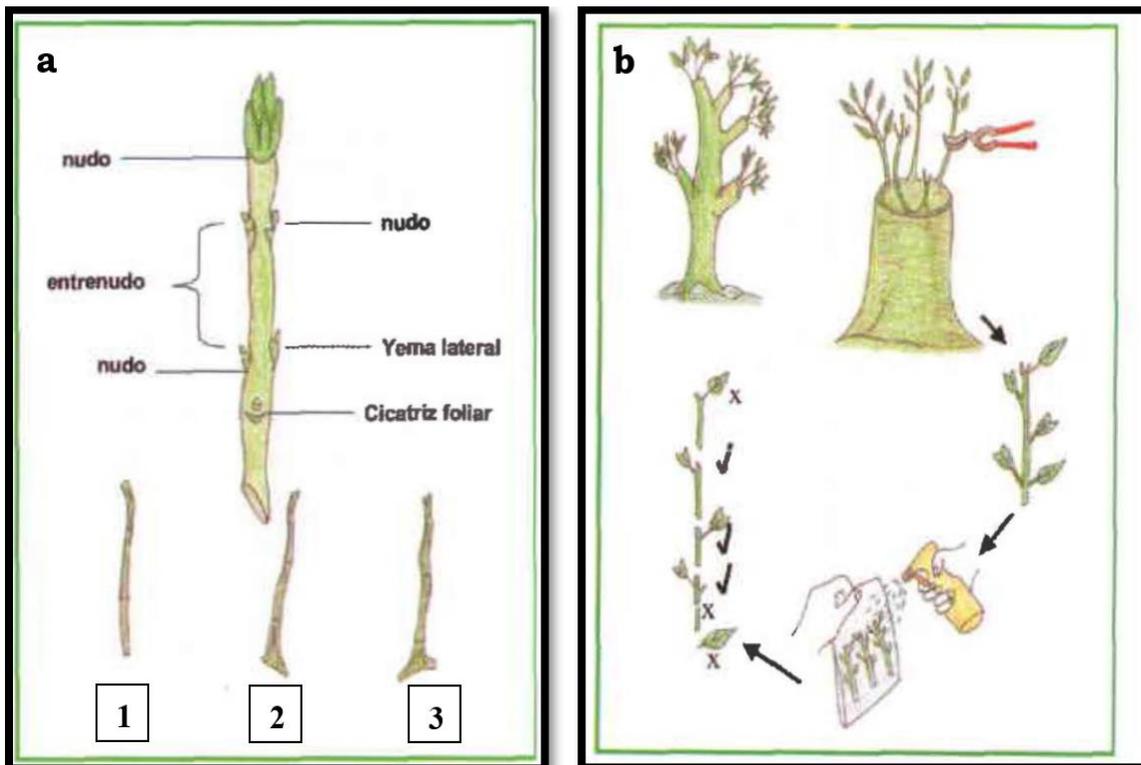
Desde un punto de vista fisiológico, el anillado de un acodo interrumpe el flujo de fotoasimilados y la continuidad del floema; una gran cantidad de fotoasimilados se empiezan acumular debido a la interrupción del tejido vascular y se generan raíces adventicias en esta zona (Grozeff-Gergoff et al., 2023). Hay especies que luego del anillado necesitan reposo por 12 o 24 horas, sin colocarle el material de enraizamiento debido a que el cambium regenera rápidamente e impide la formación de raíces (Reyes Quiñones, 2015). La formación de raíces depende de la condición fisiológica de la planta madre, mientras estas se desarrollan, son las hojas del propio acodo las que aportan fotoasimilados y junto con el crecimiento del brote proveen auxina y cofactores de enraizamiento (Grozeff-Gergoff et al., 2023). Los nutrientes minerales y el agua son suministrados por la planta madre que los absorbe a través de su propio sistema radicular, facilitando el desarrollo de raíces adventicias (Grozeff-Gergoff et al., 2023).

▪ Propagación por esqueje

La multiplicación por estaquillas o esquejes de tallo es una práctica muy utilizada en la propagación vegetativa de muchas especies agrícolas y ornamentales (Azcón Bieto y Talón, 2008, p. 390). Estaca y esqueje son unidades reproductoras que se obtienen separando de la planta madre un segmento que contenga zonas meristemáticas (nudos y entrenudos) (Osuna Fernández et al., 2016, p. 47).

La estaca o esqueje es una porción de la planta, usada para propagar asexualmente una especie (Figura 1-5) (Escobar Acevedo et al., 2002, p. 13). Los esquejes se usan ampliamente en la propagación comercial tanto de flores como de frutales (Reyes Quiñones, 2015, p. 43). La multiplicación por esta técnica busca obtener esquejes uniformes bien enraizados, que respondan bien y rápidamente al trasplante para lograr establecer plantas vigorosas (López Pérez y Carazo Nuria, 2005, p. 23).

Figura 1-5: Esquema de propagación por esquejes.



Nota. **a:** Partes de la estaca y cortes utilizados en su obtención. **1:** recto; **2:** talón; **3:** mazo; **b:** Proceso de obtención de estacas de la planta donante y manipulación de los cortes. Tomado de Manual técnicas de propagación, por Escobar Acevedo et al., (2002, p. 13).

Los esquejes al igual que los acodos tienen la capacidad de formar raíces adventicias para desarrollar una nueva planta completa e independiente, conservando las características genéticas de la planta madre. (Azcón Bieto & Talón, 2008; Reyes Quiñones, 2015; Osuna Fernández et al., 2016). La formación de raíces es posible debido al transporte polar de savia elaborada que circula en el esqueje y a la energía obtenida de los hidratos de carbono aportados por las hojas. (Dirección de Escuelas Agrarias - MINAGRO, 2008). Los esquejes desarrollan sus raíces mediante un proceso complejo con dos etapas que requieren de auxinas : 1) la formación de primordios de raíz a partir de ciertas células susceptibles y 2) el crecimiento de las raíces. (Azcón Bieto & Talón, 2008). La formación de las raíces adventicias es promovida por las auxinas y algunos cofactores presentes en las yemas, las auxinas presentan su mayor actividad en las yemas apicales, lugar donde se sintetizan. (Grozeff - Gergoff et al., 2023). Las sustancias más usadas para acelerar el enraizamiento son el ácido naftalenacético (NAA) y el ácido indolbutírico (IBA). (Reyes Quiñones, 2015; Azcón Bieto & Talón, 2008). Las raíces nuevas son formadas en el periciclo o en el *cambium* vascular (Cartagena Valenzuela, 1994).

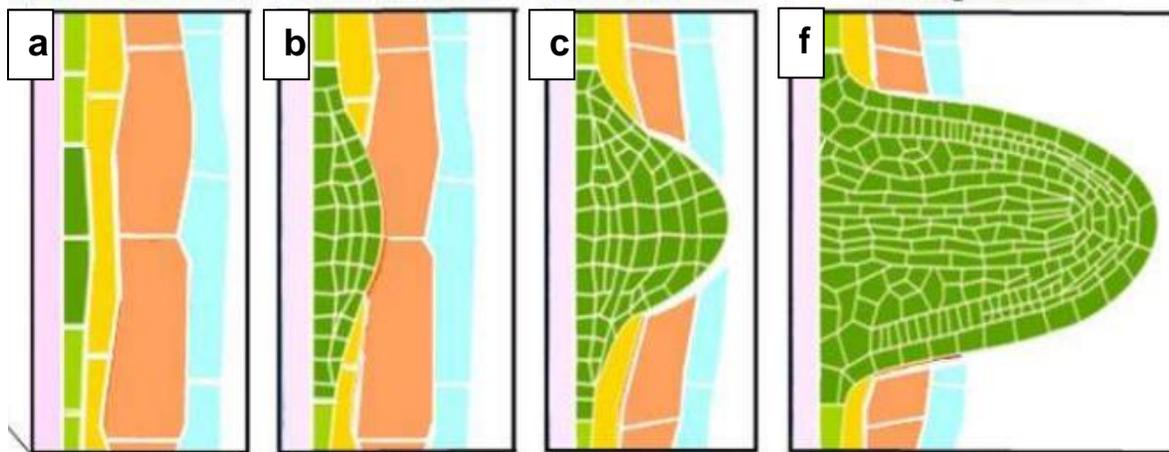
En algunas plantas de porte herbáceo, las raíces nuevas se originan justamente afuera y entre los haces vasculares, pero los tejidos implicados en el sitio de origen varían bastante, según la especie; por ejemplo, en zapallo, frijol y tomate las raíces adventicias se originan en el parénquima del floema; en el clavel (*Dianthus caryophyllus*) salen de una capa de células parenquimatosas en el interior de una vaina de fibras; en especies *Coleus* se originan en el periciclo y en especies de *Crassula* se originan en la epidermis; (Osuna Fernández et al., 2016). En plantas leñosas, las raíces adventicias de los esquejes se originan generalmente en el tejido del xilema secundario, pero a veces lo hacen de tejidos como el cambium, el floema, las lenticelas, la médula o los radios vasculares (Hartmann, 1997). Para lograr esto, un grupo de células en desarrollo (meristemas), normalmente cercanas al del tejido vascular (que transporta la savia), se diferencian en una serie de raíces iniciales (células radicales), que formarán yemas radicales y posteriormente raíces adventicias (Osuna Fernández et al., 2016). Una vez realizado el corte se produce una multiplicación de las células vivas del esqueje originando un tejido de cicatrización, compuesto de células parenquimatosas y que tiene la función de no permitir la deshidratación del esqueje; por otra parte, después de una semana o más, según la especie y condiciones ambientales, se generan los primordios de raíces que se pueden

ser a partir del cambium o de los radios medulares; luego, se produce la emergencia de las raíces adventicias (Grozeff - Gergoff et al., 2023). El conjunto de fenómenos que conducen a emisión de raíces se conoce como rizogénesis, este mecanismo está estrechamente ligado a la existencia del cambium, que juega un papel importante en el nacimiento de las raíces (Rojas González et al., 2004).

En la Figura 1-6 se observa las 4 etapas mencionadas por Jimenez Vázquez, (2020), sobre el proceso para la formación de raíces, las cuales son:

1. activación de las células del periciclo
2. iniciación de un primordio que comprende el desplazamiento de los núcleos de las células iniciales hasta la primera división asimétrica.
3. desarrollo del primordio que conduce a la formación de una estructura en forma de domo.
4. la emergencia de las raíces que contribuye a la expansión radial del sistema radicular

Figura 1-6: Etapas del proceso de formación de las raíces adventicias.

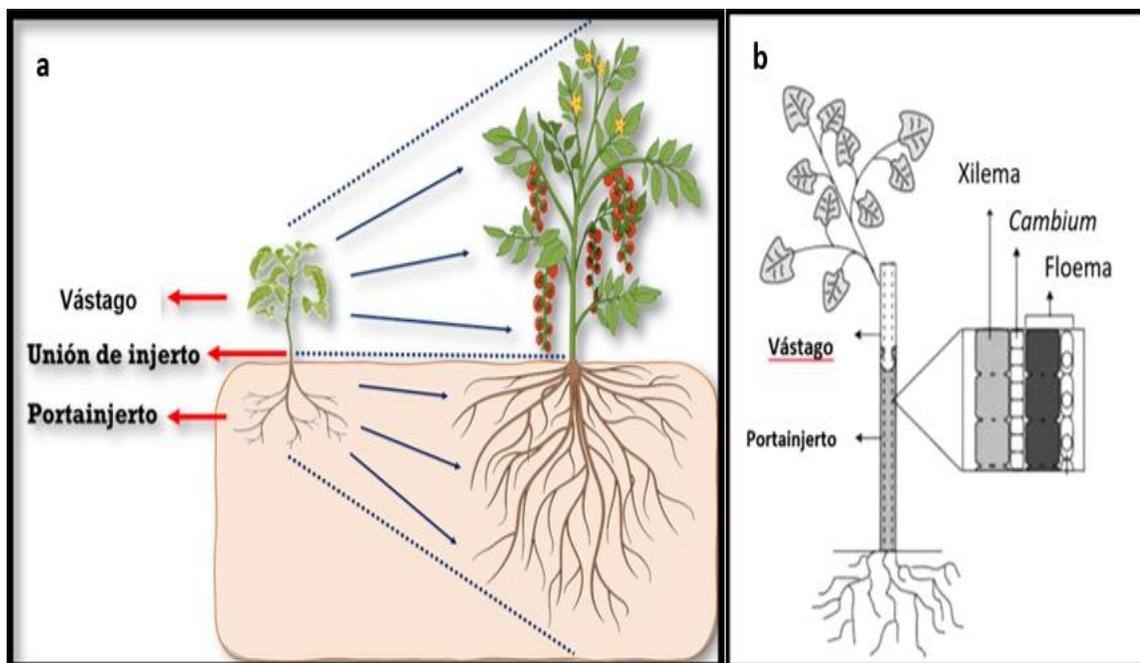


Nota. **a:** Especificación de las células fuente; **b:** Iniciación del primordio mediante división celular asimétrica; **c:** Desarrollo del primordio de raíz en forma de domo; **d:** Emergencia de la raíz. Adaptado de Participación del transporte de auxinas en el crecimiento direccional de la raíz de *Arabidopsis thaliana* en interacción con *Achromobacter* sp. 5B1, por Jimenez Vázquez, (2020, p. 8)

- **Propagación por injerto**

El injerto es el arte de conectar dos o más plantas de tal manera que se unan para crecer como una sola (Figura 1-7) y generalmente una de las partes aporta las raíces (patrón, pie o portainjerto) y otra la parte aérea (la variedad, vástago, vareta, púa, yema o injerto) (Álvarez López, 2019, p. 10; Frey et al., 2022; Jackson, 2009, p. 126). Es necesario que las plantas que se injerten (portainjerto - vástago) tengan compatibilidad filogenética, de lo contrario el injerto no tendrá éxito (Flores Montes De Oca, 2010, p. 9; Gautier et al., 2019, p. 747). El injerto de plantas es una de las técnicas de propagación más utilizada en horticultura, fruticultura y especies ornamentales, principalmente especies leñosas en todos los casos, para mejorar la calidad y la producción de diversos cultivos (Álvarez López, 2019, p. 10; Sharma & Zheng, 2019, p. 1; Tedesco et al., 2022, p. 1).

Figura 1-7: Anatomía de los injertos.

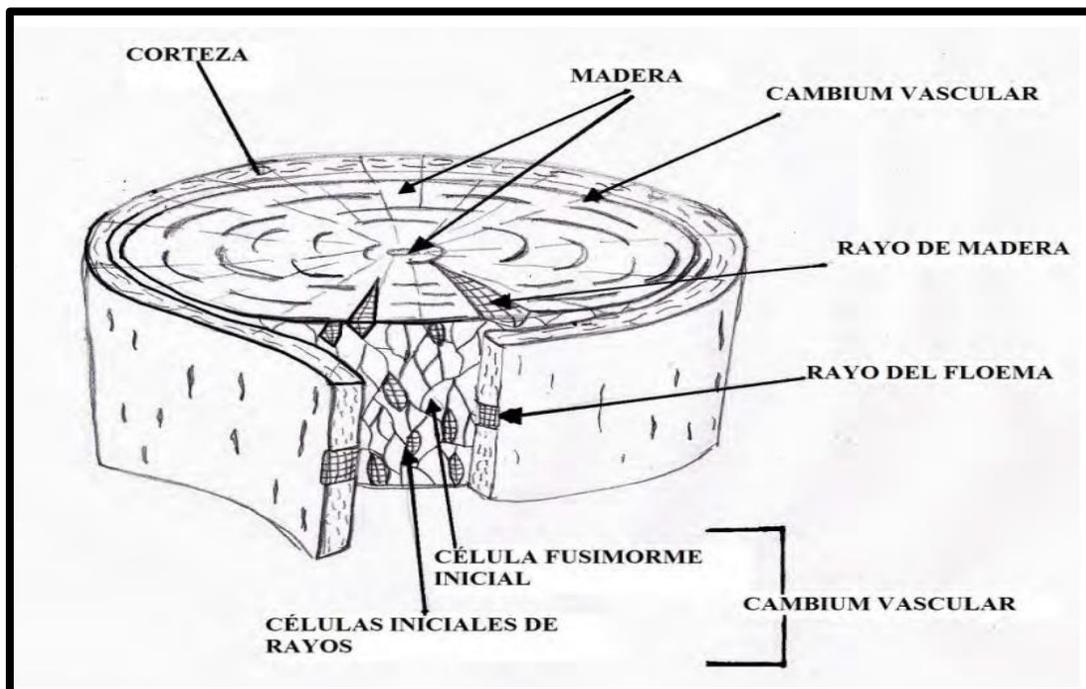


Nota. **a:** Esquema de un injerto; **b:** Ilustración del sistema vascular de un injerto. Adaptado de Plantas quimera: arte y ciencia de los injertos, por Frey et al., (2022); y de Plant grafting and graft incompatibility: A review from the grapevine perspective, por Tedesco et al., (2022, p. 2).

En los últimos años se han utilizado injertos para propagar especies que no pueden propagarse fácilmente por otros medios asexuales, permitir la producción de plantas compuestas a partir de portainjertos y vástagos, para acelerar la fructificación de plántulas en los programas de mejoramiento; y como una herramienta de investigación en el estudio de procesos fisiológicos y virus (Jackson, 2009, p. 126; Mudge et al., 2009, p. 445).

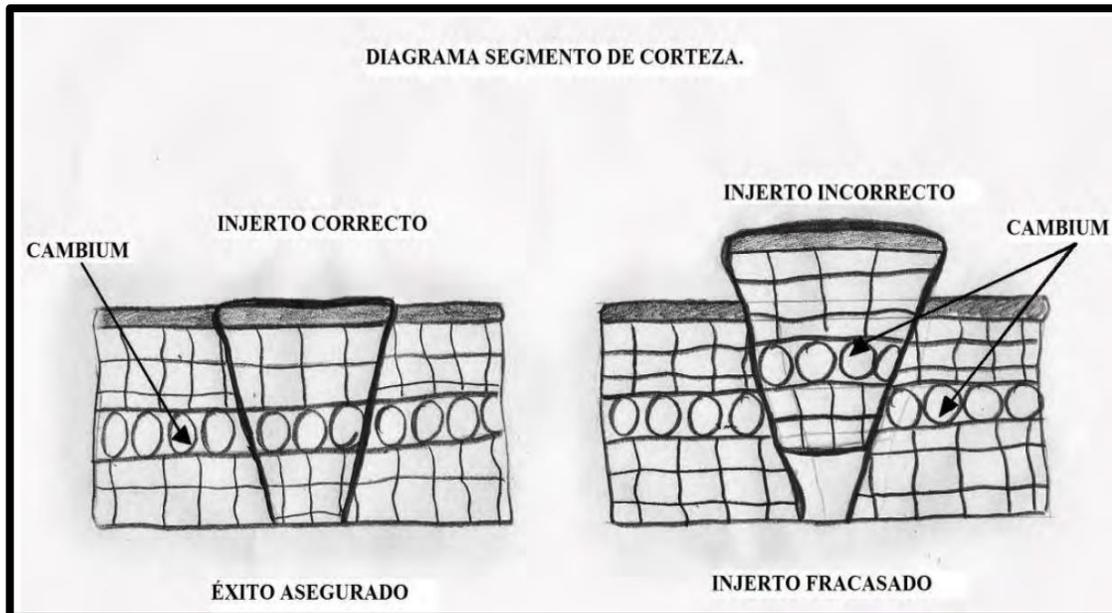
Los portainjertos se seleccionan por su capacidad de enraizamiento, tolerancia al estrés abiótico y biótico, y por su capacidad para alterar positivamente el vástago injertado (Warschefsky et al., 2016, p. 418). Álvarez López, (2019, p. 18) y Flores Montes De Oca, (2010, p. 16), mencionan que la clave para injertar dos plantas exitosamente es hacer que la parte de las cortezas llamada cambium (Figura 1-8), del portainjerto y del vástago coincidan exactamente al momento de realizarse el injerto (Figura 1-9), ya que este es el medio que permite el transporte de la savia y todos los fluidos entre las partes injertadas.

Figura 1-8: Diagrama del corte transversal de un vástago a injertar.



Nota. Ver la ubicación del cambium. Tomado de Manual agroclimático, para la realización de injertos en árboles frutales, por Flores Montes De Oca, (2010, p. 17).

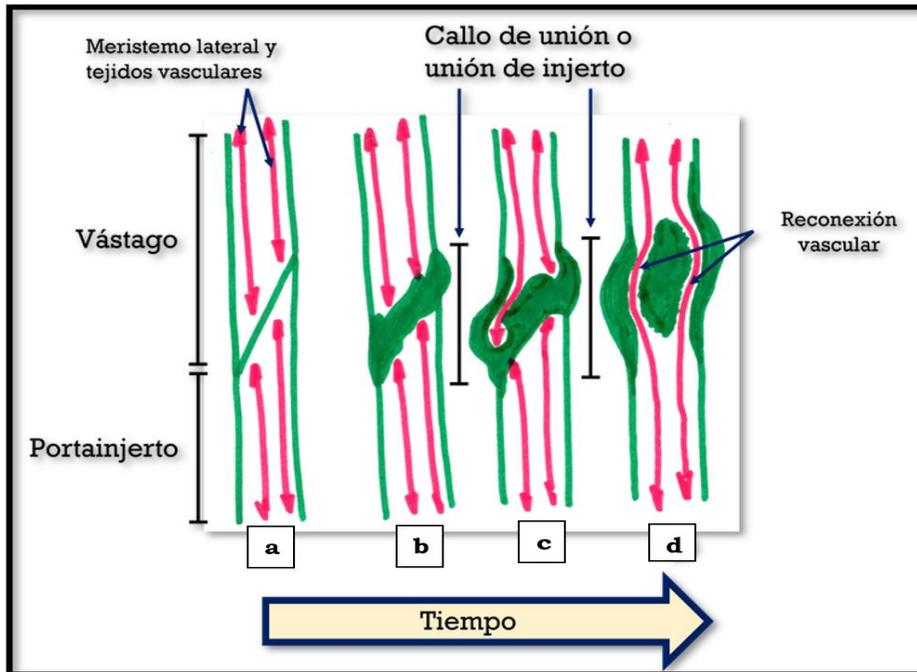
Figura 1-9: Diagrama para analizar el éxito o fracaso de un injerto.



Nota. Tomado de Manual agroclimático, para la realización de injertos en árboles frutales, por Flores Montes De Oca, (2010, p. 17).

Frey et al., (2022), describe un esquema del proceso para que un injerto sobreviva (Figura 1-10). Todo inicia cuando el tejido recién cortado del vástago (con capacidad de actividad meristemática), entra en contacto, con el tejido recién cortado del portainjerto, de manera que coincida para que ambas partes se unan (Figura 1-10 a); la herida ocasionada por los cortes, activa una secuencia de procesos moleculares que buscan reparar y restituir la funcionalidad de los tallos, y a partir de tejidos como el cambium se generan nuevas células parénquima para rellenar el espacio y promover la unión entre el portainjerto y el vástago (Figura 1-10 b); luego, las células nuevas se proliferan formando el cuerpo conocido como callo de unión o unión de injerto (Figura 1-10 c); posteriormente dentro del callo de unión aparecen grupos celulares que se dividen y diferencian para formar nuevos tejidos vasculares (xilema hacia el interior y floema hacia el exterior), estableciendo así conexión vascular entre el vástago y el portainjerto (Figura 1-10 d); finalmente, días después la unión del injerto se consolida y ambas plantas crecerán como una sola (Álvarez López, 2019, p. 18; Frey et al., 2022; Tedesco et al., 2022, p. 1).

Figura 1-10: Esquema del desarrollo de la unión de injerto hasta la reparación de la conexión vascular.



Nota. Adaptado de *Plantas quimera: arte y ciencia de los injertos*, por Frey et al., (2022).

El principio del injerto; consiste en hacer un buen contacto entre el cambium del injerto con el cambium del patrón para intentar soldar ambos tejidos lesionados (Reyes Quiñones, 2015; Rojas González et al., 2004). Cuando el cambium del injerto y del patrón entran en contacto, se forma un callo que no es otra cosa que una masa de células de parénquima que se forma en la unión del injerto y se origina de los tejidos vivos (Reyes Quiñones, 2015). El cambium de unión generado a partir de las células del callo es un meristemo lateral encargado de regenerar el tejido vascular (la formación de nuevo xilema hacia dentro y nuevo floema hacia fuera), este nuevo tejido vascular permitirá al patrón y al injerto funcionar como una sola planta (Cartagena Valenzuela, 1994; Rojas González et al., 2004; Gallego Acuña, 2022). La producción y el entrelazamiento de las células de parénquimas asegura el éxito de un injerto; en los injertos compatibles se generan abundantes plasmodesmos entre ambas partes, esto favorece la comunicación entre el patrón y el injerto (Reyes Quiñones, 2015; Grozeff-Gergoff et al., 2023) .

Una vez restablecida la comunicación vascular comienza a reanudarse la denominada unión fisiológica y comienza el intercambio de sustancias inorgánicas (como los nutrientes por medio del xilema) y orgánicas (carbohidratos, aminoácidos, hormonas, ARN, entre muchas otras); la unión anatómica en el injerto restablece la comunicación mediante la unión de citoplasmas a través de los plasmodesmos (Grozeff-Gergoff et al., 2023).

Un aspecto muy importante es la analogía de la savia entre el patrón y el injerto. Desde hace bastante tiempo Boutelou, (1817), recomienda tener en cuenta la calidad y naturaleza de la savia, la cantidad y fluidez de la savia, y la semejanza de los jugos propios de los individuos unidos por injerto. Este mismo autor menciona varios puntos muy interesantes sobre la importancia de la savia:

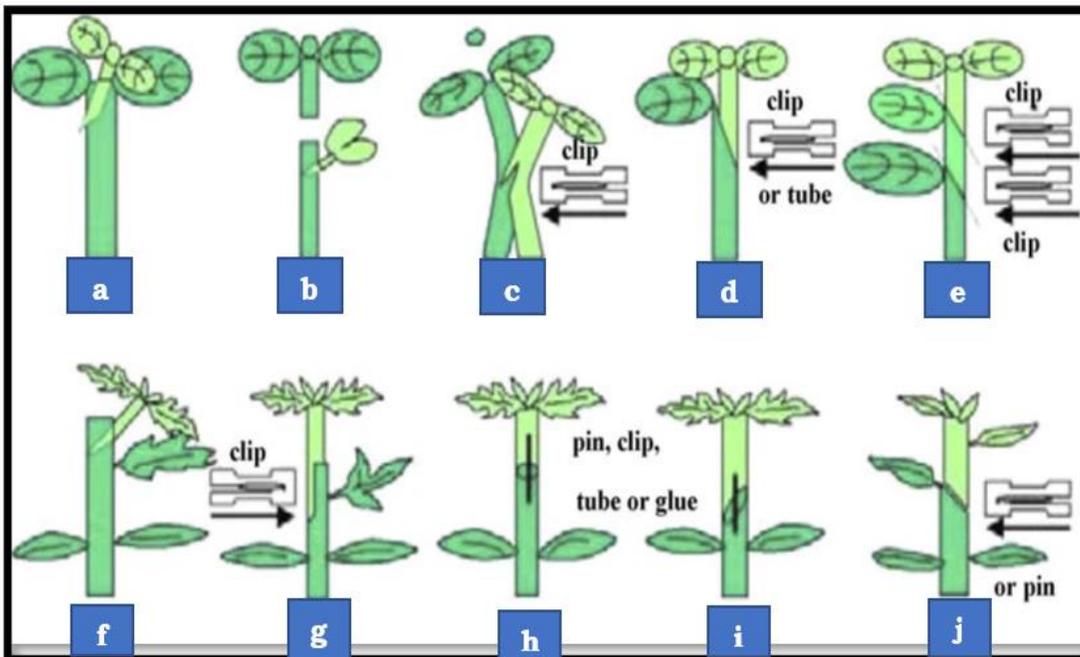
1. Si se injerta un material acostumbrado a una savia pausada, un movimiento brusco en la savia del patrón puede ocasionar en el punto de unión alguna malformación o hemorragia linfática, causando que no se presente la unión.
2. Si la savia del patrón es más densa y espesa penetra entonces con dificultad en los vasos y filtros del injerto, causándole la muerte; si la savia del patrón es más fluida y diluida que la del injerto, éste no cuenta con los órganos y vasos propios para su absorción y depuración oportuna, y también morirá.
3. Es necesario que la savia de ambos individuos sea similar en cuanto a densidad y el calibre de los poros y vasos, esto facilita la filtración y absorción de savia para que prenda el injerto

En un injerto, el patrón aporta la savia bruta que extrae del suelo, y el injerto devuelve la savia elaborada en sus hojas (Reyes Quiñones, 2015). La savia es la verdadera linfa vegetal, consta de un jugo cristalino y acuoso que contiene las sustancias disueltas por el agua que ingresan a la planta y efectúan la nutrición ; la savia se mueve dependiendo del calor atmosférico, y cada especie tiene un grado específico de calor para una fluidez adecuada de la savia (Boutelou, 1817). El movimiento de savia es esencial en el proceso de injerto por varias razones:

1. Cicatrización y unión: La savia transporta nutrientes y hormonas de crecimiento que fluyen a través del cambium, permitiendo que las células se dividan y formen el callo que une las partes.
2. Suministro de nutrientes: La savia transporta los nutrientes necesarios para la supervivencia y el crecimiento de la planta injertada. Sin un flujo constante de savia, la púa (parte injertada) no podría desarrollarse.
3. Estimulación del crecimiento: La savia también contiene hormonas de crecimiento, como las auxinas. Estas hormonas estimulan el crecimiento de las yemas y la formación de nuevas ramas. El movimiento de savia asegura que estas hormonas lleguen a todas las partes del injerto.

Existen diferentes métodos de injerto para especies herbáceas, los más utilizados se ilustran en la Figura 1-11.

Figura 1-11: Los principales métodos de injerto en hortalizas.



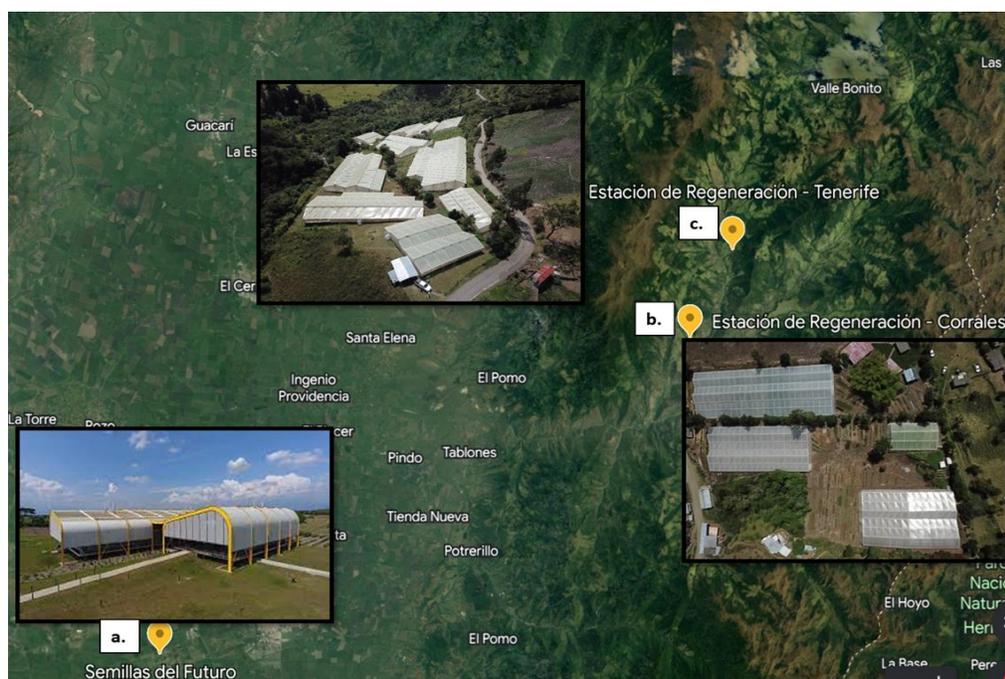
Nota. **a; b:** injerto de inserción; **c:** injerto de aproximación; **d; e; j:** injerto de empalme; **f; g:** injerto de hendidura; **h; i:** injerto de alfiler. Adaptado de Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation, por Lee et al., (2010, p. 101).

El injerto es una antigua tecnología hortícola esencial para los fruticultores, viveristas, investigadores y productores agrícolas en general de la época moderna y se ha considerado un proceso misterioso y un secreto artesanal (Mudge et al., 2009, p. 485). Los beneficios de esta técnica son múltiples por ejemplo: precocidad, uniformidad, calidad y alta productividad, conserva las características de una variedad de fruta o flor determinada, aumenta el vigor y el porte, tolerancia a plagas, enfermedades y condiciones adversas (calor, sequía, suelos salinos), hace frente a la gran variabilidad genética y se practica actualmente en varias especies de plantas, incluidas las frutas (aguacate, cacao, cítricos, manzana, mango, uva, melocotón, ciruela, albaricoque, almendra y cereza), las hortalizas (sandía, melón, pepino, tomate, pimiento, berenjena y calabaza amarga) y también plantas ornamentales (rosa, crisantemo, buganvilla y bonsái) (Álvarez López, 2019, p. 8; Flores Montes De Oca, 2010, p. 15; Frey et al., 2022; Nawaz et al., 2016, p. 22).

2. Metodología

La investigación se desarrolló en la sede principal del CIAT, ubicada en el Km 17 Recta Cali - Palmira – Colombia (03°30' 20.39" N; 76°20' 28.13" O; 975 msnm) (Figura 2-1 a). Luego continuó en las estaciones experimentales de Corrales (03°40'28" N; 76°05'29" O; 1750 msnm) (Figura 2-1 b) y Tenerife (03°43'34" N; 76°04'26" O; 2200 msnm) (Figura 2-1 c), ubicadas en la zona rural del municipio de El Cerrito, Valle del Cauca, Colombia).

Figura 2-1: Ubicación geográfica de las estaciones de regeneración.

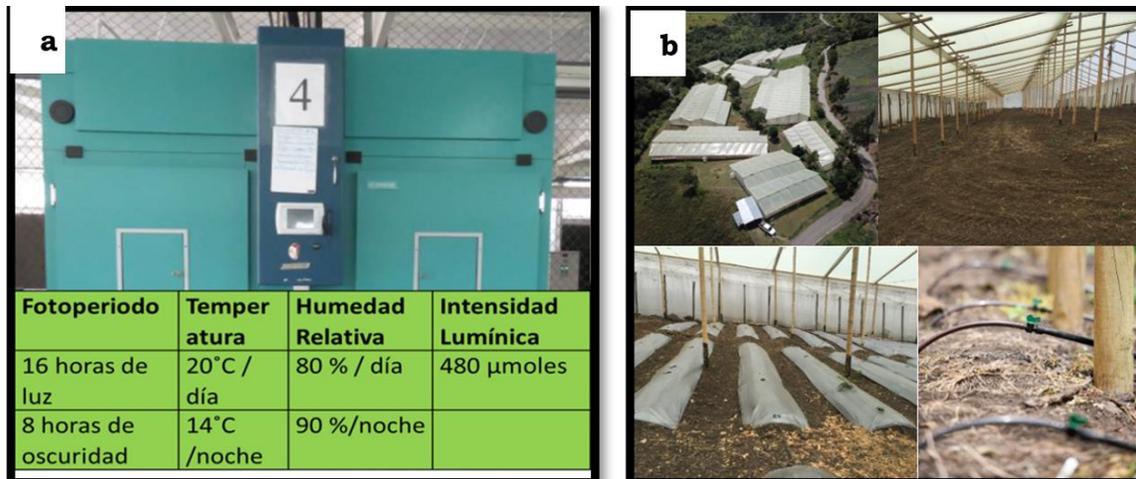


Nota. **a:** Sede principal del CIAT; **b:** Estación experimental de Corrales; **c:** Estación experimental de Tenerife. Adaptado de Google Earth, (2023).

En la sede principal en Palmira el ensayo se realizó en cámaras de crecimiento artificial que permiten simular ambientes, se puede controlar la temperatura, humedad relativa, intensidad lumínica y horas de fotoperiodo (Figura 2-2 a); también de manera técnica se controla el riego, las fertilizaciones, las labores culturales y las aplicaciones fitosanitarias para el control de plagas y enfermedades.

En las estaciones experimentales se tienen casas de malla antitrips, riego por goteo y con techo de cubierta plástica (Figura 2-2 b), lo que facilita el control solo de algunas plagas y enfermedades. Las condiciones eco-geográficas de las estaciones experimentales se asemejan a las condiciones del ambiente donde fue colectado *P. albicarminus* (Tabla 2-1).

Figura 2-2: Infraestructura para la regeneración de germoplasma de frijol.



Nota. **a:** Cámaras de ambiente controlado; **b:** Casas malla de las estaciones experimentales de regeneración. Adaptado de documento de trabajo, por el Equipo de regeneración- PRG - CIAT, (2022).

Tabla 2-1: Condiciones eco-geográficas de las estaciones experimentales y del sitio de colecta de *P. albicarminus*.

Nombre de la estación	Ubicación Geográfica		Altura aprox. (Msnm)	Precipitación prom. anual	Temperatura prom. anual	Humedad relativa prom. Anual	Suelos	PH Suelo
	Latitud	Longitud						
Corrales Colombia	03°40'28"N	76°05'29"W	1850	900 mm	19 °C	60%	Molisoles	5.8-6.5
Tenerife Colombia	03°43'34"N	76°04'26"W	2200	1500 mm	17 °C	70%	Molisoles	6.5-6.8
San José Costa Rica-Sito de colecta	09°41'12.9"N	84°07'12.4"W	1837	2500 mm	19 °C	80%	Andisoles	5 - 7

Nota. Adaptado de documento de trabajo del Equipo de regeneración. PRG - CIAT, (2019); y del informe de colecta de *P. albicarminus* elaborado por Debouck (2012).

Para el desarrollo de esta investigación se realizaron dos experimentos:

1. Comparar tres métodos de propagación asexual (acodo esqueje e injerto), para aumentar la cantidad plantas de *P. albicarminus*.
2. Evaluar diferentes portainjertos para la propagación de *P. albicarminus*.

Cada experimento tuvo una metodología particular, el experimento 2 se realizó una vez finalizado el experimento 1.

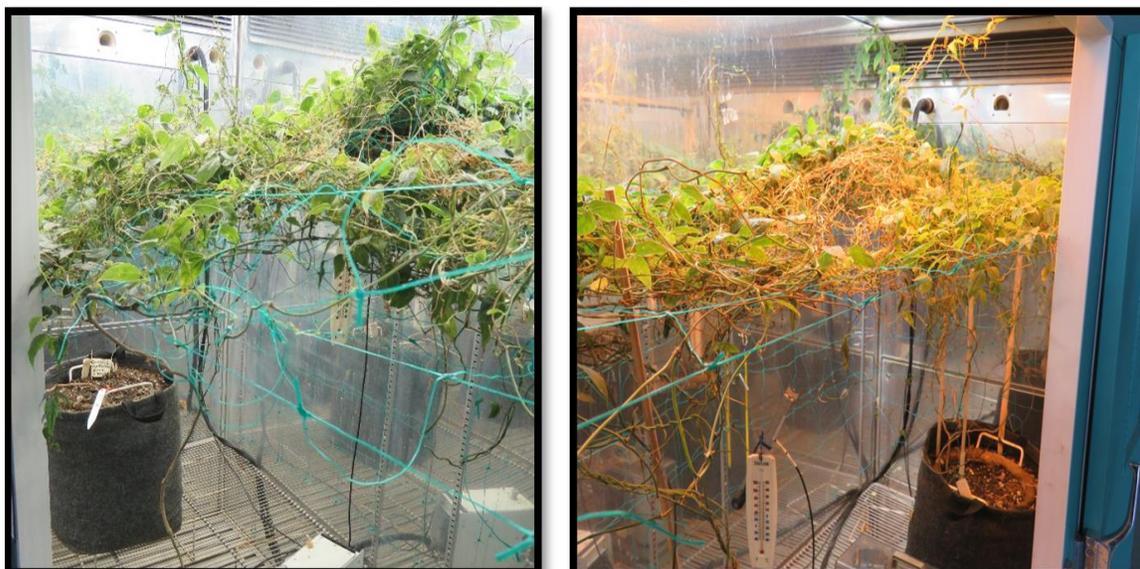
2.1 Estandarización de una metodología de propagación asexual para *P. albicarminus*.

Para aumentar el número de plantas de *P. albicarminus* se utilizaron y se compararon tres técnicas asexuales: acodos, esquejes e injertos. En el último caso la persona que realiza el injerto se convierte en una variable muy determinante; para controlar al máximo este factor, previo al ensayo, el injertador practicó y entrenó por dos años (2019 - 2020) el método de injertación. Esto también permitió validar que con esta técnica si es posible propagar plantas de *P. albicarminus*.

2.1.1 Material vegetal

Para el incremento inicial de plantas se usaron ramas y guías de las plantas de colección viva de la accesión G40901 de *P. albicarminus* (Figura 2-3, Tabla 2-2); y la accesión G35684 de *P. dumosus* como portainjerto (Tabla 2-2).

Figura 2-3: Plantas de la accesión G40901 - *P. albicarminus* (colección viva).



Nota. Tomado por el Equipo de regeneración- PRG - CIAT, (2022).

Tabla 2-2: Material vegetal.

Especie	Hábito de crecimiento	Estado biológico	Floración (# de días)	Primera cosecha (# de días)	msnm	País de origen	Foto semilla	Observación
<i>Phaseolus albicarminus</i> (G40901)	Trepador indeterminado	Silvestre	205	350	1837	Costa Rica		Injerto
<i>Phaseolus dumosus</i> (G35684)	Trepador Indeterminado	Cultivado	71	166	2113	México		Portainjerto

Nota. Adaptado de la base datos colección frijol página web. PRG - CIAT, (2022).

2.1.2 Procedimientos

▪ Acodos y Esquejes

Para realizar los acodos y esquejes se ajustaron las metodologías propuestas por Arrieta Ramos et al., (2017) y Reyes Quiñones, (2015). Se siguió el flujograma planteado en la Figura 2-4, para establecer los acodos; la Figura 2-5 muestra el registro fotográfico de este proceso. Los esquejes se establecieron siguiendo el flujograma de la Figura 2-6; el registro fotográfico de este proceso se muestra en la Figura 2-7.

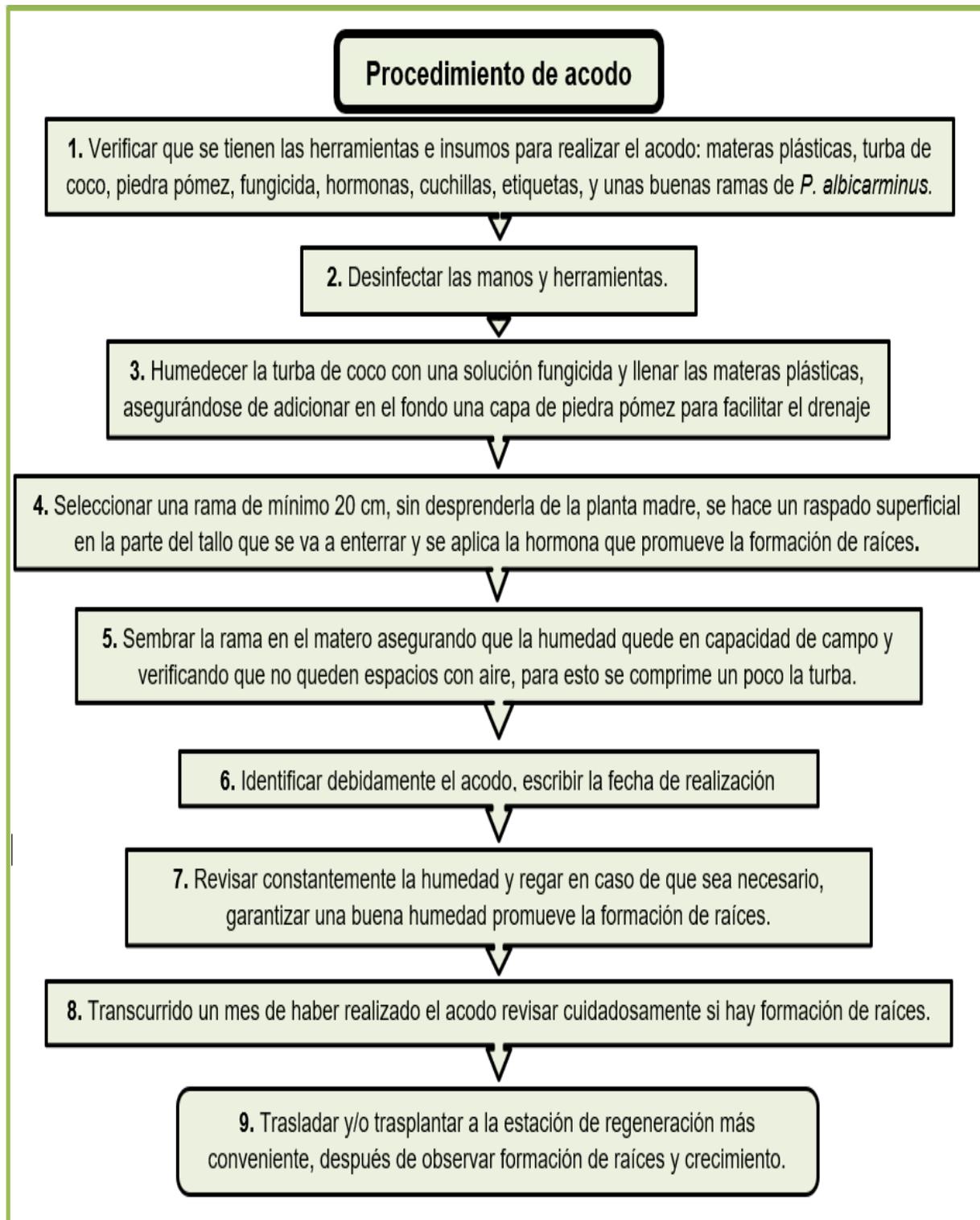
Figura 2-4: Flujograma para para la propagación por acodo de *P. albicarminus*.

Figura 2-5: Registro fotográfico de la propagación por acodo de *P. albicarminus*.



Nota. **a:** insumos necesarios para realizar un acodo; **b:** acodo finalizado; **c; d:** prendimiento y formación de raíces; **e:** trasplante del acodo.

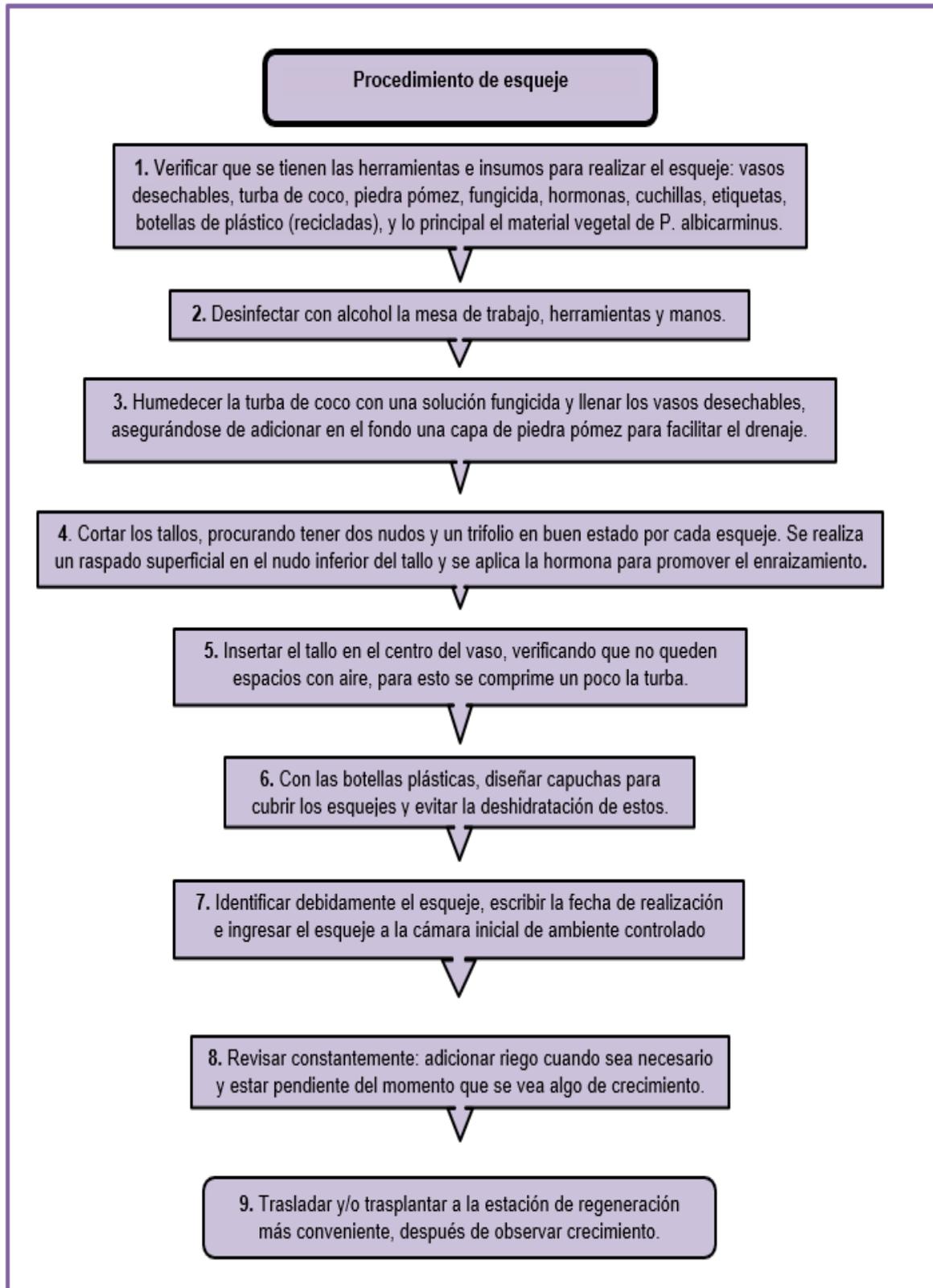
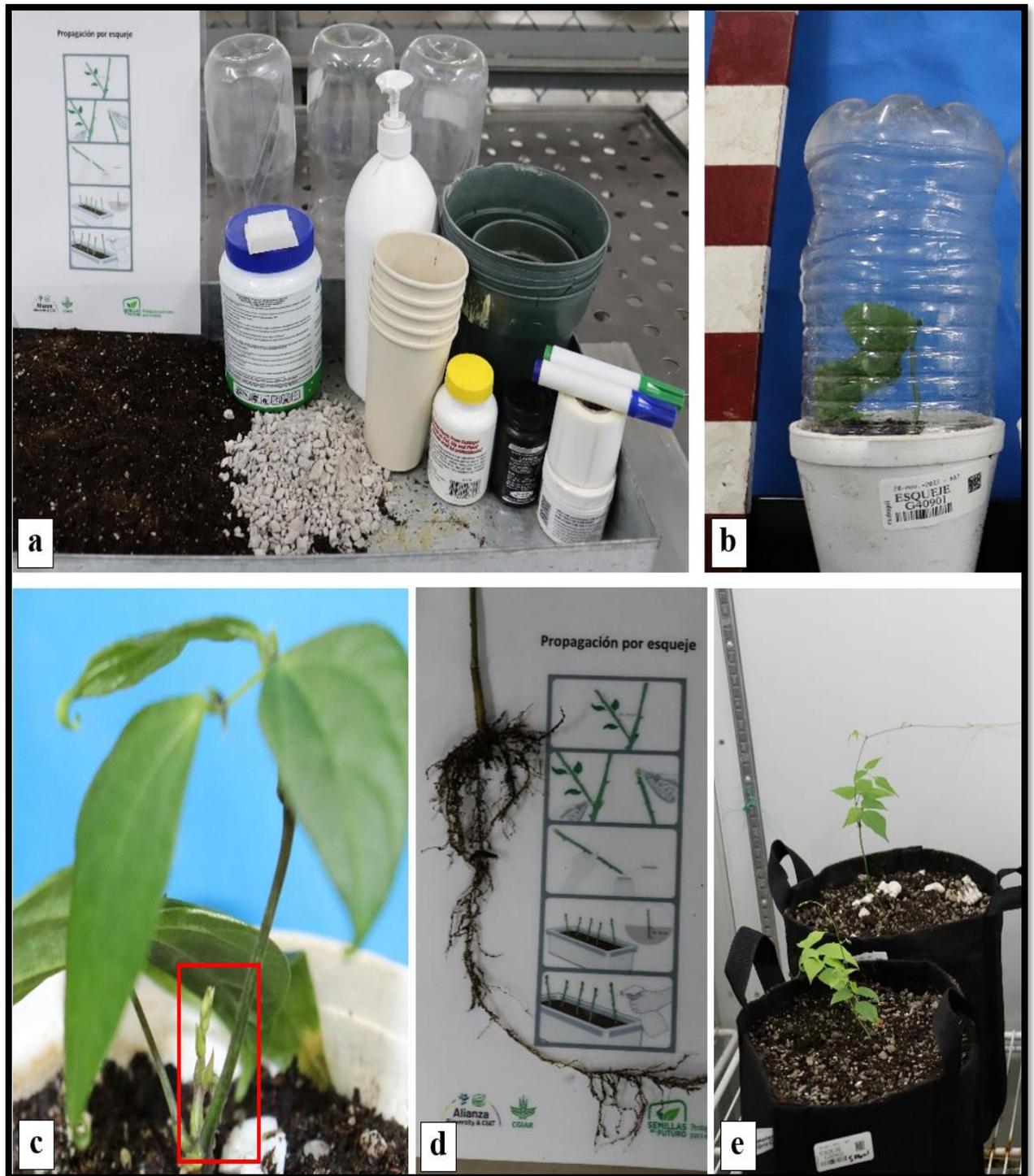
Figura 2-6: Flujograma para para la propagación por esqueje de *P. albicarminus*.

Figura 2-7: Registro fotográfico de la propagación por esqueje de *P. albicarminus*.

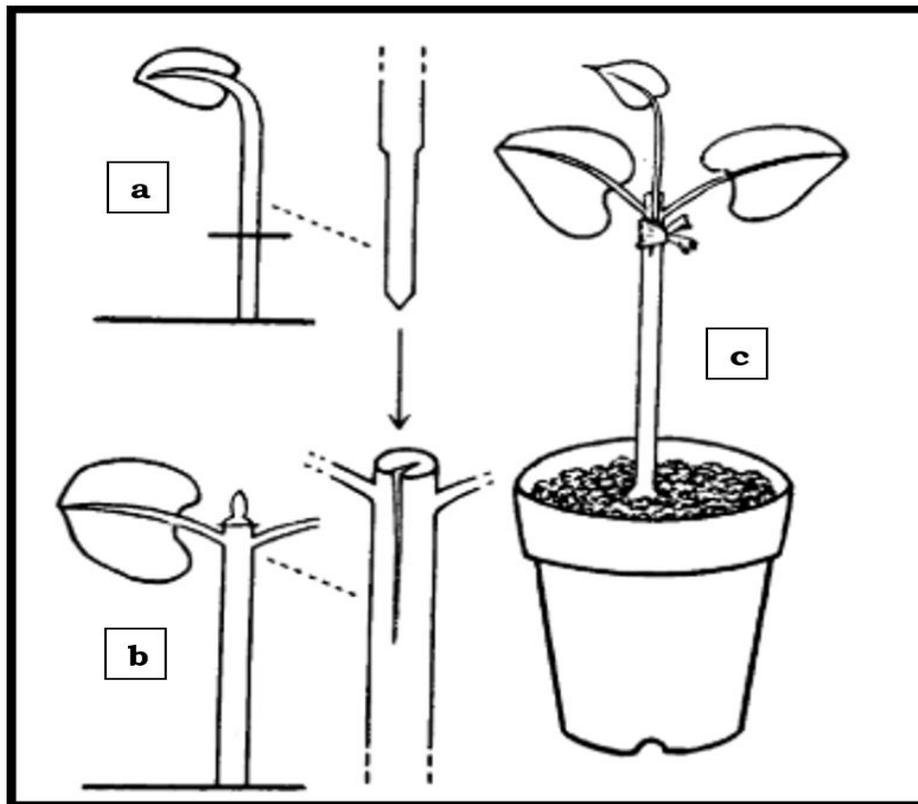


Nota. **a**: insumos necesarios para realizar un esqueje; **b**: esqueje finalizado; **c**: prendimiento; **d**: formación de raíces; **e**: trasplante del esqueje.

▪ Injertos

Los injertos se realizaron con el método tipo hendidura, que consiste en cortar el portainjerto a la altura deseada y hacerle una corte vertical por el centro de 1.5 cm de longitud, el tallo que se va a injertar se corta en forma bisel de 1-1.5 cm de largo, el vástago se inserta en la hendidura del portainjerto y se sujeta con cinta o clips de injertación (Figura 2-8). Este tipo de injerto se usa cuando el portainjerto y el vástago tienen diámetros similares, esta técnica fue utilizada con éxito por diversos investigadores en especies de frijol como *P. acutifolius*, *P. angustissimus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris* (Bernal Álzate et al., 2016; Gurusamy et al., 2010; Izquierdo y Hosfield, 1982; Sanders y Markhart, 1992; Sharkoff y Brick, 1990; Umeya e Imai, 1963; White et al., 1991; White y Castillo, 1989; Zaiter et al., 1987).

Figura 2-8: Injerto tipo hendidura.



Nota. **a:** Vástago; **b:** Portainjerto; **c:** diagrama de finalización del injerto. Adaptado de Growth response of azuki bean beetle (*Callosobruchus chinensis* L.) to beans harvested from the plants of grafting combination between azuki bean (*Phaseolus radiatus* L.), por Umeya e Imai, (1963, p. 155).

Con base en lo anterior, se planteó la metodología de propagación por injerto de *P. albicarminus*, que se compone de tres fases:

- 1) Obtención de portainjertos (Figura 2-9), Fase 1.
- 2) Procedimiento de injertación (Figura 2-10), Fase 2.
- 3) Post-injertación (Figura 2-11), Fase 3.

En la Figura 2-12, se resume el registro fotográfico de las tres fases.

Figura 2-9: Flujograma para la propagación por injerto de *P. albicarminus*, (Fase 1).

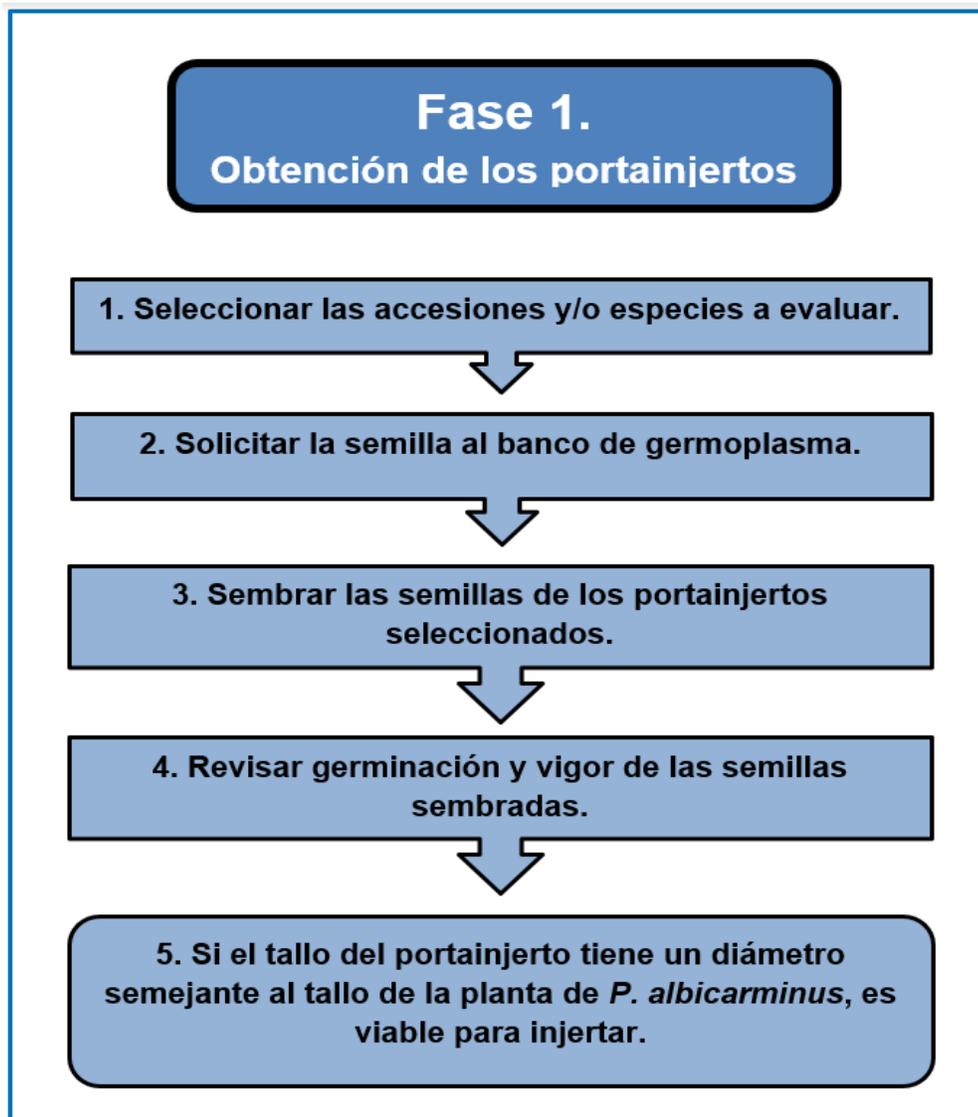


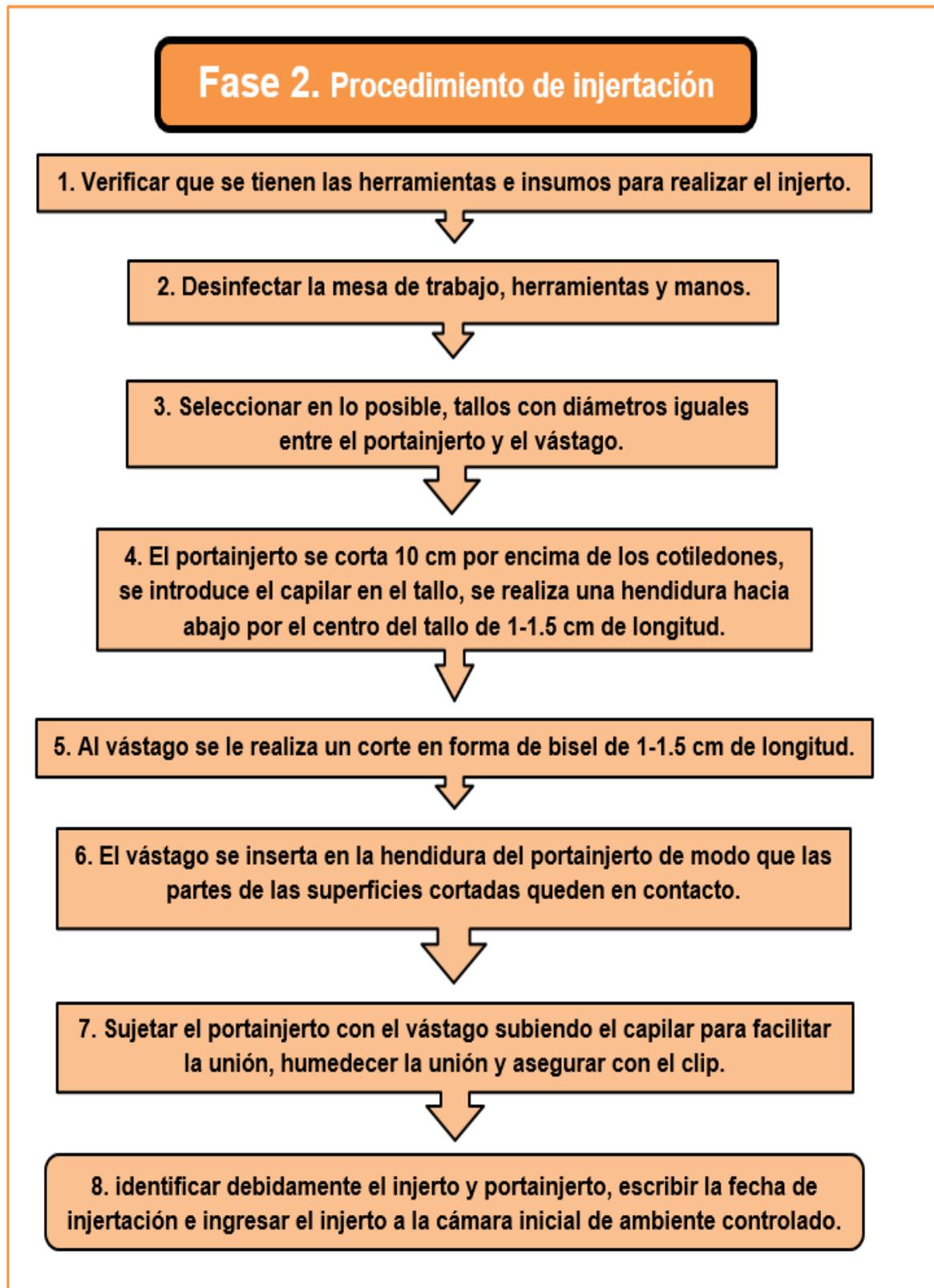
Figura 2-10: Flujograma para la propagación por injerto de *P. albicarminus*, (Fase 2).

Figura 2-11: Flujograma para la propagación por injerto de *P. albicarminus*, (Fase 3).

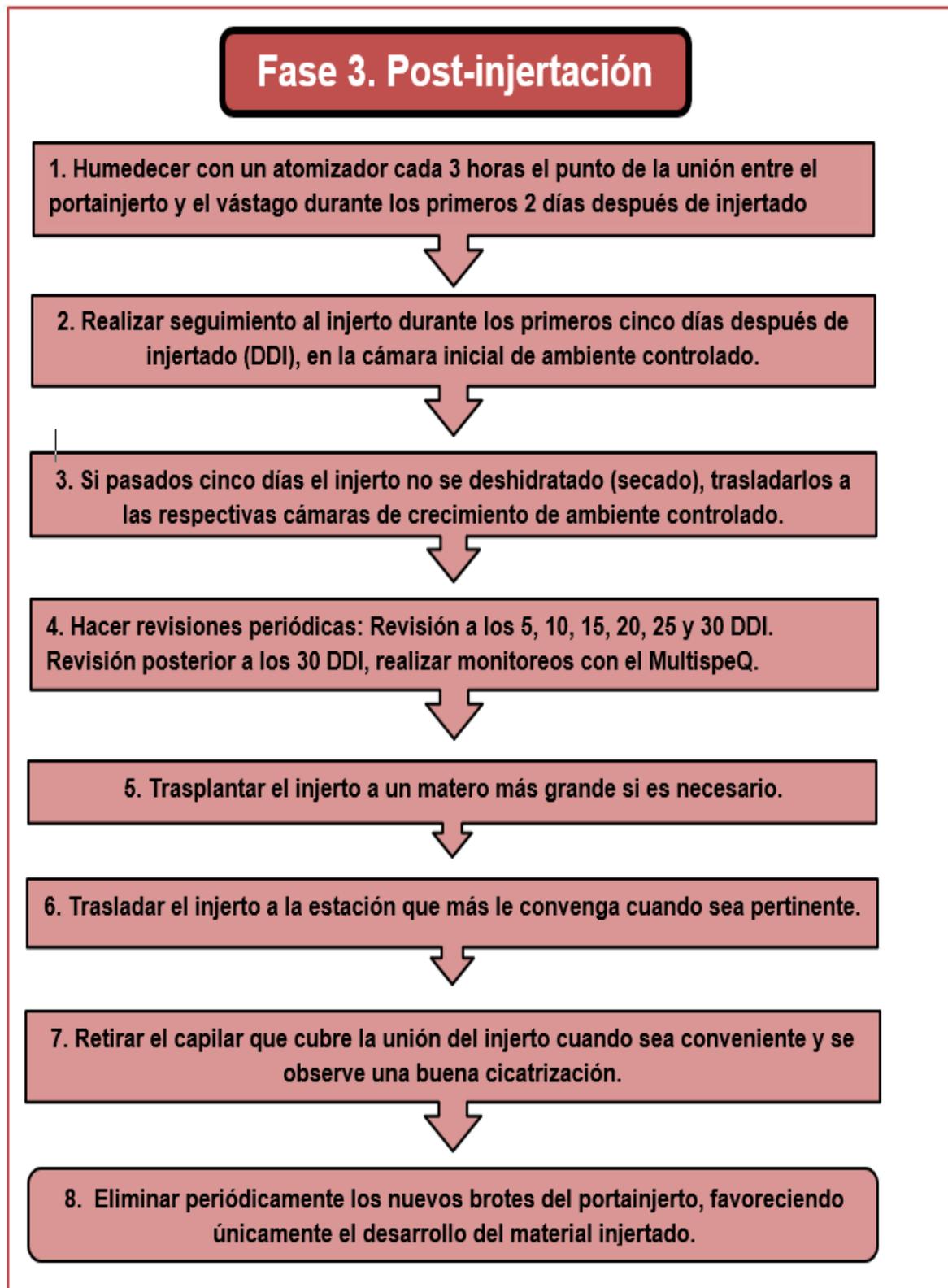


Figura 2-12: Registro fotográfico de la propagación por injerto de *P. albicarminus*.



Nota. **a; b:** fase 1 - siembra y obtención del portainjerto (*P. dumosus*-G35684); **c:** insumos necesarios para realizar un injerto **d; e:** fase 2 - procedimiento de injertación con el método tipo hendidura; **f:** fase 3 - seguimiento, traslado y trasplante de los injertos.

Antes de iniciar la evaluación de los acodos, esquejes e injertos para propagar a *P. albicarminus*, el investigador práctico estas técnicas, especialmente la injertación, por un periodo aproximado de 2 años.

2.1.3 Diseño experimental

El diseño experimental fue completamente al azar, la única fuente de variación fue los tratamientos, que consistió en evaluar el porcentaje de prendimiento de las técnicas de propagación asexual: acodos, esquejes e injertos; no se tuvo testigo por falta de semillas *P. albicarminus*. Las demás condiciones fueron iguales, se utilizó una cámara de crecimiento artificial que permite controlar la temperatura, la humedad relativa, la intensidad lumínica y el fotoperiodo. La posición de cada tratamiento al interior de la cámara se hizo de forma aleatoria, asignando un código a cada tratamiento y utilizando la función de aleatorización de Excel.

2.1.4 Tratamientos, repeticiones y unidad experimental

Se evaluaron tres técnicas de propagación asexual (acodo, esqueje e injerto), con 4 repeticiones por tratamiento y una unidad experimental de tres plantas, debido a que la disponibilidad de *P. albicarminus* es limitada, ya que se encuentra como colección viva con dos plantas conservadas en las cámaras de ambiente controlado y sin disponibilidad de semillas.

2.1.5 Variables

La variable que se analizó fue la cantidad (%) de plantas propagadas por tratamiento.

2.1.6 Equipos, insumos e instrumentos.

Se utilizaron cámaras de ambiente controlado, computador, Tablet y cámara fotográfica. También insumos agrícolas como sustratos, fertilizantes, plaguicidas, potes, etiquetas clips de injertar, cuchillas de bisturí y software para análisis de datos.

2.1.7 Análisis de datos

Los datos obtenidos se tabularon en Excel 2016 (Microsoft©) y se analizaron con el programa estadístico SAS® *OnDemand* para académicos, mediante parámetros univariados (promedio, desviación estándar y coeficiente de variación), también se realizó ANDEVA y la prueba de comparación de medias por Tukey ($P < 0,05$).

2.2 Evaluación de portainjertos para la propagación de *P. albicarminus*.

Se evaluó la compatibilidad de 16 accesiones de frijol como portainjertos (Tabla 2-3) para propagar a *P. albicarminus*.

2.2.1 Material vegetal

Se utilizaron 5 especies y en total 17 accesiones de que forman parte de la colección mundial de frijol que conserva y distribuye el banco de germoplasma del Programa de Recursos Genéticos del CIAT. Se usaron vástagos de las plantas obtenidas anteriormente cuando se evaluó los acodos, esquejes e injertos en la propagación *P. albicarminus*. Se injertaron sobre *P. coccineus* (6 accesiones) *P. dumosus* (3 accesiones), *P. lunatus* (2 accesiones) y *P. vulgaris* (5 accesiones).

2.2.2 Procedimientos

Selección y siembra de portainjertos

Los portainjertos se eligieron (Tabla 2-3), analizando la base datos del PRG, teniendo en cuenta los datos de pasaporte de los portainjertos para que coincidieran con la ecología de *P. albicarminus*. Se seleccionaron accesiones de ciclo corto, para comprobar si es posible inducir precocidad en la floración o incluso cambiar el hábito de crecimiento de *P. albicarminus*. También se eligieron accesiones de fuerte desarrollo radicular, que puedan inducir tolerancia a ciertas plagas y patógenos del suelo, pues en ocasiones se han muerto plantas de *P. albicarminus*, por problemas en su sistema radicular por causa de nematodos y hongos del suelo. La siembra de los portainjertos se realizó en vasos de 12 onzas, los cuales se llenaron con un sustrato compuesto por arena gruesa (30%), humus (30%), turba de coco (30%) y piedra pómez (10%).

Tabla 2-3: Accesiones evaluadas como portainjertos.

Accesión/tratamiento	Especie	Hábito de crecimiento	Estado biológico	Floración (# de días)	Primera cosecha (# días)	asnm	País de origen	Foto semilla
G653/T1	<i>P. vulgaris</i>	Arbustivo	Cultivado	30	59	Sin dato	Alemania	
G11215/T2	<i>P. vulgaris</i>	Arbustivo	Cultivado	27	53	Sin dato	Países Bajos	
G12657/T3	<i>P. vulgaris</i>	Trepador Indeterminado	Cultivado	Sin dato	Sin dato	1800	Colombia	
G25802/T4	<i>P. lunatus</i>	Trepador Indeterminado	Cultivado	90	153	1850	Colombia	
G36321/T5	<i>P. coccineus</i>	Arbustivo	Silvestre	62	125	1170	Mexico	
G36346/T6	<i>P. coccineus</i>	Trepador Indeterminado	Cultivado	Sin dato	Sin dato	Sin dato	Reino Unido	
G35155/T7	<i>P. coccineus</i>	Trepador Indeterminado	Cultivado	55	157	Sin dato	Reino Unido	
G36341/T8	<i>P. dumosus</i>	Trepador Indeterminado	Cultivado	115	Sin dato	1840	Colombia	
G35170/T9	<i>P. coccineus</i>	Arbustivo Indeterminado	Cultivado	44	120	Sin dato	Mexico	
G35214/T10	<i>P. coccineus</i>	Arbustivo	Cultivado	90	161	Sin dato	Guatemala	
G36378/T11	<i>P. coccineus</i>	Trepador Indeterminado	Cultivado	Sin dato	Sin dato	1900	Colombia	
G24727/T12	<i>P. vulgaris</i>	Arbustivo	Cultivado	55	112	1900	Colombia	
Escape Tenerife/T13	<i>P. dumosus</i>	Trepador Indeterminado	Escape	Sin dato	Sin dato	2157	Colombia	
G27462/T14	<i>P. lunatus</i>	Arbustivo	Cultivado	43	80	1100	Colombia	
G6573/T15	<i>P. vulgaris</i>	Arbustivo	Cultivado	53	118	Sin dato	Estados Unidos	
G35684/T16	<i>P. dumosus</i>	Trepador Indeterminado	Cultivado	71	166	2113	Mexico	

Nota. Adaptado de la base datos colección frijol página web. PRG - CIAT, (2022).

▪ Injertación y evaluación

Los injertos se realizaron utilizando nuevamente la metodología que se planteó inicialmente para la propagación por injerto de *P. albicarminus*, que se compone de tres fases: Figura 2-9 (Fase 1); Figura 2-10 (Fase 2); Figura 2-11 (Fase 3). Periódicamente se revisó los injertos (1,2, 3, 4 y 5, 10, 15, 20, 25 y 30 DDI) y se registró información en los formatos de seguimiento (Anexos A-E), esto permitió definir los portainjertos con mayor compatibilidad para propagar a *P. albicarminus*. Los injertos fueron trasladados a las estaciones de Corrales y Tenerife y se analizó cual se adaptó mejor.

2.2.3 Diseño experimental

El diseño fue completamente al azar, la única fuente de variación fue la de los portainjertos, las demás condiciones eran homogéneas. Para desarrollar esta investigación se contó con cámaras de crecimiento artificial que permite controlar la temperatura, la humedad relativa, la intensidad lumínica y el fotoperiodo. La posición de cada tratamiento al interior de la cámara fue de forma aleatoria, se asignó un código a cada tratamiento y se utilizó la función de aleatorización de Excel. El plan nutricional, manejo fitosanitario y el riego, fue idéntico en todos los tratamientos controlando al máximo el error experimental.

2.2.4 Tratamientos, repeticiones y unidad experimental

Se evaluó 16 accesiones de *Phaseolus* como portainjertos para propagar a *P. albicarminus* (Tabla 2-3.). Se uso un testigo por tratamiento que consistió en realizar autoinjertos de cada tratamiento. Fueron dos repeticiones por tratamiento y la unidad experimental fue de tres injertos de *P. albicarminus* por tratamiento más dos autoinjertos como testigo.

2.2.5 Variables

Se registró información en los formatos de seguimiento (Anexos A-G), se revisó los injertos a los 5, 10, 15, 20, 25 30 días después de injertados (DDI) y posterior a los 30 DDI, capturando datos para medir las siguientes variables:

Porcentaje de empalme de los injertos: es una de las variables principales y se midió mediante la siguiente fórmula=

$$\% \text{ empalme} = \# \text{ injertos establecidos} \div \# \text{ de injertos realizados} * 100$$

Altura, Cantidad de entrenudos, trifolios y guías del injerto

Cantidad de plantas establecidas en las estaciones experimentales

2.2.6 Equipos, insumos e instrumentos.

Se utilizaron diversos equipos para el desarrollo de la investigación, entre ellos cámaras de ambiente controlado, computador, software para análisis de datos, Tablet y cámara fotográfica. También insumos agrícolas como sustratos, fertilizantes, plaguicidas, potes, etiquetas y clips.

2.2.7 Análisis de datos

Los datos se tabularon en Excel 2016 (Microsoft©) y fueron analizados con el programa estadístico SAS® *OnDemand* para académicos, mediante parámetros univariados (promedio, desviación estándar y coeficiente de variación), también se realizó un ANDEVA y la prueba de comparación de medias por Tukey ($P < 0,05$).

2.3 Producción de semillas de *P. albicarminus* en las estaciones de regeneración Corrales y Tenerife

Los portainjertos que presentaron mayor compatibilidad se usaron para propagar masivamente la accesión G40901 (*P. albicarminus*). Se establecieron parcelas en las estaciones de regeneración para buscar la producción de semillas; se determinó cambios en la fisiología de *P. albicarminus*. Se usaron vástagos de *P. albicarminus* (Figura 2-3 y Figura 2-13) para injertar sobre 1 accesión de *P. coccineus* (G35170), 1 escape de *P. dumosus* y una accesión de *P. vulgaris* (G6573), que fueron los tratamientos que presentaron mayor compatibilidad y adaptación a las estaciones.

Para propagar masivamente la accesión G40901 (*P. albicarminus*), se utilizó de nuevo la metodología de tres fases planteada en las Figuras 2-9 a 2-11. Se revisaron los injertos (1,2, 3, 4 y 5, 10, 15, 20, 25 y 30 DDI) y se registraron los datos y observaciones en los formatos de seguimiento (Anexos A-E). Los injertos establecidos se trasladaron a las estaciones experimentales de Tenerife y Corrales. Se estableció una parcela de 15 plantas en cada estación experimental de regeneración. Se tomó información en los formatos de los Anexos F-G, que permitió la captura de información de variables como:

% empalme = # injertos establecidos ÷ # de injertos realizados * 100

Altura, Cantidad de entrenudos, trifolios y guías del injerto

Cantidad de plantas establecidas en las estaciones experimentales

Hábito de crecimiento

Color de flor, fecha de floración y cantidad total de flores formadas

Fecha inicio formación de frutos y cantidad total de frutos formados

Fecha primera cosecha, cantidad total de frutos cosechados, cantidad de semillas por fruto y cantidad total de semillas.

3. Resultados

A continuación, se desglosan los resultados por cada objetivo específico:

3.1 Estandarización de una metodología de propagación asexual para aumentar la cantidad plantas de *P. albicarminus*.

En la comparación de las tres técnicas de propagación asexual, el mayor número de plantas de *P. albicarminus* se propago mediante injertos (9 plantas - 75% de prendimiento), seguido de por los acodos (3 plantas - 25% de prendimiento), y de ultimo los esquejes (2 plantas - 16.6% de prendimiento); estos resultados se resumen en la Tabla 3-1, donde es evidente la superioridad del injerto en comparación con los acodos y esquejes.

Tabla 3-1: Plantas establecidas y porcentaje de prendimiento de acodos, esquejes e injertos, en cuatro repeticiones de tres plantas por tratamiento.

Tratamiento	Plantas totales establecidas	% prendimiento
Acodo	3	25
Esqueje	2	16.6
Injerto	9	75

Los resultados del análisis de varianza Tabla 3 - 2, indican que estadísticamente al menos uno de los tratamientos es diferente. La prueba de comparación de medias por Tukey ($P < 0,05$), señala y ratifica que los injertos, son significativamente más efectivos para propagar a *P. albicarminus*, en comparación con los acodos y los esquejes (Tabla 3 - 3).

Tabla 3-2: ANOVA de los acodos, esquejes e injertos de *P. albicarminus*.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab
tratamientos	2	7.16666667	3.58333333	12.9	3.98
error	9	2.5	0.27777778		
total	11	9.66666667			

Tabla 3-3: Comparación de promedios de prendimiento de los acodos, esquejes e injertos.

Tratamiento	% promedio de prendimiento
Injerto	75 (a)
Acodo	25 (b)
Esqueje	16.6 (b)

En esta primera parte se logró avances muy importantes para el PRG, por ejemplo:

1. Mediante la propagación asexual se obtuvieron 14 plantas nuevas de *P. albicarminus* : 3 acodos (Figura 3-1) + 2 esquejes (Figura 3-2) + 9 injertos, (Figura 3-3).
2. Se trasladaron algunas plantas (injertos) de *P. albicarminus* a las estaciones experimentales (Figura 3-4), disminuyendo el riesgo de perder la accesión al tenerlas en diferentes condiciones.
3. Se validó y se estandarizó la técnica de injerto para la propagación de *P. albicarminus*. Esta técnica se convierte en una alternativa para la regeneración del germoplasma.
4. Se comprobó la compatibilidad de tejidos entre *P. albicarminus* y *P. dumosus*

Figura 3-1: Plantas de *P. albicarminus* obtenidas mediante acodos.



Figura 3-2: Plantas de *P. albicarminus* obtenidas mediante esquejes.



Figura 3-3: Plantas de *P. albicarminus* obtenidas mediante injertos.

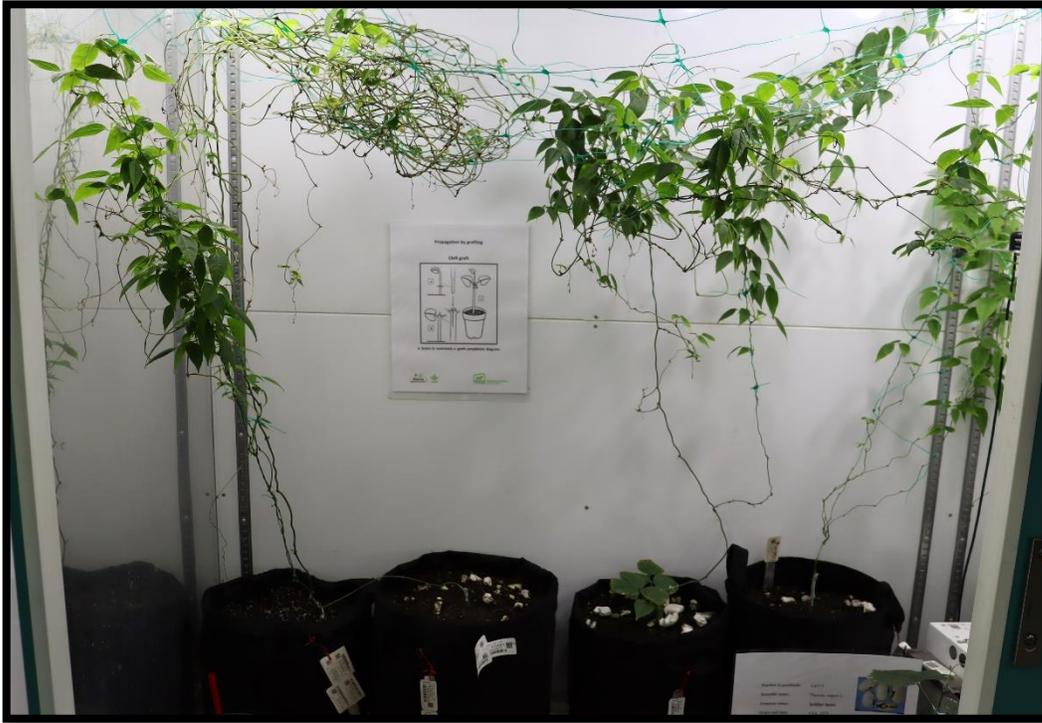


Figura 3-4: Plantas de *P. albicarminus* trasladadas a las estaciones.



3.2 Evaluación de portainjertos compatibles para la propagación de *P. albicarminus* (accesión G40901).

Debido a la diversidad de las accesiones, sumado a que la germinación total no fue del 100%, se logró realizar el 92.7% de los injertos de *P. albicarminus* y el 62% de los autoinjertos (testigos). Los injertos permanecieron 43 días en la cámara de condiciones controladas, donde se realizó seguimiento constante y detallado cada 5 días. En la Tabla 3-4, se observa el porcentaje general de prendimiento de los injertos de *P. albicarminus* el cual fue de 52.8% (se realizaron 89 y prendieron 47, se descartaron 42); y el porcentaje general de prendimiento de los autoinjertos el cual fue de 57.5% (se realizaron 40 y prendieron 23, se descartaron 17).

Tabla 3-4: Porcentaje general de injertos de *P. albicarminus* y autoinjertos prendidos y porcentaje de injertos descartados a los 43 DDI

Variables	Injertos de <i>P. albicarminus</i>	Autoinjertos – Testigos
injertos realizados	89	40
injertos prendidos	47	23
injertos descartados	42	17
% de prendimiento general	52.8 %	57.5 %
% de descarte general	47.2 %	42.5 %

En la Tabla 3-5 se observa el % de prendimiento de los tratamientos y los testigos a los 43 DDI. El prendimiento del 100% de los injertos de los tratamientos 4, 12 y 15 es muy interesante, en comparación con el 0% de prendimiento de los tratamientos 2 y 3. En los autoinjertos (testigos) de los tratamientos 4, 6, 7, 8 y 9, el prendimiento fue del 100%, y en los autoinjertos de los tratamientos 1, 2, 3, 12 y 15 el prendimiento fue del 0%. Los autoinjertos de los tratamientos 10, 13 y 16 no se pudieron realizar debido a que no germinó la semilla.

Tabla 3-5: Porcentaje promedio de injertos prendidos de *P. albicarminus* y porcentaje de autoinjertos prendidos a los 43 DDI, bajo condiciones controladas

Portainjertos	Especie	% prendimiento	Autoinjertos Testigos	% prendimiento
G653 (T1)	<i>P. vulgaris</i>	83.3	G653	0
G11215 (T2)	<i>P. vulgaris</i>	0	G11215	0
G12657 (T3)	<i>P. vulgaris</i>	0	G12657	0
G25802 (T4)	<i>P. lunatus</i>	100	G25802	100
G36321 (T5)	<i>P. coccineus</i>	50	G36321	50
G36346 (T6)	<i>P. coccineus</i>	33.3	G36346	100
G35155 (T7)	<i>P. coccineus</i>	16.6	G35155	100
G36341 (T8)	<i>P. dumosus</i>	66.6	G36341	100
G35170 (T9)	<i>P. coccineus</i>	50	G35170	100
G35214 (T10)	<i>P. coccineus</i>	50	G35214	0
G36378 (T11)	<i>P. coccineus</i>	16.6	G36378	50
G24727 (T12)	<i>P. vulgaris</i>	100	G24727	0
Escape TEN (T13)	<i>P. dumosus</i>	75	Escape TEN	0
G27462 (T14)	<i>P. lunatus</i>	66.6	G27462	50
G6573 (T15)	<i>P. vulgaris</i>	100	G6573	0
G35684 (T16)	<i>P. dumosus</i>	33.3	G35684	0

Los resultados de los análisis de varianzas sugieren que al menos uno de los portainjertos (Tabla 3-6) y también alguno de los autoinjertos testigos (Tabla 3-7), que se evaluaron presentan diferencias. Las pruebas de comparación de medias por Tukey ($P < 0,05$), confirman que hay diferencias entre grupos de tratamientos y entre los testigos (Tabla 3-8). Entre los tratamientos 4, 12, 15, 1, 13, 14, 8, 10, 9 y 5, no hay diferencias estadísticas, pero estos sí se diferencian significativamente de los tratamientos 16, 6, 11, 7, 2 y 3. En los testigos se evidencian tres grupos bien diferenciados.

Tabla 3-6: ANOVA para los injertos de *P. albicarminus*

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab
portainjertos	15	71224.44984	4748.29666	9.84	1.836
error	48	23161.94750	482.54057		
total	63	94386.39734			

Tabla 3-7: ANOVA para los autoinjertos

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal	Ftab
autoinjertos	15	124375.0000	8291.6667	7965097	1.836
error	48	0.05	0.00104166		
total	63	124375.5			

Tabla 3-8: Comparación de porcentaje promedio de prendimiento entre Injertos de *P. albicarminus* y autoinjertos, bajo condiciones controladas.

Portainjertos	Especie <i>Phaseolus</i>	% Prendimiento	Autoinjertos	Especie <i>Phaseolus</i>	% prendimiento
G25802 (T4)	<i>lunatus</i>	100 (a)	G25802 (T4)	<i>lunatus</i>	100(a)
G24727 (T12)	<i>vulgaris</i>	100 (a)	G36346 (T6)	<i>coccineus</i>	100(a)
G6573 (T15)	<i>vulgaris</i>	100 (a)	G35155 (T7)	<i>coccineus</i>	100(a)
G653 (T1)	<i>vulgaris</i>	83.3 (a) (c)	G36341 (T8)	<i>dumosus</i>	100(a)
Escape TEN (T13)	<i>dumosus</i>	75 (a) (c) (e)	G35170 (T9)	<i>coccineus</i>	100(a)
G27462 (T14)	<i>lunatus</i>	66.6 (a) (c) (d) (e)	G36321 (T5)	<i>coccineus</i>	50 (b)
G36341 (T8)	<i>dumosus</i>	66.6 (a) (c) (d) (e)	G36378 (T11)	<i>coccineus</i>	50 (b)
G35214 (T10)	<i>coccineus</i>	50 (a) (b) (c) (d) (e)	G27462 (T14)	<i>lunatus</i>	50 (b)
G35170 (T9)	<i>coccineus</i>	50 (a) (b) (c) (d) (e)	G653 (T1)	<i>vulgaris</i>	0 (c)
G36321 (T5)	<i>coccineus</i>	50 (a) (b) (c) (d) (e)	G11215 (T2)	<i>vulgaris</i>	0 (c)
G35684 (T16)	<i>dumosus</i>	33.3 (b) (c) (d) (e)	G12657 (T3)	<i>vulgaris</i>	0 (c)
G36346 (T6)	<i>coccineus</i>	25.7 (b) (d) (e)	G35214 (T10)	<i>coccineus</i>	0 (c)
G36378 (T11)	<i>coccineus</i>	16.6 (b) (d)	G24727 (T12)	<i>vulgaris</i>	0 (c)
G35155 (T7)	<i>coccineus</i>	16.6 (b) (d)	Escape TEN(T13)	<i>dumosus</i>	0 (c)
G11215 (T2)	<i>vulgaris</i>	0 (b)	G6573 (T15)	<i>vulgaris</i>	0 (c)
G12657 (T3)	<i>vulgaris</i>	0 (b)	G35684 (T16)	<i>dumosus</i>	0 (c)

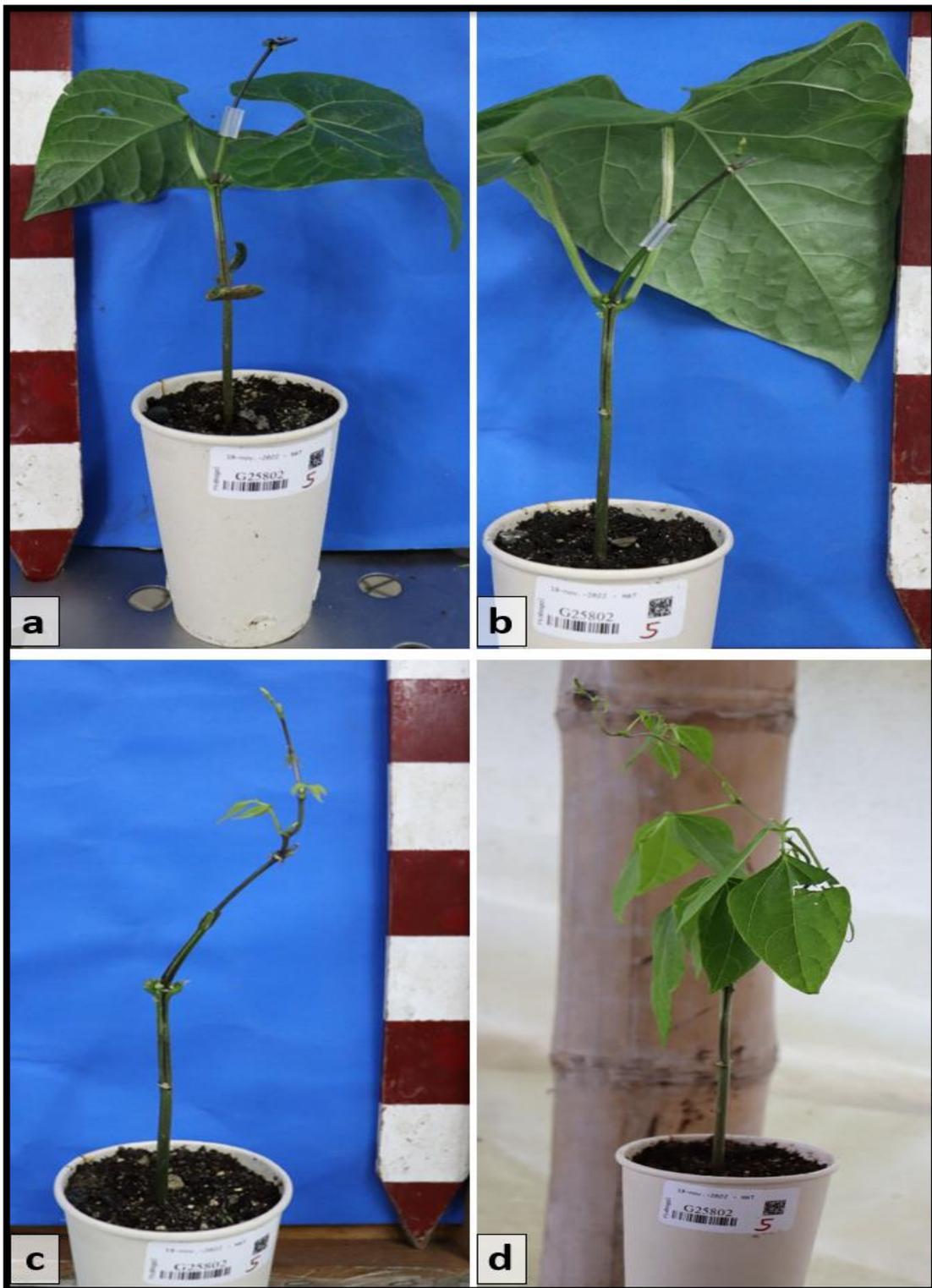
Para esta investigación los tratamientos con un porcentaje de prendimiento igual o mayor al 50%, son considerados indicados para la propagación de *P. albicarminus*, en ese sentido según los resultados de anteriores se identificaron 10 portainjertos que cumplen esta condición hasta los 43 DDI bajo condiciones controladas. De los 10 tratamientos (portainjertos), 3 presentaron 100% de prendimiento, 1 con 83%, 1 con 75%, 2 con 66% y 3 con 50%. En la Tabla 3-9 se describen otras características y observaciones de los portainjertos identificados para la propagación de *P. albicarminus*.

Tabla 3-9: Observaciones de los portainjertos identificados para la propagación de *P. albicarminus*, bajo condiciones controladas hasta los 43 DDI.

Accesión portainjerto	Especie <i>Phaseolus</i>	% prendimiento	Habito de crecimiento	Crecimiento del injerto en cm (<i>P. albicarminus</i>)	Trifolios nuevos del injerto (<i>P. albicarminus</i>)
G25802 (T4)	<i>lunatus</i>	100	trepador	43.2	8
G24727 (T12)	<i>vulgaris</i>	100	arbustivo	24.6	7
G6573 (T15)	<i>vulgaris</i>	100	arbustivo	16.7	6
G653 (T1)	<i>vulgaris</i>	83.3	arbustivo	49	10
Escape TEN (T13)	<i>dumosus</i>	75	trepador	31.3	7
G36341 (T8)	<i>dumosus</i>	66.6	trepador	3	3
G27462 (T14)	<i>lunatus</i>	66.6	arbustivo	64	8
G36321 (T5)	<i>coccineus</i>	50	arbustivo	27.7	4
G35170 (T9)	<i>coccineus</i>	50	arbustivo	38.6	6
G35214 (T10)	<i>coccineus</i>	50	arbustivo	62	10

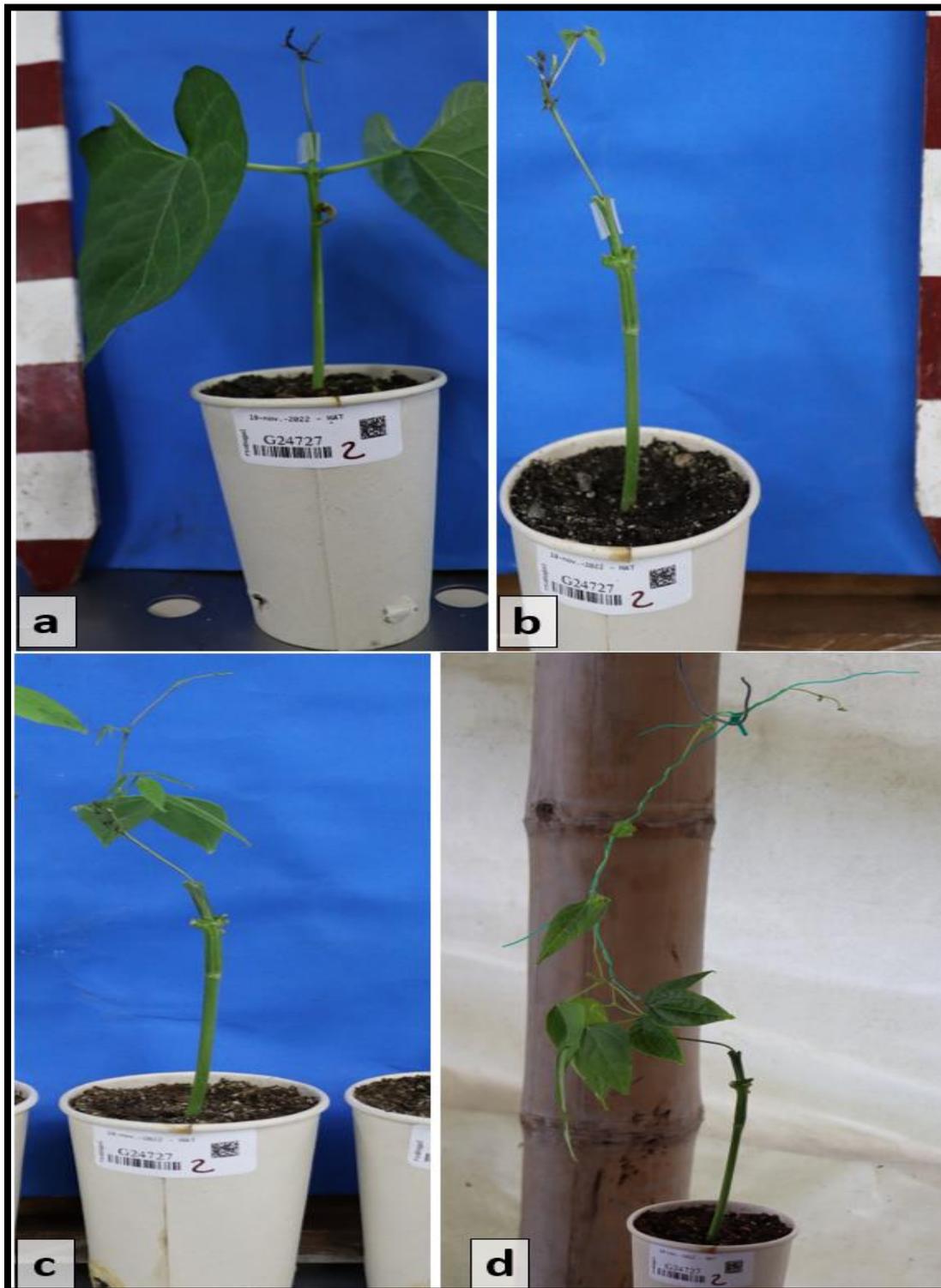
En las Figuras 3-5 a la 3-7 está el registro fotográfico de la evolución de los tratamientos 4, 12 y 15, que fueron los que presentaron 100% prendimiento. Como cada tratamiento tuvo testigos (autoinjertos), hubo 5 testigos que presentaron 100% de prendimiento, 3 con 50%, 5 con 0% y 3 que no se pudieron realizar los autoinjertos.

Figura 3-5: Evolución del injerto de *P. albicarminus* (G40901) sobre *P. lunatus* (G25802), tratamiento 4 que presentó 100% prendimiento, en condiciones controladas a los 43 DDI.



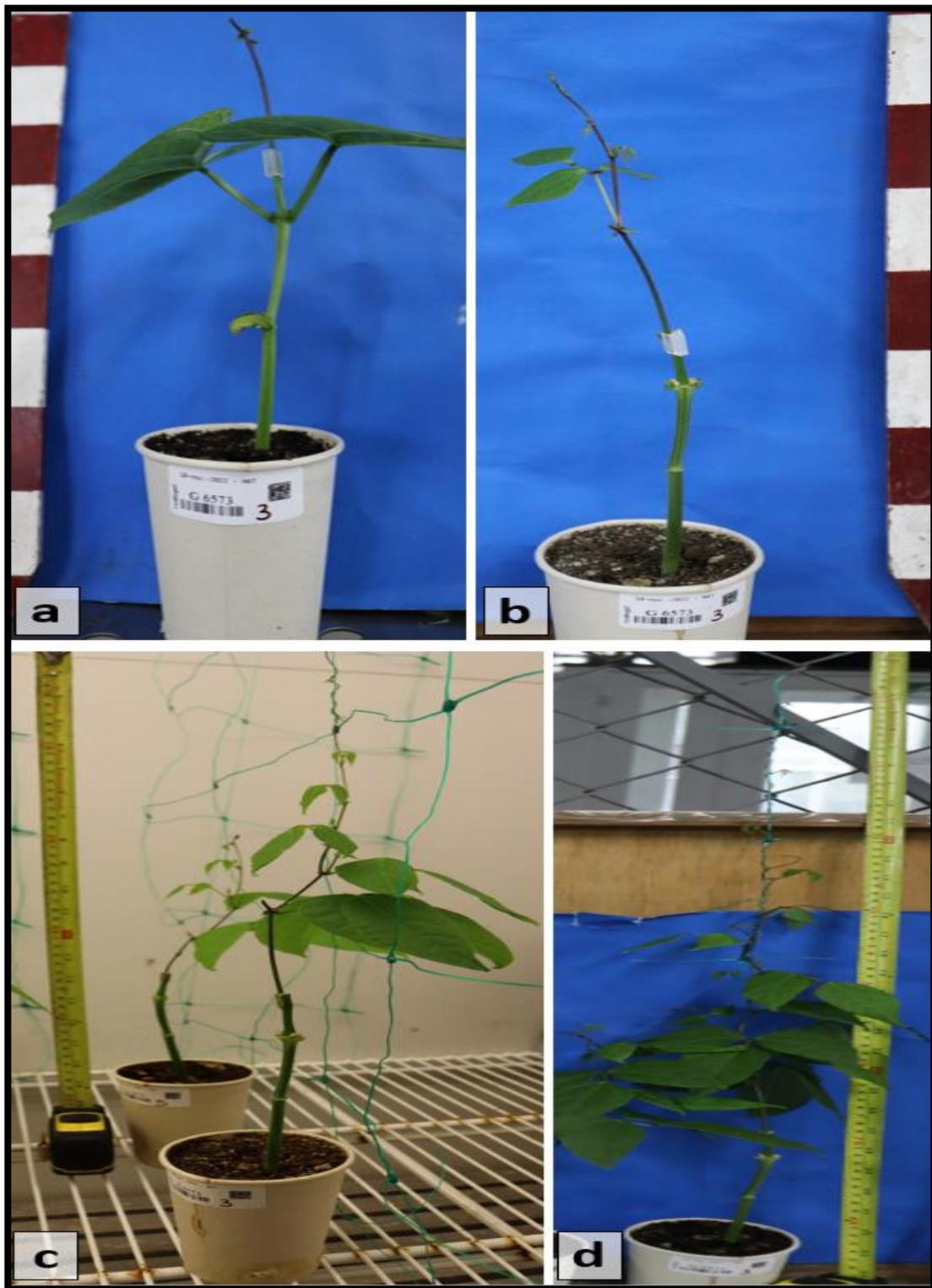
Nota. **a:** momento de injertación; **b:** 20 DDI; **c:** 30 DDI; **d:** 43 DDI - traslado a la estación.

Figura 3-6: Evolución del injerto de *P. albicarminus* (G40901) sobre *P. vulgaris* (G24727), tratamiento 12 que presentó 100% prendimiento, en condiciones controladas a los 43 DDI.



Nota. **a:** momento de injertación; **b:** 20 DDI; **c:** 30 DDI; **d:** 43 DDI - traslado a la estación.

Figura 3-7: Evolución del injerto de *P. albicarminus* (G40901) sobre *P. vulgaris* (G6573), tratamiento 15 que presentó 100% prendimiento, en condiciones controladas a los 43 DDI.



Nota. **a:** momento de injertación; **b:** 20 DDI; **c:** 30 DDI; **d:** 43 DDI - traslado a la estación.

Analizando individualmente cada injerto que sobrevivió hasta los 43 DDI, hay 4 que sobresalen por su crecimiento acelerado; entre ellos, 2 autoinjertos (testigo) del tratamiento 4, más 1 injerto del tratamiento 1, más 1 injerto del tratamiento 9. La Figura 3-8 muestra el comportamiento de la variable crecimiento en función de los DDI, de estos 4 injertos que desde una mirada individual obtuvieron datos muy interesantes. También sobresalen otros 4 injertos por la cantidad de trifolios nuevos que se formaron hasta los 43 DDI; entre los cuales están, 1 injerto del tratamiento 1, más 1 injerto del tratamiento 4, más 1 injerto del tratamiento 15, más 1 autoinjerto (testigo) del tratamiento 9. La Figura 3-9 permite ver cómo fue la ganancia de trifolios de estos injertos, con el transcurrir de los días.

Figura 3-8: Injertos con mayor altura a los 43 días después de injertados

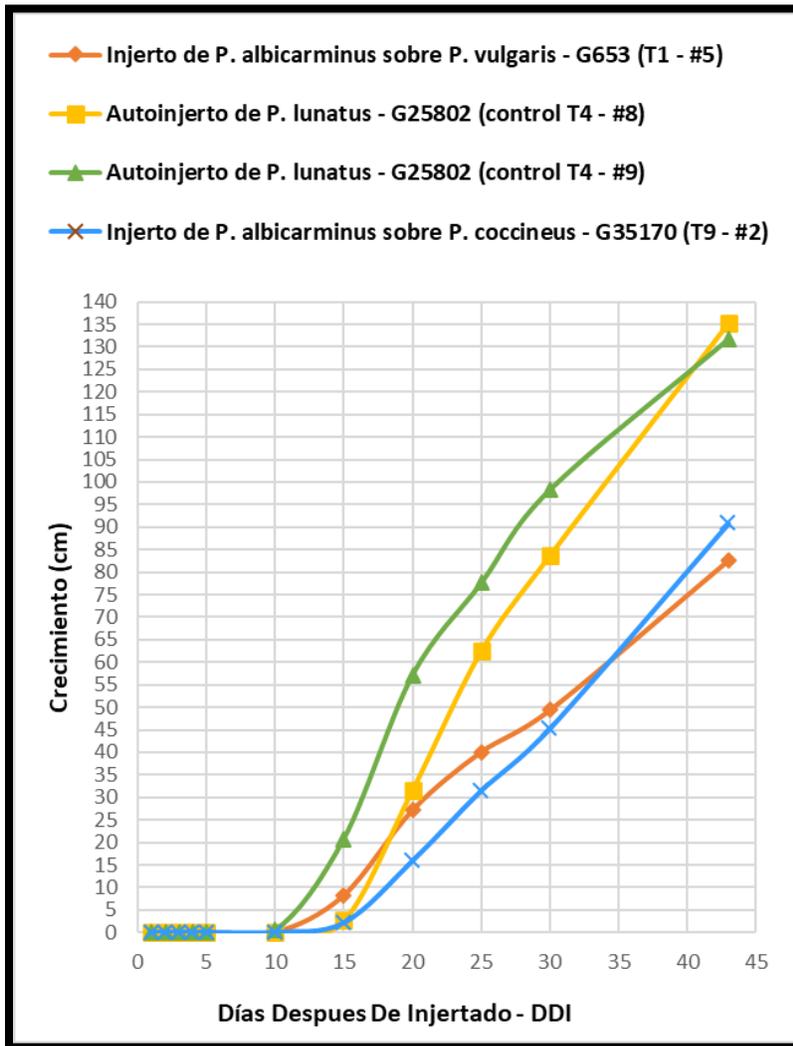
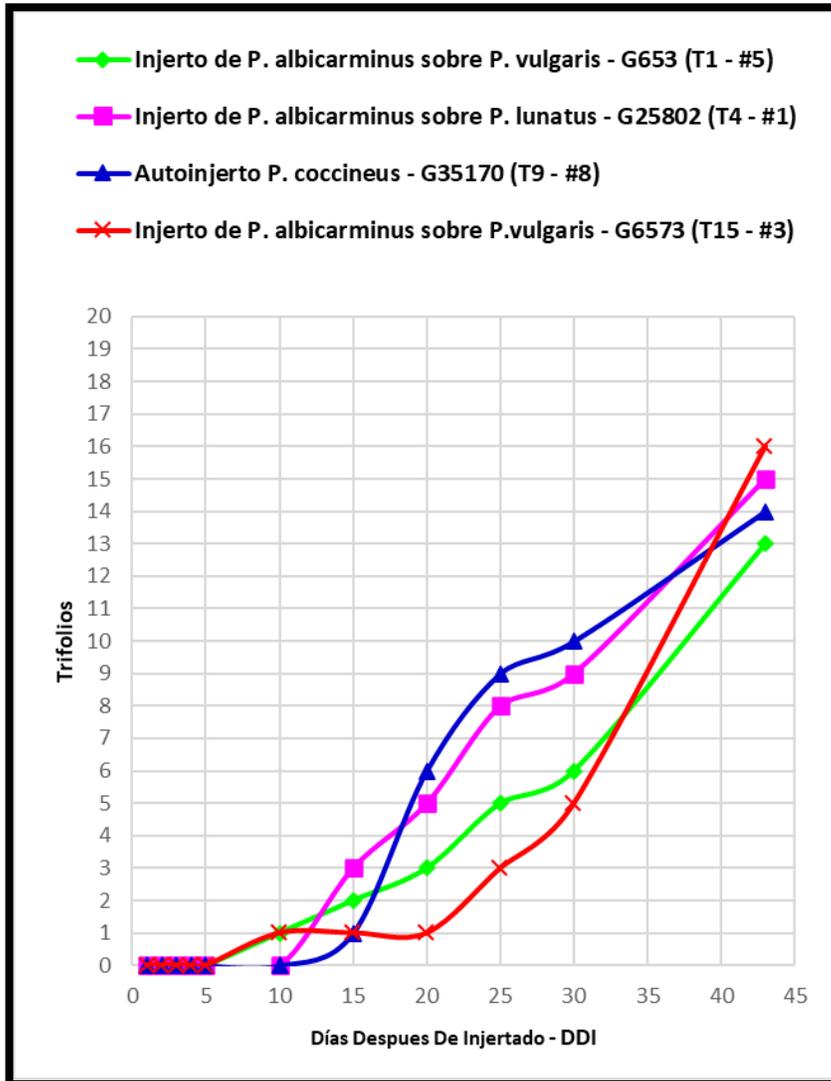
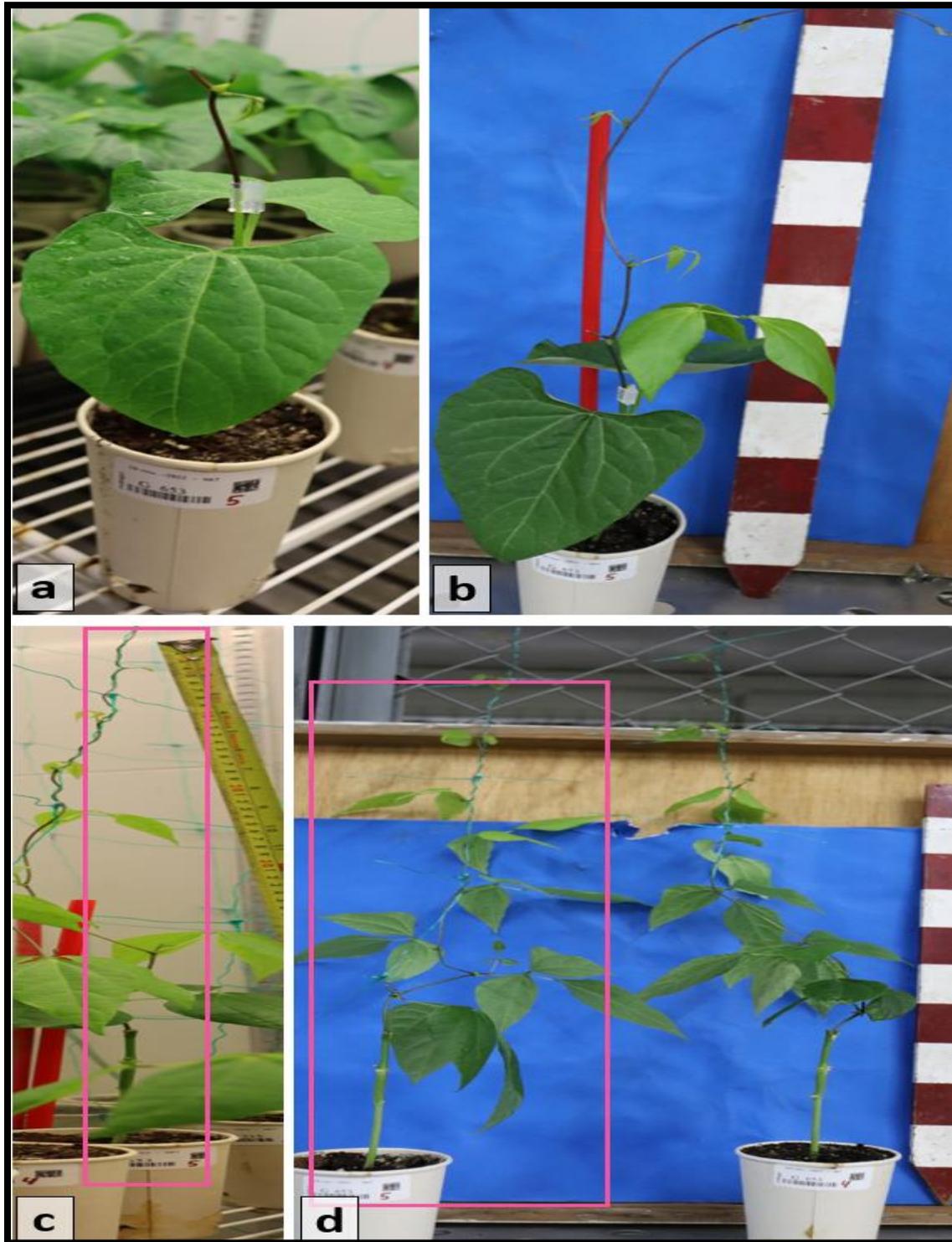


Figura 3-9: Injertos con más cantidad de trifolios a los 43 días después de injertados

La Figura 3-10 muestra la evolución del injerto #5 del tratamiento 1 que consistió en injertar a *P. albicarminus* sobre un *P. vulgaris* (G653), este injerto sobresalió por su crecimiento acelerado y también por la cantidad de trifolios nuevos que se formaron. Estos resultados se obtuvieron en cámaras de condiciones controladas, donde los injertos de *P. albicarminus* y los autoinjertos permanecieron 43 días. Luego, los injertos que prendieron se dividieron equitativamente y se trasladaron a las estaciones de Tenerife y Corrales, para comprobar su adaptación en condiciones de campo y determinar cuál estación de regeneración es la más conveniente para *P. albicarminus*.

Figura 3-10: Evolución del injerto de *P. albicarminus* (G40901) sobre *P. vulgaris* (G653) – tratamiento 1, que presentó la mayor altura y más formación de trifolios en condiciones controladas a los 43 DDI.



Nota. **a:** momento de injertación; **b:** 20 DDI; **c:** 30 DDI; **d:** 43 DDI - traslado a la estación.

A los 60 días después del trasplante a la estación (DDTE), el porcentaje promedio de injertos de *P. albicarminus* que se adaptan a las condiciones de las estaciones fue del 64.3%; y del 96.8% para los autoinjertos. En la estación de Corrales la adaptación de los injertos fue 77.2%, y de los autoinjertos fue del 93.7%; y en la estación de Tenerife la adaptación de los injertos fue del 51.5% , y de los autoinjertos del 100%. La Tabla 3-10 muestra la tasa de supervivencia de los injertos de *P. albicarminus*, sobre cada tratamiento en las estaciones de regeneración. La Tabla 3-11 muestra la tasa de supervivencia de los autoinjertos (testigos) en las estaciones de regeneración.

Tabla 3-10: Tasa de supervivencia de los injertos de *P. albicarminus* por tratamiento en las estaciones de regeneración Corrales y Tenerife.

Injertos de <i>P. albicarminus</i> sobre:	% adaptación por tratamiento - estación Corrales	% promedio adaptación - estación Corrales	% adaptación por tratamiento - estación Tenerife	% promedio adaptación - estación Tenerife
<i>P. vulgaris</i> - G653 (T1)	100	77.2 %	66.6	51.5%
<i>P. lunatus</i> - G25802 (T4)	100		0	
<i>P. coccineus</i> - G36321 (T5)	0		0	
<i>P. coccineus</i> - G36346 (T6)	100		100	
<i>P. dumosus</i> - G36341 (T8)	100		0	
<i>P. coccineus</i> - G35170 (T9)	100		100	
<i>P. vulgaris</i> - G24727 (T12)	0		0	
<i>P. dumosus</i> - Escape TEN (T13)	100		100	
<i>P. lunatus</i> - G27462 (T14)	50		0	
<i>P. vulgaris</i> - G6573 (T15)	100		100	
<i>P. dumosus</i> - G35684 (T16)	100		100	

Tabla 3-11: Tasa de supervivencia de los autoinjertos (testigos) en las estaciones de regeneración Corrales y Tenerife.

Autoinjertos Testigos	% de adaptación - estación Corrales	% promedio de adaptación - estación Corrales	% de adaptación - estación Tenerife	% promedio de adaptación - estación Tenerife
<i>P. lunatus</i> - G25802 (T4)	100	93.7 %	100	100 %
<i>P. coccineus</i> - G36321 (T5)	100		100	
<i>P. coccineus</i> - G36346 (T6)	100		100	
<i>P. coccineus</i> - G35155 (T7)	50		100	
<i>P. dumosus</i> - G36341 (T8)	100		100	
<i>P. coccineus</i> - G35170 (T9)	100		100	
<i>P. coccineus</i> - G36378 (T11)	100		100	
<i>P. lunatus</i> - G27462 (T14)	100		100	

Los tratamientos T6, T9, T13, T15 y T16, se adaptan 100% a las condiciones de las estaciones, donde sobresalen los tratamientos T9 (Figura 3-11), T13 (Figura 3-12), y el T15 (Figura 3-13), por su vigor, crecimiento acelerado y porque se adaptaron en ambas estaciones.

Los testigos (autoinjertos) de los tratamientos T4, T5, T6, T8, T9, T11 y T14, se adaptan 100% a las condiciones de campo. Los más sobresalientes son los autoinjertos de los tratamientos T9 (Figura 3-14) y T14 (Figura 3-15), ya que lograron florecer y formar frutos antes de los 60 DDTE.

Figura 3-11: Adaptación a las estaciones de regeneración, del injerto de *P. albicarminus* sobre *P. coccineus* (G35170) –tratamiento T9.



Nota. **a:** Estación Corrales; **b:** Estación Tenerife

Figura 3-12: Adaptación a las estaciones de regeneración, del injerto de *P. albicarminus* sobre *P. dumosus* (escape TEN) –tratamiento T13.



Nota. a: Estación Corrales; b: Estación Tenerife

Figura 3-13: Adaptación a las estaciones de regeneración, del injerto de *P. albicarminus* sobre *P. vulgaris* (G6573) –tratamiento T15.



Nota. **a:** Estación Corrales; **b:** Estación Tenerife

Figura 3-14: Adaptación a las estaciones de regeneración, del autoinjerto *P. coccineus* (G35170) –testigo tratamiento T9.



Nota. **a:** Estación Corrales; **b:** Estación Tenerife

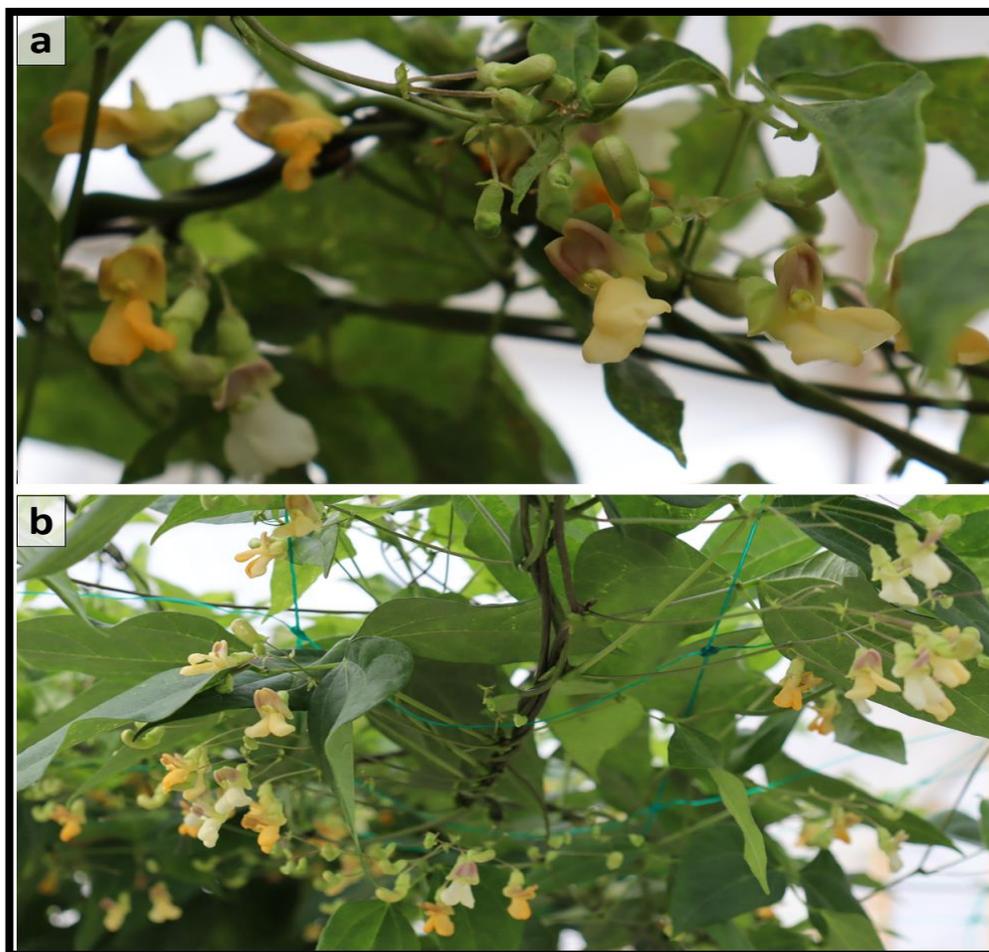
Figura 3-15: Adaptación a las estaciones de regeneración, del autoinjerto *P. lunatus* (G27462) –testigo tratamiento T14.



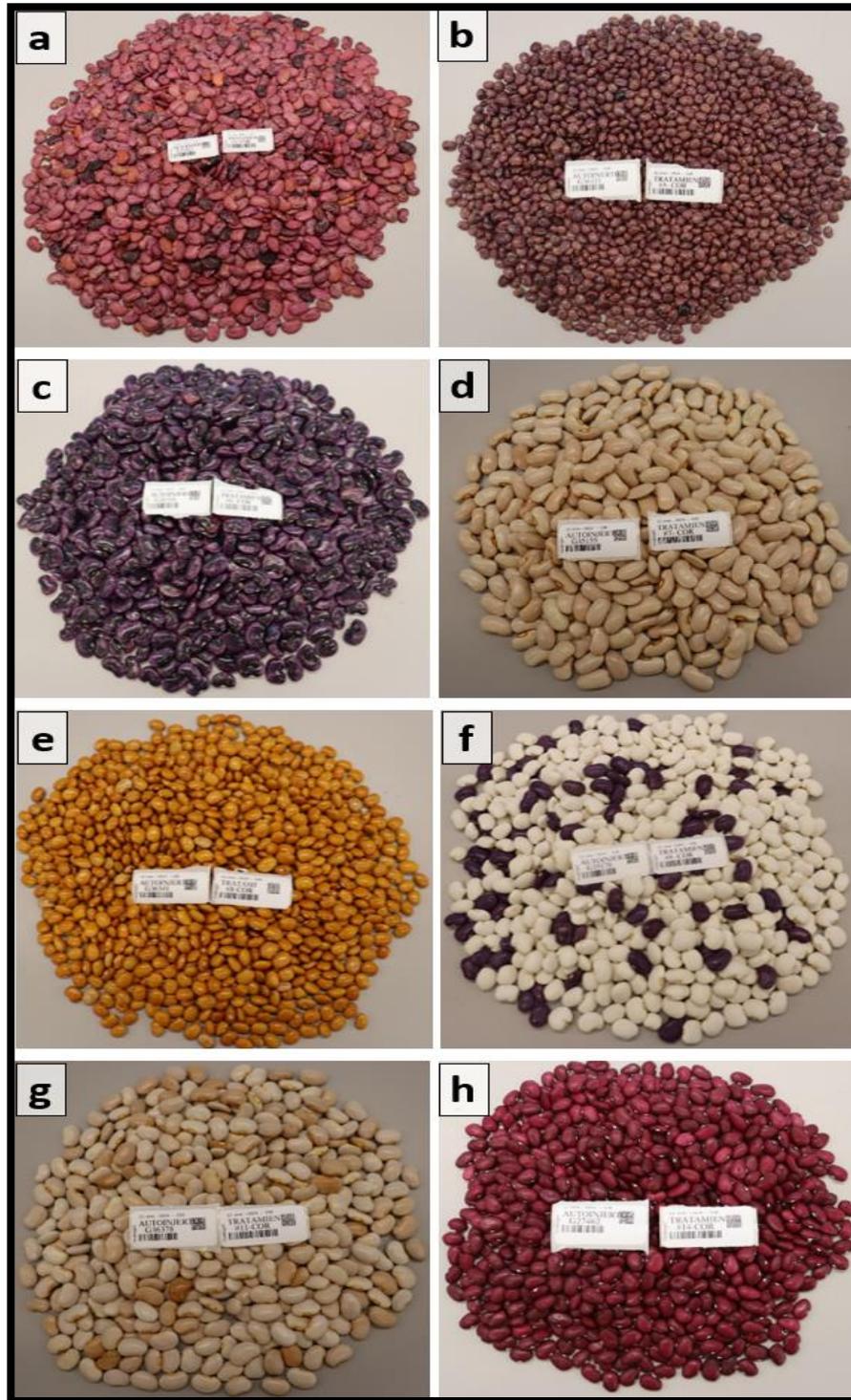
Nota. **a:** Estación Corrales; **b:** Estación Tenerife

Un año después del trasplante los injertos de *P. albicarminus* a las estaciones de regeneración, la tasa de supervivencia es del 100%. La floración de *P. albicarminus* ha sido abundante y constante principalmente en la estación de Corrales, sobre portainjertos como *P. coccineus*, *P. dumosus* y *P. vulgaris* (Figura 3-16), pero hasta el momento si ninguna fructificación. Los autoinjertos (testigos) un año después del trasplante a las estaciones de regeneración, también presentan una tasa de supervivencia del 100%, donde algunos autoinjertos han logrado producir semillas en la estación de Corrales (Figura 3-17) y en la estación de Tenerife (Figura 3-18). Estos autoinjertos a la fecha (enero de 2024) continúan produciendo, en la Tabla 3-12 se indica cantidad de semillas (unidades) producidas por los autoinjertos, en las estaciones de Corrales y Tenerife hasta el 15 de enero 2024.

Figura 3-16: Floración de los injertos de *P. albicarminus* 365 DDTE de Corrales, sobre dos portainjertos.



Nota. **a:** *P. coccineus* (G35170); **b:** *P. vulgaris* (G6573)

Figura 3-17: Semilla producida por los autoinjertos en la estación de Corrales.

Nota. **a:** *P. lunatus* - G25802 (testigo T4); **b:** *P. coccineus* - G36321 (testigo T5); **c:** *P. coccineus* - G36346 (testigo T6); **d:** *P. coccineus* - G35155 (testigo T7); **e:** *P. dumosus* - G36341 (testigo T8); **f:** *P. coccineus* - G35170 (testigo T9); **g:** *P. coccineus* - G36378 (testigo T11); **h:** *P. lunatus* - G27462 (testigo T14).

Figura 3-18: Semilla producida por los autoinjertos en la estación de Tenerife.



Nota. **a:** *P. coccineus* - G36346 (testigo T6); ; **b:** *P. coccineus* - G35155 (testigo T7); **c:** *P. dumosus* - G36341 (testigo T8); **d:** *P. coccineus* - G35170 (testigo T9); **e:** *P. lunatus* - G27462 (testigo T14).

Tabla 3-12: Semilla producida por los testigos en las estaciones de Corrales y Tenerife al 15 enero 2024

Autoinjertos (testigos)	DDI - DDTE	Semillas producidas (unidades) en la estación de Corrales	Semillas producidas (unidades) en la estación de Tenerife	Semilla total
<i>P. lunatus</i> -G25802 (T4)	411 - 365	2774	2	2776
<i>P. coccineus</i> -G36321 (T5)		3225	0	3225
<i>P. coccineus</i> -G36346 (T6)		1046	28	1074
<i>P. coccineus</i> -G35155 (T7)		322	125	447
<i>P. dumosus</i> -G36341 (T8)		3079	36	3115
<i>P. coccineus</i> -G35170 (T9)		1101	94	1195
<i>P. coccineus</i> -G36378 (T11)		809	0	809
<i>P. lunatus</i> -G27462 (T14)		832	47	879

En la segunda parte de la investigación los alcances más relevantes fueron:

1. Validar que la metodología de injerto estandarizada es útil para establecer la accesión G40901 - *P. albicarminus*, en las estaciones de Corrales y Tenerife.
2. Se logró establecer 23 plantas nuevas (injertos) de *P. albicarminus* (13 en la E. Corrales + 10 en la E. Tenerife).
3. Se identificaron tres portainjertos (1 *P. coccineus* + 1 *P. dumosus* + 1 *P. vulgaris*), compatibles que permiten la propagación eficaz de *P. albicarminus*.
4. Se observó compatibilidad de tejidos entre especies de distintas secciones del género *Phaseolus*.
5. Los autoinjertos (testigos) de 8 tratamientos lograron la producción de semillas, demostrando que esta técnica es viable para este fin y para la regeneración de germoplasma.

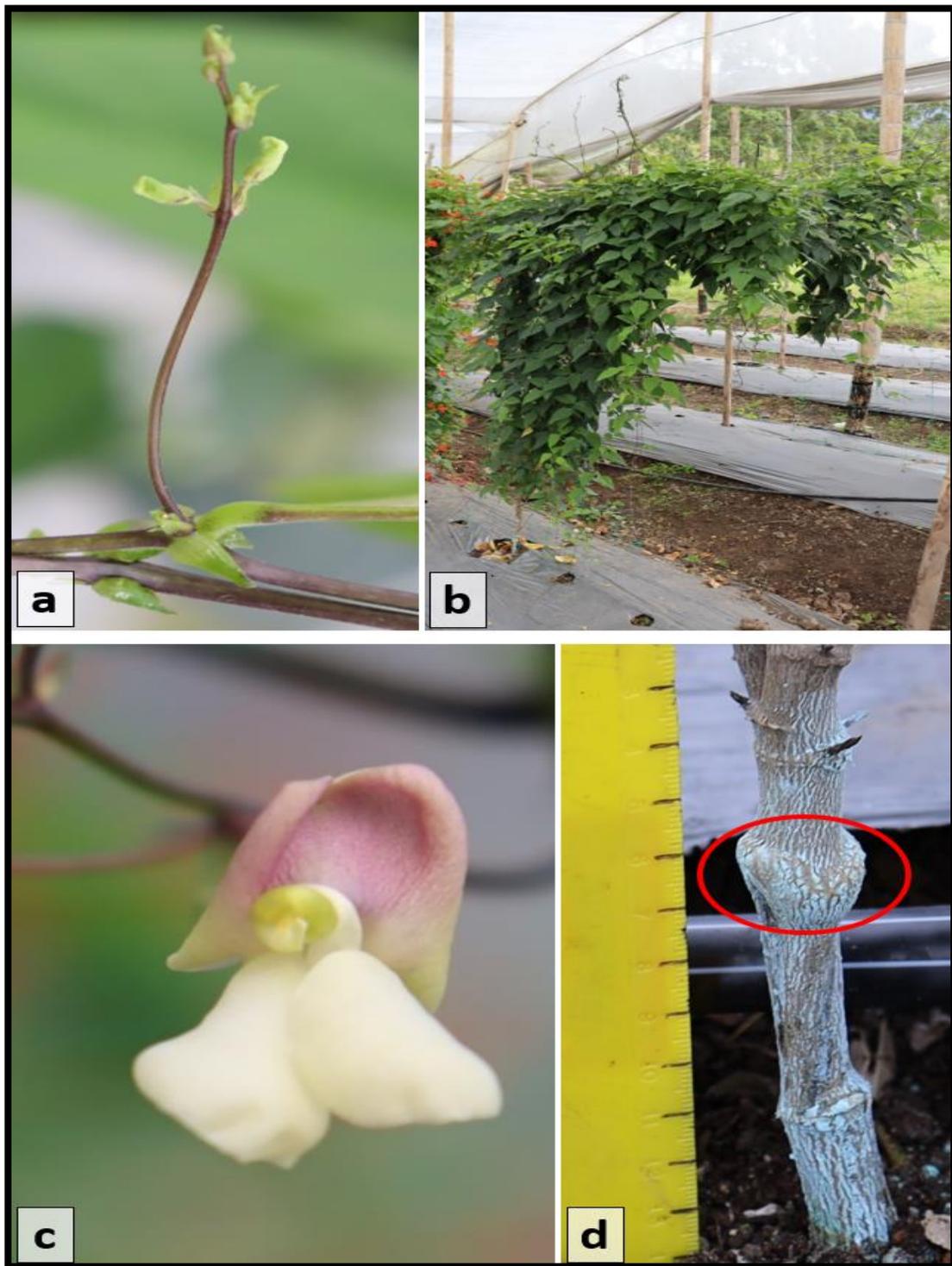
3.3 Producción de semillas de *P. albicarminus* en las estaciones de regeneración Corrales y Tenerife

Se estableció una parcela (15 plantas) de *P. albicarminus* en las estaciones experimentales de Corrales y Tenerife; utilizando los tres portainjertos que presentaron mejor adaptación al campo, por su vigor, crecimiento acelerado y porque se adaptaron en ambas estaciones: *P. coccineus* (G35170) –tratamiento T9; *P. dumosus* (escape TEN) –tratamiento T13 y *P. vulgaris* (G6573) –tratamiento T15. La tasa de supervivencia de los injertos fue del 100% en las dos estaciones de regeneración, pero con mayor vigor en la estación de Corrales.

La floración de los injertos de *P. albicarminus* en la estación de Corrales sobre el tratamiento T9 fue a los 144 DDI – 98 DDTE (Figura 3-19); los injertos de *P. albicarminus* sobre el tratamiento T13 florecieron a los 146 DDI – 100 DDTE (Figura 3-20); y la floración de los injertos de *P. albicarminus* sobre el tratamiento T15 fue a los 125 DDI – 79 DDTE (Figura 3-21). Los días a floración reportados por el PRG para *P. albicarminus* en la plataforma de Genesys (<https://www.genesys-pgr.org/10.18730/K56FX>) son 205 días. Comparando esto con los días a floración obtenidos de los tres portainjertos; se logró reducir este proceso en 61 días usando como portainjerto el tratamiento T9 *P. coccineus* (G35170); se redujo 59 días con el tratamiento T13 *P. dumosus* (escape) que se encuentra naturalmente en las zonas de Tenerife y Carrizal; y con el tratamiento T15 *P. vulgaris* (G6573) de portainjerto se redujo en 80 días la floración de *P. albicarminus*. Ninguno de los tratamientos alteró el hábito de crecimiento de *P. albicarminus*.

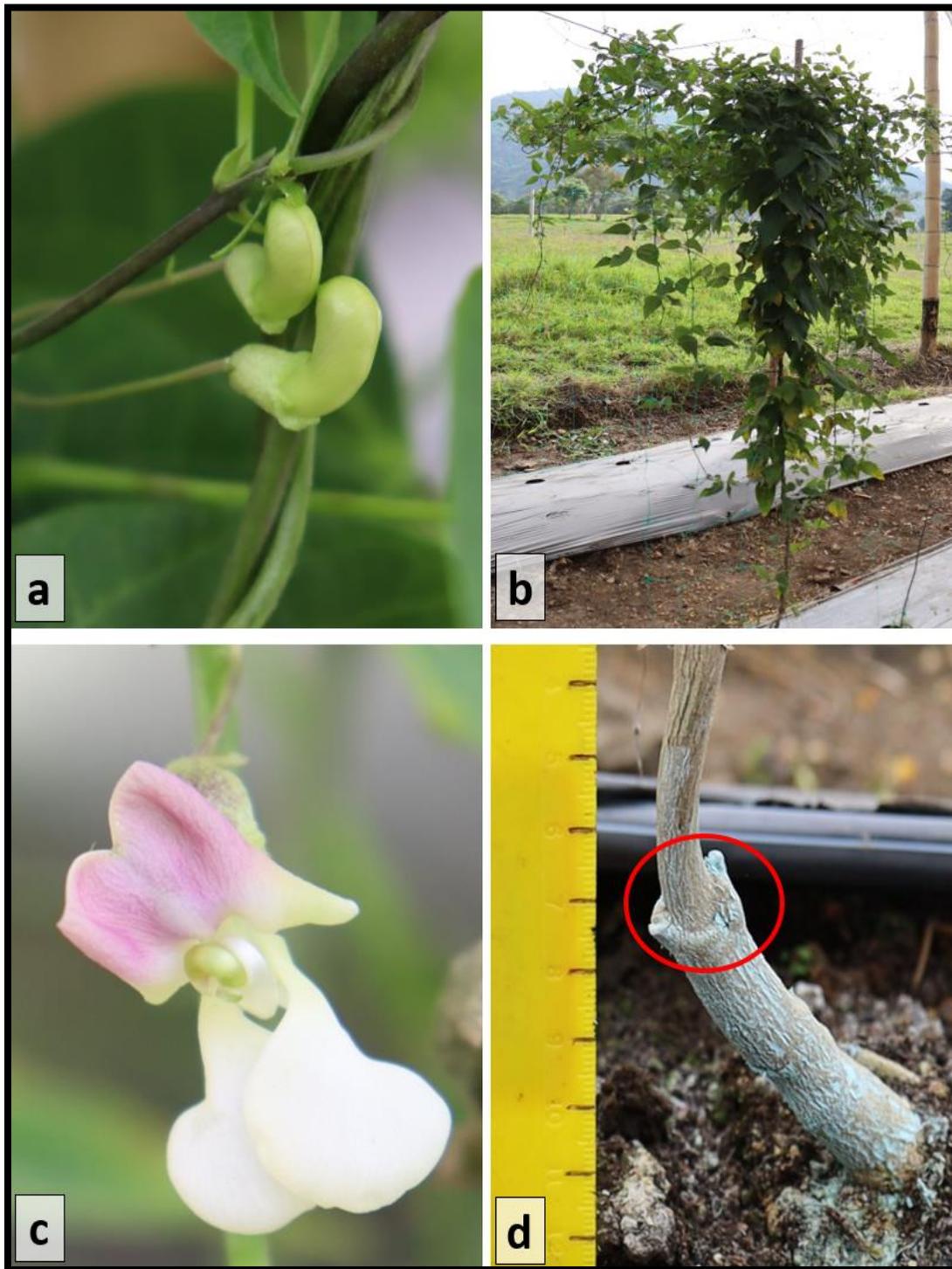
En la estación de Corrales la floración fue precoz y abundante, lamentablemente la polinización manual no ha sido exitosa y la formación de frutos ha sido nula, tal vez porque requiere un polinizador muy específico. En la estación de Tenerife la floración fue más demorada y en menor cantidad, a pesar de esto en el 2021 se produjeron dos semillas de *P. albicarminus* y en el 2023 otras cinco, mediante un injerto trasladado durante el periodo de entrenamiento del injertador.

Figura 3-19: Floración y hábito de crecimiento del injerto de *P. albicarminus* sobre *P. coccineus* (G35170) –tratamiento 9.



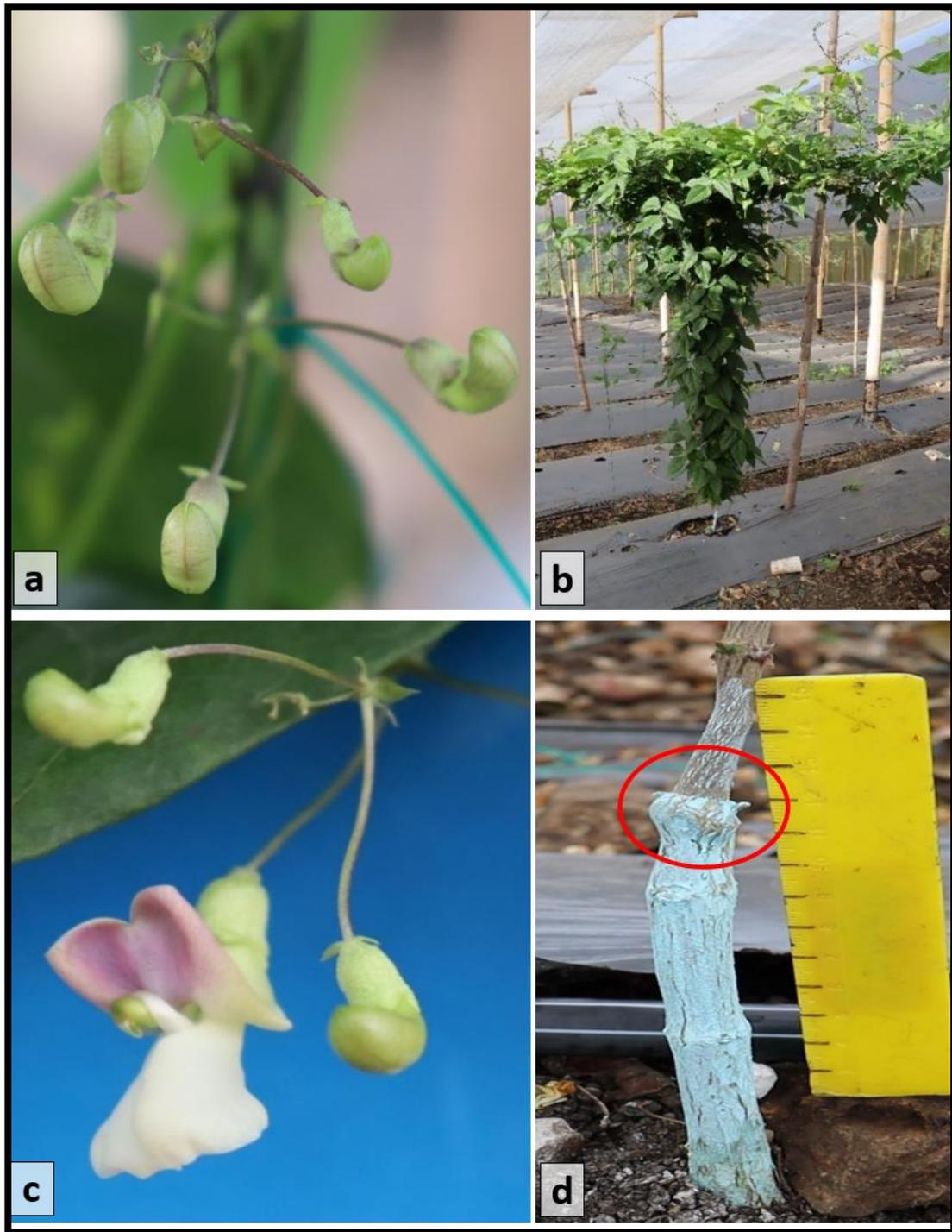
Nota. **a:** formación de botones florales, 133 DDI – 87 DDTE; **b:** vista general de la planta, el hábito de crecimiento es trepador indeterminado; **c:** primeras flores abiertas, 144 DDI – 99 DDTE **d:** punto de unión del injerto a los 152 DDI – 106 DDTE.

Figura 3-20: Floración y hábito de crecimiento del injerto de *P. albicarminus* sobre *P. dumosus* (escape TEN) –tratamiento 13.



Nota. **a:** formación de botones florales, 135 DDI – 89 DDTE; **b:** vista general de la planta, el hábito de crecimiento es trepador indeterminado; **c:** primeras flores abiertas, 146 DDI – 101 DDTE; **d:** punto de unión del injerto a los 152 DDI – 106 DDTE.

Figura 3-21: Floración y hábito de crecimiento del injerto de *P. albicarminus* sobre *P. vulgaris* (G6573) –tratamiento 15.



Nota. **a:** formación de botones florales, 113 DDI – 67 DDTE; **b:** vista general de la planta, el hábito de crecimiento es trepador indeterminado; **c:** primeras flores abiertas, 125 DDI – 79 DDTE; **d:** punto de unión del injerto a los 147 DDI – 101 DDTE.

En la parte final de la investigación se logró demostrar que mediante los injertos se puede:

1. Producir semillas de especies de *Phaseolus* conservadas en el banco de germoplasma del CIAT, que se encuentran en un estado crítico como el caso de *P. albicarminus* (G40901).
2. Acortar los días de floración de *P. albicarminus*, y aumentar la cantidad de flores, utilizando diversos portainjertos.
3. Disminuir la susceptibilidad de *P. albicarminus* al ataque de nematodos y hongos, utilizando portainjertos de un sistema radicular robusto y/o adaptados a las condiciones de las estaciones de regeneración.
4. Aumentar la cantidad de plantas de *P. albicarminus* y establecer parcelas en las estaciones experimentales de regeneración, para identificar cual es la más conveniente para la producción de semillas.

Adicionalmente, se validó que los tres portainjertos identificados: *P. coccineus* (G35170) – tratamiento T9; *P. dumosus* (escape TEN) – tratamiento T13 y *P. vulgaris* (G6573) – tratamiento T15, son compatibles con *P. albicarminus* (G40901) y permiten una propagación masiva y eficaz de esta accesión.

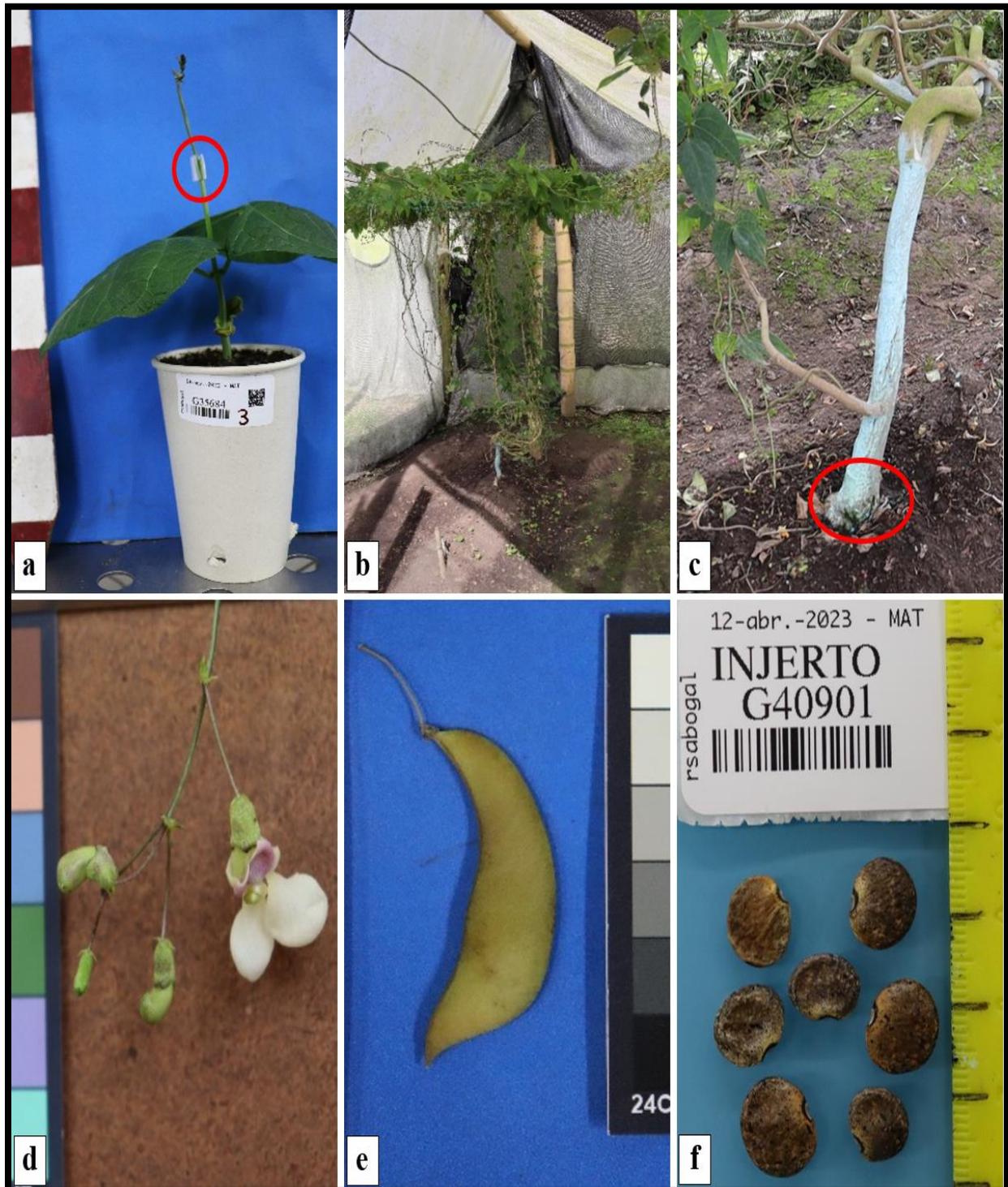
Los resultados obtenidos de esta investigación son ganancia para el PRG, que tiene para multiplicar una lista de accesiones con pocas semillas. Con *P. albicarminus*, se comprobó que la propagación asexual es de gran utilidad para la multiplicación de plantas, pero también de semillas. Inicialmente se contaba con 3 plantas de *P. albicarminus* como colección viva en las cámaras de crecimiento del campus; y 1 semilla en su inventario. Finalmente se establecieron 57 plantas nuevas mediante la propagación asexual: 2 acodos + 2 esqueje + 53 injertos; para un total de 60 plantas de *P. albicarminus* distribuidas en las estaciones de regeneración (Tabla 3 -13).

Tabla 3-13: Plantas de *P. albicarminus* establecidas en estaciones experimentales

Estación experimental de regeneración:	Plantas iniciales (2019)	Plantas establecidas (2023)	Total
Cámaras de crecimiento	3	13 injertos	16
Corrales (1850 msnm)	0	1 acodo + 1 esqueje + 22 injertos	24
Tenerife (2200 msnm)	0	1 acodo + 1 esqueje + 18 injertos	20
Total		60	

Los injertos permitieron establecer plantas de *P. albicarminus* sin mayor dificultad en las estaciones de Corrales y Tenerife; además presentaron buena adaptación en ambas estaciones. Aunque en la estación de Corrales se obtuvo una floración más rápida y abundante. Probablemente el logro más relevante o significativo de esta investigación, es **la producción de 7 semillas de *P. albicarminus*, mediante un injerto sobre *P. dumosus* (G35684)**, que se sembró en la estación de Tenerife durante el periodo de entrenamiento del injertador (Figura 3 -22). La floración inició a los 270 DDI y la primera cosecha fue a los 360 DDI. Hasta el momento los acodos y esquejes de *P. albicarminus* no han florecido, y les cuesta adaptarse a los suelos de las estaciones experimentales.

Figura 3-22: Injerto de *P. albicarminus* sobre *P. dumosus* que produjo 7 semillas.



Nota. **a:** momento de realización del injerto; **b:** trasplante a la E. de Tenerife; **c:** punto de unión 1 año DDI; **d:** floración a los 270 DDI; **e:** fruto en madurez fisiológica a los 360 DDI; **f:** semillas producidas.

Parte de los resultados de esta investigación se divulgaron en diferentes foros científicos mediante pósteres y ponencias orales cortas, que se mencionan a continuación:

1. Un póster titulado “**Progress in seed production of *Phaseolus albicarminus* Debouck & N. Chaves, by use of grafting**”, (se puede consultar en: <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/116913>); y una ponencia oral titulada “**Avances en la producción de semillas de *Phaseolus albicarminus* Debouck y N. Chaves, mediante injerto**”, (se puede consultar en: <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/116906>). Se presentaron en el XIII Simposio Internacional de Recursos Genéticos de América y el Caribe – SIRGEAC, Colombia - diciembre 2021 (Anexos H).
2. Un póster titulado “**Produciendo germoplasma de frijol mediante injertos**”, (se puede consultar en: <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/125689>). Se presentó en el XI Congreso Colombiano de Botánica, Colombia - noviembre 2022 (Anexos I).
3. Una ponencia titulada “**Propagación asexual de *Phaseolus albicarminus* Debouck & N. Chaves (*Papilionoideae Phaseoleae*), bajo condiciones controladas**”, (se puede consultar en: <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/131632>); presentada en la mesa de *Leguminosas* del Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales – PCCMCA, Guatemala - junio 2023. (Anexo J).
4. Dos pósteres, uno titulado “**Propagation of *Phaseolus albicarminus* Debouck & N. Chaves, by layering, cuttings, and grafting**”, (se puede consultar en: <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/135843>); y el otro titulado “**Evaluation of rootstocks for the multiplication of *Phaseolus albicarminus* Debouck & N. Chaves**”, (se puede consultar en: <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/135853>). Presentados en el XIV Simposio Internacional de Recursos Genéticos de América y el Caribe – SIRGEAC, Chile - diciembre 2023. (Anexos K) y cantidad total de semillas.

4. Discusión

En la estandarización de las técnicas asexuales para propagar plantas y aumentar las semillas de *P. albicarminus* (G40901), fue necesario entrenar y practicar por un periodo de dos años (2019-2020), los métodos de propagación vegetativa como los acodos, esquejes y especialmente la técnica del injerto. Con esto fue posible establecer algunos injertos de *P. albicarminus* en la estación de Tenerife; uno de estos injertos logró producir las primeras 2 semillas en el año 2021 y 5 semillas más en el 2023. También se entrenó y se practicó el injerto con otras especies como *P. chiapasanus* (G40790), *P. albiflorus* (G40572) y un híbrido de *P. vulgaris* x *P. dumosus* (G36387); los cuales lograron producir semillas. En este estudio se propagó (asexualmente) con éxito la accesión G40901 de *P. albicarminus*.

Se determinó que el injerto ofrece mayores ventajas para propagar esta accesión en comparación con los esquejes y los acodos y mediante injerto se produjeron siete semillas de esta accesión. Se identificaron tres portainjertos compatibles para la propagación de *P. albicarminus*. Esto permitió establecer plantas de *P. albicarminus* en la estación de Corrales y en la estación de Tenerife, para comprobar cuál de las estaciones de regeneración es la más favorable para el aumento de semillas de esta especie. Mediante la propagación asexual se establecieron 57 plantas nuevas de *P. albicarminus*: 2 acodos + 2 esqueje + 53 injertos, distribuidas en las estaciones de regeneración y las cámaras de crecimiento. Los injertos presentaron buena adaptación en ambas estaciones y aunque en la estación de Corrales se obtuvo una floración más rápida y abundante; fue en la estación de Tenerife que uno de los injertos de *P. albicarminus* sobre un *P. dumosus* (G35684) logró producir semillas de *P. albicarminus*. Es decir que los injertos también son una alternativa que el equipo de regeneración del PRG puede utilizar; para obtener más plantas de materiales críticos y así aumentar los chances de obtener más semillas.

Para el frijol silvestre *P. albicarminus* (G40901), la tasa de éxito de la propagación por injerto (75%) fue superior en comparación con las tasas de éxito de la propagación por acodos y esquejes (Tabla 3-3), tanto para el establecimiento de plantas como para la producción de semillas. Resultados similares, presentaron Gurusamy et al., (2010), donde compararon esquejes e injertos para el aumento de semillas de frijol común, y concluyeron que los injertos con una tasa de éxito del 78%, eran superiores a los esquejes en cuanto a perpetuación y multiplicación. Algunos injertos de *P. albicarminus* empezaron a crecer 15 días después de injertado, en los acodos y esquejes de *P. albicarminus* el crecimiento empezó posterior a los 37 días. Otra ventaja de los injertos es que se puede establecer una mayor cantidad de plantas y en menos tiempo, debido a que los injertos se establecen a partir de vástagos con 1 nudo, mientras los esquejes requieren al menos 2 nudos (Gurusamy et al., 2010). Los acodos requieren el doble de los esquejes, es decir mínimo 4 nudos.

La formación de estructuras totalmente nuevas como las raíces adventicias de un acodo o esqueje es un proceso costoso para planta y que toma tiempo porque intervienen aproximadamente 10 factores (Dirección de Escuelas Agrarias - MINAGRO, 2008; Rojas González et al., 2004). En el proceso curativo de un injerto intervienen aproximadamente 5 factores (Gallego Acuña, 2022; Rojas González et al., 2004). Esta es una posible explicación de porque la tasa de éxito de los injertos es mayor que la tasa de éxito de los acodos y esquejes. Otra consideración es, cuando el material a propagar es muy susceptible a hongos responsables de pudriciones radiculares o a nematodos u otro problema del suelo, la multiplicación por acodo y/o esqueje pese a su facilidad no sería la más adecuada. Sin embargo, vale la pena resaltar que hay especies como *P. costaricensis*, *P. lignosus* y *P. hygrophilus* que responden bien a la multiplicación por acodo y esqueje. Una solución alterna a los injertos puede ser a través de medios hidropónicos que permiten un control de estos problemas del suelo.

Estudios recientes reportaron tasas de éxito del 100% en injertos de *P. vulgaris* sobre otro *P. vulgaris*, estos produjeron 2,5 veces más semillas que las plantas control (Vougeleka et al., 2023). Según Bernal Alzate et al., (2016), los injertos de *P. vulgaris* sobre *P. coccineus* con una tasa de éxito del 52 %, indican una mejora en el rendimiento en un 100% en comparación con su variedad sin injertar.

La tasa de éxito reportada para injertos de *P. vulgaris*, *P. acutifolius* y *P. angustissimus* sobre portainjertos de *P. vulgaris* y *P. coccineus* fue del 87% y 70 % respectivamente, en este caso el injerto aumentó el número de semillas obtenidas por planta en un 66% en comparación con los esquejes y en un 91% en comparación con plantas no injertadas. (Gurusamy et al., 2010). Otras investigaciones indican una tasa de éxito del 40% para injertos de *P. acutifolius* sobre *P. vulgaris* y viceversa (Sharkoff y Brick, 1990; Sanders y Markhart, 1992). En esta investigación se injertó exitosamente *P. albicarminus* sobre *P. coccineus*, *P. dumosus*, *P. lunatus* y *P. vulgaris*. En los portainjertos como *P. dumosus* y *P. vulgaris* la tasa de éxito fue del 100%.

Con la experiencia ganada se injertaron *P. albiflorus*, *P. chiapasanus* y un híbrido de *P. vulgaris* x *P. dumosus* sobre *P. dumosus* y *P. coccineus*. El punto que se busca resaltar es que al parecer no hay incompatibilidad entre especies dentro de *Phaseolus sensu stricto*, se han realizado injertos entre diferentes secciones del género. Un buen ejemplo es el injerto de *P. chiapasanus* (G40790) injertado sobre *P. dumosus* (G35684), son especies pertenecientes a *clades* distintos y se separaron hace 4 millones de años; lo que nos indica que hay compatibilidad de tejidos pese al distanciamiento filogenético. Quedando abierta la posibilidad de injertar cualquier especie de frijol, incluso probar portainjertos de otro género que den un 100% de prendimiento; por ejemplo, con *Canavalia* y/o *Lablab*. Hay investigadores que lograron injertar exitosamente frijol común con otro género de *leguminosa*. Por ejemplo, Abd-Alla, M.H. (2011) y Hamaguchi et al., (1993), lograron injertar exitosamente Soja (*Glycine max*) sobre frijol común (*P. vulgaris*). Por otra parte, Umeya e Imai (1963), injertaron *P. vulgaris* sobre *P. radiatus* (actualmente *Vigna radiata*) y viceversa, con una tasa de éxito del 20%, donde los injertos florecieron y dieron frutos. Estos resultados vale la pena validarlos ya que Vougeleka et al., (2023), mencionan que el frijol caupí (*Vigna unguiculata*) es un portainjerto incompatible para injertar *P. vulgaris*.

Los usos de los injertos son variables en la horticultura y dependen de combinaciones exitosas entre diferentes especies o genotipos (Feng et al., 2024). Frente a esto, se conocen dos hipótesis: 1) entre más estrecha sea la relación de las especies, mayor será el éxito del injerto; y 2) la anatomía vascular en la unión del injerto influye en el éxito del injerto (Wulf et al., 2020). En injertos con frijol la compatibilidad reducida puede deberse a diferencias en la forma de la sección transversal del vástago, lo que posiblemente dé como resultado patrones vasculares no coincidentes (Gurusamy et al., 2010) .

En algunos casos, los injertos de *P. vulgaris* fracasaron porque los genotipos del portainjerto y del vástago diferían fenotípicamente en los diámetros de sus tallos, lo que impidió la compatibilidad vascular (Vougeleka et al., 2023).

La relación estrecha de injertos con leguminosas filogenéticamente cercanas y distantes no fue un buen predictor de la compatibilidad del injerto, ya que la reconexión vascular puede ocurrir entre especies distantes y puede no ocurrir entre especies más relacionadas (Wulf et al., 2020). Hasta hace poco, se creía que injertar plantas monocotiledóneas era imposible porque carecen de cambium vascular y que la compatibilidad de injertos entre diferentes combinaciones de vástago/portainjerto estaba restringida a genotipos estrechamente relacionados (Loupit et al., 2023). Se ha trabajado mucho para identificar procesos relacionados con la incompatibilidad del injerto en diferentes combinaciones de plantas, pero es pertinente seguir investigando para comprender cuales son síntomas del fracaso del injerto y las causas de la incompatibilidad (Feng et al., 2024).

La tasa de supervivencia de los injertos se ve afectada por factores internos, como la afinidad del injerto y la calidad del portainjerto y del vástago, pero también por factores externos, como las técnicas de injerto y las condiciones ambientales; es fundamental el control del microclima de las plantas injertadas, para asegurar una buena cicatrización y aclimatación de los injertos, (Nie & Wen, 2023; Yousef et al., 2021). En esta investigación los injertos se realizaron en cámaras de crecimiento que permiten tener condiciones controladas en cuestión de temperatura, humedad relativa, intensidad de luz y fotoperiodo. Se considera que lo anterior, sumado a la práctica y la técnica del injertador fueron variables claves para aumentar la tasa de éxito de los injertos de *P. albicarminus*.

Los portainjertos generan importantes y diversos efectos, principalmente sobre el crecimiento de las plantas, la comunidad microbiana del suelo de la rizosfera y los factores ambientales del suelo (Tang et al., 2024). Mediante portainjertos se logró cambiar el sistema radicular de *P. albicarminus*, esto fue muy beneficioso para esta especie desde varios puntos de vista: 1) se logró aumentar la cantidad de plantas de *P. albicarminus*; 2) las plantas se llevaron a las diferentes estaciones de regeneración, esto a su vez sirvió para determinar cuál estación es la indicada para producir semillas de esta especie; 3) se mitigó la susceptibilidad de *P. albicarminus* al ataque de nemátodos y *Macrophomina*,

utilizando portainjertos compatibles de sistema radicular fuerte y adaptados a las condiciones de las estaciones de regeneración; 4) se logró reducir los días a floración de *P. albicarminus* utilizando portainjertos de ciclo corto y precoces para florecer.

Parte de esta investigación se enfocó en evaluar portainjertos para la propagación de *P. albicarminus*, se identificaron 3 especies: *P. coccineus* (G35170), *P. dumosus* (escape) y *P. vulgaris* (G6573) que cumplen con este propósito. Durante la investigación se estuvo muy pendiente de la influencia de los portainjertos sobre *P. albicarminus*.

Se observó precocidad en la floración de *P. albicarminus* sobre el portainjerto *P. Vulgaris* (G6573), la floración fue abundante y se dio a los 125DDI – 79 DDTE, este proceso se redujo 80 días comparado con los días a floración reportados por el PRG para *P. albicarminus* en la plataforma de Genesys. Resultados similares obtuvieron Gurusamy et al., (2010) con injertos de *P. vulgaris* sobre *P. vulgaris* que florecieron a los 18 días comparados con los esquejes que florecieron a los 30 días y los controles a los 40 días. En investigaciones con yuca, mediante injertos se aumentó la producción de flores masculinas en 201%, de flores femeninas en 560% y de frutos en 400% (Silva Souza et al., 2018). En tabaco, te y tomate los injertos indujeron una floración extremadamente temprana (Karunakaran & Ilango R, 2020; Lifschitz et al., 2006). En cucurbitáceas los injertos son un poderoso método que permite la transmisión de un estímulo floral a través del floema (Lin et al., 2007).

El portainjerto *P. dumosus* (escape), es una especie que se distribuye amplia y naturalmente en los Andes colombianos (Schmit & Debouck 1991). También tiene la ventaja que es tolerante a muchas enfermedades fúngicas, a la antracnosis y la mancha foliar angular. Esto ayudo a que las plantas establecidas de *P. albicarminus* sobre este portainjerto se adaptaran en ambas estaciones y la tasa de supervivencia después de un año de trasplante a la estación es del 100%. Un punto a favor del portainjerto *P. dumosus* (escape), es que la semilla se puede conseguir a bajo costo cosechando plantas que producen naturalmente en zonas cercanas a las estaciones de regeneración de Corrales y Tenerife; sin tener que sacrificar semillas producidas por el banco donde el costo de producción es elevado. *P. dumosus* ha sido utilizado como portainjerto por el equipo de regeneración, y se han injertado exitosamente especies como: *P. hygrophilus*, *P. chiapassanus*, *P. vulgaris* y *P. albicarminus*.

Hasta el momento no se desconocen otros casos donde hayan utilizado a *P. dumosus* como portainjerto, por lo que es necesario continuar probando las bondades de *P. dumosus* como portainjerto. Un injerto de *P. albicarminus* sobre un *P. dumosus* fue el que permitió la producción de las primeras semillas de *P. albicarminus* bajo esta metodología.

El portainjerto *P. coccineus* (G35170), posee varios rasgos agronómicos y de resistencia a enfermedades como tolerancia al acame debido a las bases gruesas del tallo, tolerancia al frío, presencia de un sistema de raíces tuberosas que permite un ciclo perenne (Santalla et al., 2004). Hay Investigaciones que reportan tolerancia de *P. coccineus* a *Sclerotinia sclerotiorum* (Gilmore et al., 2002), a la ascochyta (Schmit y Baudoin, 1992), y a la pudrición de la raíz causada por *Pythium* o *Fusarium* (Dickson y Boettger, 1977). También hay evidencia que *P. coccineus* tiene un potencial alto número de vainas por inflorescencia (Vanderborght, 1983). En esta investigación los injertos de *P. albicarminus* sobre el portainjerto *P. coccineus* (G35170) se destacaron por su vigor, crecimiento acelerado, por su abundante ramificación emitida y abundante floración. Las investigaciones de Vougeleka et al., (2023); y de Bernal Alzate et al., (2016) mencionan que *P. coccineus* es un portainjerto que mejora los rendimientos del frijol común. Sin embargo, Gurusamy et al., (2010) consideran que *P. coccineus* no es un portainjerto recomendado debido a las dificultades para eliminar oportunamente los brotes hipogeos que compiten con el crecimiento de los vástagos.

Según Mudge et al., (2009), el injerto crea un sistema genético compuesto mediante la unión de dos o más genotipos y cada uno mantiene su propia identidad genética a lo largo de la vida de la planta injertada; por ejemplo, un vástago de una rosa con flores rojas injertado en una planta de rosas blancas continuará produciendo rosas rojas en lugar de rosas híbridas rosadas. Características como longitud y anchura del folíolo terminal, longitud y diámetro del pedicelo, tamaño de la planta, longitud y anchura de la vaina, longitud, anchura y grosor de la semilla; de las plantas establecidas y las semillas producidas mediante injerto de *P. albicarminus*; se compararon con el mismo material descrito en el sitio de origen en Costa Rica. Al parecer las características comparadas no se vieron alteradas y el injerto permitió un desarrollo normal de las plantas y semillas de *P. albicarminus*. La semilla producida por los autoinjertos (testigos) de *P. coccineus*, *P. dumosus*, y *P. lunatus* tampoco presento alteración con respecto a su semilla original.

Esto coincide con los resultados obtenidos por Vougeleka et al., (2023); Bernal Alzate et al., (2016) y Gurusamy et al., (2010) que han logrado la producción de semillas de *P. vulgaris*, mediante injerto.

Sin embargo, hay afirmaciones de hibridación de los injertos y nueva información sobre el silenciamiento génico provocado por la transmisión de ARN a través de la unión del injerto, donde sugieren que el injerto podría tener consecuencias genéticas (Mudge et al., 2009).

Algo muy interesante y que justifica profundizar la investigación con injertos de frijol para determinar qué cambios pueden ocurrir desde el punto de vista genético; ha sido la influencia de los vástagos de *P. albicarminus* sobre los portainjertos, principalmente sobre el *P. vulgaris* (G6573), donde algunos injertos tienen más de 1 año en campo, esto causa mucha curiosidad porque el ciclo de vida de este portainjerto es de 3 meses. Esto también sucedió con injertos entre especies de *Picea* y *Pinus*, los cuales tuvieron éxito incluso 2,5 años después del injerto (Feng et al., 2024).

La propagación asexual, en especial los injertos es una alternativa que el equipo de regeneración del banco de germoplasma del CIAT, puede utilizar como estrategia para la multiplicación de plantas de accesiones críticas. En el caso de *P. albicarminus* (G40901), fue mediante injertos que se pudo establecer parcelas de 20 plantas sin mayor dificultad en las estaciones de Corrales y Tenerife. Los injertos de *P. albicarminus* en la estación de Corrales presentaron mayor vigor y la floración fue más precoz y abundante. Sin embargo, como se mencionó anteriormente el logro más significativo de este trabajo se dio en la estación de Tenerife con la **producción de 7 semillas de *P. albicarminus*, mediante un injerto sobre *P. dumosus* (G35684) (Figura 3-22).**

5. Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

La propagación asexual es una alternativa para aumentar el número de plantas y semillas, sin gastar el stock de semillas originales de las accesiones que tienen pocas semillas y también de las colecciones vivas; esto permite comprobar cuál es la estación de regeneración más adecuada del punto de vista ecológico de las accesiones. Para la propagación de *P. albicarminus*, el injerto resultó significativamente más efectivo en comparación con los acodos y los esquejes.

Los injertos se diferencian significativamente de los acodos y esquejes; ya que hay la posibilidad de usar portainjertos adaptados a la zona ecológica y a las condiciones del suelo (patógenos) de las estaciones de regeneración. Los injertos son una alternativa para la producción de semillas de especies susceptibles a problemas o pudriciones radiculares, empleando portainjertos compatibles. El injerto de *P. albicarminus* sobre *P. dumosus* permite un normal desarrollo de la planta y la producción de semillas, convirtiéndose en una alternativa para la regeneración en los bancos de germoplasma.

Mediante los injertos, se han producido semillas de las siguientes especies: *P. albicarminus* (G40901), *P. albiflorus* (G40572), *P. chiapasanus* (G40790) y de un híbrido de *P. vulgaris* x *P. dumosus* (G36387); estos avances indican que hay compatibilidad de tejidos en diferentes especies *Phaseolus* pese al distanciamiento filogenético.

Se identificaron tres especies como portainjertos (*P. coccineus*, *P. dumosus* y *P. vulgaris*) que tienen efectos positivos sobre *P. albicarminus*, como son la precocidad en la floración y la tolerancia a patógenos del suelo. También hay un efecto de *P. albicarminus* sobre los portainjertos que es más notorio sobre el portainjerto *P. vulgaris*, ya que prolonga su ciclo de vida más de 1 año.

5.2 Recomendaciones

Realizar propagación asexual para las accesiones de *Phaseolus* que tienen pocas semillas originales disponibles o se encuentran como colección viva, teniendo en cuenta los avances obtenidos con *P. albicarminus* (G40901).

Seguir investigando y experimentando las bondades de otros portainjertos y la compatibilidad entre diferentes especies de *Phaseolus*, para producir semillas de especies críticas como *P. albicarminus*; incluso probar portainjertos de otro género que den un 100% de prendimiento.

Estudiar con detalle la biología floral de *P. albicarminus*, teniendo en cuenta que se ha obtenido abundante floración, pero poca formación de frutos, avanzando en esto se puede injertar masivamente a *P. albicarminus* en los próximos años hasta completar 2.000 semillas.

Capacitar y entrenar a todo el personal del equipo de regeneración en técnicas de propagación asexual y principalmente en injertos. También es conveniente capacitación sobre biología floral de leguminosas y polinización.

6.Anexos

A. Anexo: Registro al Momento de injertación

Registro al momento de injertación										
Tratamiento #: 7, Repetición 1										
Identificación porta injerto: ↓	Fecha de siembra portainjerto: ↓					Identificación vástago: ↓	Fecha de injertación: ↓			
<i>P. coccineus</i> (G35155) (trepador indeterminado) comprobar Hammond'S Dwarf Scarlet	19 noviembre 2022					<i>P. albicarminus</i> (G40901)	8 diciembre 2022			
Condiciones de la Camara conviron # 4										
Temperatura (max/min): ↓	Humedad relativa: ↓					Intensidad luminica μmols (max/min): ↓	Fotoperiodo (luz/oscuridad): ↓			
16°C/21°C	90 % 24 horas					200 -50	11horas/13horas			
Variables	Injerto #:									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.1. Diámetro del vástago (mm)	2.15	2	1.58	1.54	1.45	1.78	2.39	1.97	2.1	2.05
1.2. Largo del vástago (mm)	39.18	78.39	61.46	64.99	61.39	78.09	37.36	41.67	43.32	46.8
1.3. Largo yema vástago (mm)	7.05	8.44	14.7	2.31	7.77	4.72	7.79	4.03	7.55	4.65
1.4. Diámetro del portainjerto (mm)	2.6	2.35	2.63	2.32	2.64	2.67	2.56	2.54	2.37	2.7
1.5. Altura del portainjerto (mm)	192,89	220.21	124.55	168.96	160.87	220.23	171.87	193.18	142.59	177.45
1.6. Tiempo que tarda la injertación (minutos)	2.27	2.22	1.54	1.35	1.51	1.54	1.34	2.46	1.06	1.4
1.7. Registro fotográfico al injertar	1 foto	1 foto	1 foto	1 foto	1 foto	1 foto	1 foto	1 foto	1 foto	1 foto
1.8. Observaciones adicionales:	yema sin trifolio	yema sin trifolio	yema sin trifolio	yema sin trifolio	yema sin trifolio	yema sin trifolio	Autoinjerto, yema sin trifolio	Autoinjerto, yema sin trifolio	Autoinjerto, yema sin trifolio	Autoinjerto, yema sin trifolio

B. Anexo: Revisión durante los primeros 5 días después de injertado (DDI)

Revisión durante los primeros 5 días después de injertado (DDI)									
Tratamiento: 7 G35155									
Repetición: 1 y 2									
Injerto #	DDI	Parámetros actuales de la cámara					¿Se observa que el vástago esta hidratado (verde)?		Observaciones adicionales:
		Fecha	Hora	Temperatura °C	Humedad relativa (%)	Intensidad lumínica (μmols)	Si (vivo)	No (muerto)	
1	1	9 diciembre 2022	12:26	20.8	78	200	X		
2							X		
3							X		
4							X		
5							X		
6							X		
7							X		
8							X		
9							X		
10							X		

C. Anexo: Revisión a los 10 DDI

Revisión a los 10 DDI												
Tratamiento: 7 G35155												
Repetición: 1 y 2												
Injerto #	DDI	Parámetros actuales de la cámara					¿Se observa que el vástago esta hidratado (verde)?		¿Se observa desarrollo foliar?		Observaciones adicionales:	
		Fecha	Hora	Temperatura °C	Humedad relativa (%)	Intensidad lumínica (μmols)	Si (vivo)	No (muerto)	Si ¿Longitud mm?:	No		
1	10	18 diciembre 2022	11:36	19.1	86	1	X			X	tamaño yema 7.05 mm aprox.	
2							X			X	tamaño yema 8.44 mm aprox.	
3							X			X	tamaño yema 14.70 mm aprox.	
4							X			X	tamaño yema 2.31 mm aprox.	
5								X				tamaño yema 7.77 mm aprox. Se descarta día 10, se deja recuperar porta
6							X			X	tamaño yema 4.72 mm aprox.	
7							X			X	tamaño yema 7.79 mm aprox.	
8							X			X	tamaño yema 4.03 mm aprox.	
9							X			X	tamaño yema 7.55 mm aprox.	
10							X			X,	largo de vástago 51.40	tamaño yema 9.94 mm aprox. Al 18 de diciembre, revisar foto inicial

D. Anexo: Revisión a los 15 y 20 DDI

Revisión a los 15 DDI																	
Tratamiento: 7 G35155																	
Repetición: 1 y 2																	
Injerto #	DDI	Parámetros actuales de la cámara					¿Se observa que el vástago esta hidratado (verde)?		¿Se observa desarrollo foliar?		¿Hay formación de trifolios?		Observaciones adicionales:				
		Fecha	Hora	Temperatura °C	Humedad relativa (%)	Intensidad luminica (µmols)	Si (vivo)	No (muerto)	Si ¿Longitud mm?:	No	Si ¿Cuántos?	No					
1	15	23 diciembre 2022	9:02	18.9	89	ooo1	x		x		x						
2								x								Se descarta dia 15, Foto	
3							x		x, largo de vástago 63.08								
4							x		x, largo de vástago 65.030	x							
5								x									Se descarta dia 10
6							x		x								
7							x		x, largo de vástago 53.11								
8							x		x, largo de vástago 46.93								
9							x		x, largo de vástago 61.61								
10							x		x, largo de vástago 151.57						x, 1		

Revisión a los 20 DDI																		
Tratamiento: 7 G35155																		
Repetición: 1 y 2																		
Injerto #	DDI	Parámetros actuales de la cámara					¿Se observa que el vástago esta hidratado (verde)?		¿Se observa desarrollo foliar?		¿Hay formación de trifolios?		Observaciones adicionales:					
		Fecha	Hora	Temperatura °C	Humedad relativa (%)	Intensidad luminica (µmols)	Si (vivo)	No (muerto)	Si ¿Longitud mm?:	No	Si ¿Cuántos?	No						
1	20	28 diciembre 2022	11:26 AM	18.5	87	ooo1	x			x		x		Se toma foto				
2																	Se decarta dia 15, foto	
3							x		x, largo de vástago 66.65, tamaño yema 17.27									Se toma foto
4							x		x, largo de vástago 75.92, tamaño yema 18.05						x, 1			Se toma foto
5								x										Se descarta dia 10
6							x		x									Se toma foto
7							x		x, largo de vástago 75.35, tamaño yema 40.17						x, 1			Se toma foto
8							x		x, largo de vástago 55.01, tamaño yema 26.63						x, 1			Se toma foto
9							x		x, largo de vástago 68.36, tamaño yema 26.63						x, 1			Se toma foto
10							x		x, largo de vástago 340.35 tamaño yema 280.08							x, 3		

E. Anexo: Revisión a los 25 y 30 DDI

Revisión a los 25 DDI																					
Tratamiento: 7 G35155																					
Repetición: 1 y 2																					
Injerto #	DDI	Parámetros actuales de la cámara					¿Se observa que el vástago esta		¿Se observa desarrollo foliar?				¿Hay formación de		Observaciones adicionales:						
		Fecha	Hora	Temperatura °C	Humedad relativa (%)	Intensidad lumínica (μmols)	Si (vivo)	No (muerto)	Si, Longitud mm yema	# total de guías	# total de entrenudos	No	Si	No		# total trifolios					
1	25	2-3 enero 2023	1:53 PM	21.8	61	ooo2	x		7.05	39.18	1	1		x	x	0	No se ve progreso pero tampoco se seca, se toma foto, se retiran hojas cotiledonares, se reira clip				
2																				Se descarta día 15, foto	
3							x		17.3	66.65	1	1				x	x	0	No se ve progreso pero tampoco se seca, se toma foto, se retiran hojas cotiledonares, se reira clip		
4							x		62.2	120.1	1	2					x		1	se toma foto, se retiran hojas cotiledonares, se reira clip	
5							x														Se descarta día 10
6							x		4.72							1	x	x	0	No se ve progreso pero tampoco se seca, se toma foto, se retiran hojas cotiledonares, se reira clip	
7							x		307	361	3	5					x		4	se toma foto, se retiran hojas cotiledonares, se reira clip	
8							x		164	197	3	5					x		3	se toma foto, se retiran hojas cotiledonares, se reira clip	
9							x		38.3	80.24	1	1						x	1	se toma foto, se retiran hojas cotiledonares, se reira clip	
10							x		418	476	4	6					x		6	se toma foto	

Revisión a los 30 DDI																					
Tratamiento: 7 G35155																					
Repetición: 1 y 2																					
Injerto #	DDI	Parámetros actuales de la cámara					¿Se observa que el vástago esta hidratado (verde)?		¿Se observa desarrollo foliar?				¿Hay formación de		Observaciones adicionales:						
		Fecha	Hora	Temperatura °C	Humedad relativa (%)	Intensidad lumínica (μmols)	Si (vivo)	No (muerto)	Si, Longitud mm yema	# total de guías	# total de entrenudos	No	Si	No		# total trifolios					
1	30	7 enero 2023	8:20 AM	18.4	62	ooo1	x		7.05	39.2	1	1		x	x	0	No se ve progreso pero tampoco se seca, se toma foto con 1, 3 y 6				
2																				Se descarta día 15, foto	
3							x		17.3	66.7	1	1				x	x	0	No se ve progreso pero tampoco se seca, se toma foto con 1, 3 y 6		
4							x		121	179	1	3					x		3	se toma foto 4 y 9A	
5							x														Se descarta día 10
6							x		4.72							1	x	x	0	No se ve progreso pero tampoco se seca, se toma foto con 1, 3 y 6	
7							x		501	555	3	5					x		4	foto general	
8							x		329	362	3	5					x		3	foto general	
9							x		50.7	92.6	1	1						x	1	se toma foto 4 y 9A	
10							x		525	583	4	6					x		6	foto general	

F. Anexo: Revisión posterior a los 30 DDI

Revisión posterior a los 30 DDI									
Tratamiento: 7 G35155									
Repetición: 1 y 2									
Fecha	DDI	Injerto #	Longitud mm Vastago	# total de entrenudos	# total de guías	# total trifolios	Floración	Habito de crecimiento	Observaciones adicionales:
20 enero 2023	43, en este momento se trasladan a las estaciones	1							se descarta 19 enero, foto
		2							Se decarta día 15, foto
		3							se descarta 19 enero, foto
		4	452	8	7	7	no	4	se toma foto 4, 7A, 8A, 9A y 10A
		5							Se descarta día 10
		6							se descarta 19 enero, foto
		7	1090	9	4	8	posibles botones	4	se toma foto 4, 7A, 8A, 9A y 10A
		8	694	9	7	9	posibles botones	4	se toma foto 4, 7A, 8A, 9A y 10A
		9	120	4	2	3	no	4	se toma foto 4, 7A, 8A, 9A y 10A
		10	787	9	8	12	posibles botones	4	se toma foto 4, 7A, 8A, 9A y 10A

G. Anexo: Seguimiento formación de frutos y semillas

Fecha	Repetición	Tratamiento	#_Injerto	Trasladada a la estación	Color de flor	Fecha floración	Fecha inicio de cosecha	Frutos cosechados	Semilla total	Hábito crecimiento observado	Observaciones adicionales
7 junio 2023	1	T1 (G653)	3	COR	bicolor	9-May				trepador indeterminado	66.6 % de prendimiento en campo, se adapta en ambas estaciones pero con mejores estado en tenerife, 0 % auto injertos
	1	T4 (G25802)	7	COR	Morada	9-Apr				Trepador indeterminado	75% prendimiento en campo de autoinjertos, se adapta en ambas estaciones pero con mejores estado en tenerife
	1	T4 (G25802)	9	COR	Morada	9-Apr				Trepador indeterminado	
	1	T5 (G36321)	7	COR	roja-naranja	31-Mar	7-Jun	34	144	Trepador indeterminado	25% de prendimiento en campo de auto injertos, se adapta en ambas estaciones pero con mejores estado en tenerife, 0 % de albicarminus
	1	T6 (G36346)	7	TEN	roja-naranja	21-Apr				Trepador indeterminado	100 % prendimiento en campo de auto injertos, se adapta en ambas estaciones pero con mejores estado en tenerife
	2	T6 (G36346)	8	COR	roja-naranja	3-Mar-23				Trepador indeterminado	
	1	T6 (G36346)	9	TEN	Blanca	13-Mar-23				Trepador indeterminado	
	2	T6 (G36346)	10	COR	roja-naranja	31-Jan-23				Trepador indeterminado	
	1	T7 (G35155)	7	TEN	roja-naranja	15-Feb-23				Trepador indeterminado	75 % prendimiento en campo de autoinjertos, se adapta en ambas estaciones, 0 % de
	1	T7 (G35155)	9	COR	roja-naranja	23-Mar-23	30-May	1+14	2+30	Trepador indeterminado	

H. Anexo: Póster y certificado de la ponencia presentados en el XIII Simposio Internacional de Recursos Genéticos de América y el Caribe – SIRGEAC –2021



Componente

Vegetal



PROGRESS IN SEED PRODUCTION OF *Phaseolus albicarminus* Debouck & N. Chaves, BY USE OF GRAFTING

Sabogal-Carvajal, R.¹, Gereda, J.M., Mestizo, A., Ypiales, J., Santaella, M. & Debouck, D.G.
 Genetic Resources Program, Alliance Bioversity International – CIAT, 763537, Cali, Colombia. Email: ¹r.sabogal@cgiar.org

Phaseolus albicarminus is a wild bean species (Papilionaceae: Phaseoleae) kept in CIAT genebank (accession 649901) as recently described (Debouck et al. 2020) but is unavailable for further research due to lack of seeds for distribution. Originally collected in the county of Tarrazú, province of San José, Costa Rica in 2012 (Araya-Villalobos et al. 2014), the material bloomed and set seeds in the CIAT station of Santa Rosa (county of Popayán, Cauca, Colombia; coordinates: lat. N 02° 31' 02.6"; long. W 76° 38' 04.8"; elev. 1,765 masl). To increase the number of original plants for seed production, a grafting technique has been assayed. Grafting has been used successfully in beans, namely, to multiply interspecific crosses (Gurusamy et al. 2010), or to understand physiological disorders or reactions (Quiroga & Horsfield 1982, White & Castillo 1989).

Phaseolus dumosus Macfadyn, a species that is naturally distributed as a weed in the Colombian Andes (Schmit & Debouck 1991) and tolerant to many fungal diseases, as well as anthracnose and angular leaf spot, has been used as rootstock. The accession G35684 (from the county of San Cristóbal de las Casas, Chiapas, México; coord.: lat. N 16° 45' 3.92"; long. W 92° 40' 11.63"; elev. 2,113 masl) was selected because of its possible adaptation to the ecological conditions of the station of Tenerife (county of Cerro, Valle del Cauca, Colombia; coord.: lat. N 03°41'30", long. W 76°04'23", elev. 2,160 masl), into which the cultivation was planned. The seed of *P. dumosus* was planted in June 2, 2020, after rising the testa with sodium hypochlorite (2%) for 3 seconds and water. At 7 days the seedling was planted in a 1.6 liter pot filled with a mix 1:1 of humus and coconut fiber; it was placed in a growth chamber with 16 hours day-length, light intensity of 480 μ moles, and 20°C in temperature and 80% relative humidity (light period) and 14°C and 90% humidity (dark period). At 15 days, a shoot of *P. albicarminus* (5 cm long, diameter of 1.2 mm) was cleft grafted on the *P. dumosus* rootstock, using a plastic tube (2.0 cm long, 3.0 mm diameter) to maintain close proximity of both plant parts (Figure 1c). Eight days after grafting, growth of the *P. albicarminus* shoot resumed, while the plant material was kept in the growth chamber.

Five months after grafting, the plant material was planted in the soil at the Tenerife station. Three months later (or eight months after grafting), floral buds were noted, with anthesis occurring nine months after grafting, the pollen was tested for viability resulting in more than 70% (Figure 1f). Thirty-eight days after anthesis, the first pods were formed. Two pods, each with one seed towards the pod beak (Figures 1i, 1j), were harvested, about one year after grafting. Some characteristics were compared (Table 1) with the same material in its site of origin in Costa Rica, reaching the conclusion that the grafting technique of *P. albicarminus* on *P. dumosus* allows a normal development of the plant, demonstrating it is an alternative for regeneration in the germplasm banks. The evolution of the graft is shown in Figure 1.

Traits	Tenerife, province of San José, Costa Rica, elev. 1,817 masl	Tenerife, Valle del Cauca, Colombia, elev. 2,160 masl
Plant height (m)	1.85 ± 0.10	1.85 ± 0.10
Pod length (cm)	10.2 ± 0.10	10.2 ± 0.10
Pod width (cm)	2.1 ± 0.10	2.1 ± 0.10
Pod weight (g)	12.5 ± 0.10	12.5 ± 0.10
Pod length (cm)	10.2 ± 0.10	10.2 ± 0.10
Pod width (cm)	2.1 ± 0.10	2.1 ± 0.10
Pod weight (g)	12.5 ± 0.10	12.5 ± 0.10



Figure 1. Evolution of the grafting of *P. albicarminus* over *P. dumosus* in Costa Rica and Colombia. a) Selection of rootstock. b) Selection of rootstock. c) Grafting of rootstock with plastic capillary. d) Transfer and transplanting the graft to the Tenerife station. e) Flower buds and Pod case. f) Viable pollen grains. g) Flower of recipient development and silicle formation. h) Field of culture one year after grafting. i) First pods in formation. j) Pods in filling and physiological maturity. k) First seed harvested. Photos: Sabogal-Carvajal, R. & Debouck, D.G.

Acknowledgments
 This work has been supported by the Global Crop Diversity Trust. The authors wish the following persons for various support during this research: D. Estroff, J. Martínez, L.C. Ramírez, G. Muñoz, F. Obeso and the staff of the Genetic Resources Program and CGIAR diversity centers gene bank experimental team. The growth chamber have been purchased thanks to a grant provided by the Inter-American Development Bank (IDB) through the Center for Agricultural and Forestry Research (CAF) of Costa Rica.

References
 Araya-Villalobos, J., Escobar, C., Romero-Santana, E., & Debouck, D. G. (2014). *Phaseolus albicarminus*, a new and rare wild bean species from Costa Rica. *Biotropica*, 46(1), 103-107.
 Debouck, D. G., Gereda, J.M., & Araya-Villalobos, J. (2020). *Phaseolus albicarminus* (Leguminosae: Phaseolaceae), a new wild bean species from the subtropical forests of southern-central Costa Rica. *Phytoneuron*, 40(1), 1-14. <https://doi.org/10.33044/phytoneuron.11>
 Gurusamy, V., Singh, K. L., & Venkatesh, S. (2010). Grafting as a tool is common for bean breeding. *Canadian Journal of Plant Science*, 90(1), 101-104. <https://doi.org/10.1139/CJPS-90-1-101>
 Martínez, J. A., & Martínez, G. L. (1992). A simplified procedure for making air grafts and the evaluation of grafting efficiency on common bean. *Plant Disease*, 76(1), 70-72. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17404404>
 Quiroga, V. & D.G. Debouck. 1982. Observations on the origin of *Phaseolus polyanthus* Germann. *Genet. Res.* 39: 101-104.
 White, J. A., & Castillo, J. A. (1989). Behavior Effect of Root and Shoot Grafting on Yield of Common Bean under drought stress. *Leguminosae*, 4(1), 50. <https://doi.org/10.1007/BF02851001>

BIODIVERSIDAD,
 un mundo de oportunidades en tiempos de crisis.



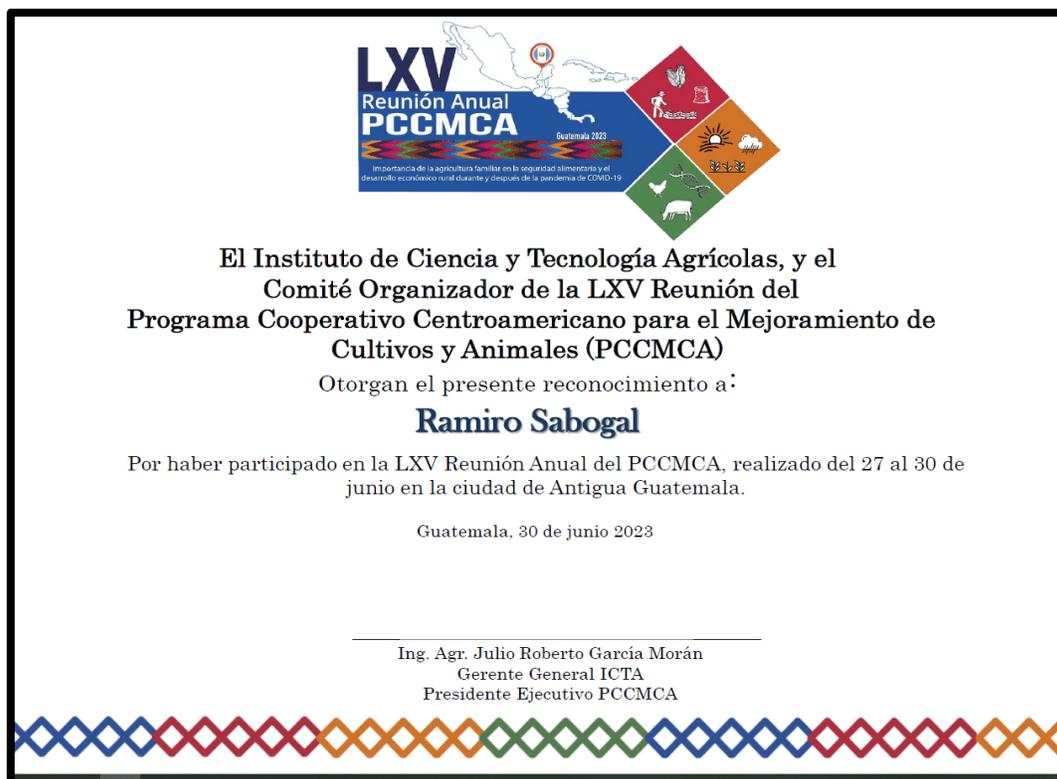


<http://www.cgiar.org>





J. Anexo: Certificado de la ponencia presentada en el Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales – PCCMCA, 2023.



K. Anexo: Pósteres presentados en el XIV Simposio Internacional de Recursos Genéticos de América y el Caribe – SIRGEAC –2023









Propagation of *Phaseolus albicarminus* Debouck & N. Chaves, by layering, cuttings, and grafting.

Sabogal-Carvajal, R., Escobar-Guzmán, H., Gereda, J.M., Santaella, M. y Debouck, D.G.
Genetic Resources Program, Alliance Bioversity International – CIAT, 763537, Cali, Colombia. Email: r.sabogal@cgiar.org.

P. albicarminus, endemic to Costa Rica and a wild relative of cultivated beans, was collected in 2012 and described in 2020 by Debouck *et al.* The Future Seeds germplasm bank, located in Palmira, Colombia, safeguards one accession (G40901) of this little-known bean. The availability of original seeds of *P. albicarminus* is limited and production of new seeds has been scarce.

With the goal of identifying the appropriate conditions to produce enough seeds with the quality to conserve and distribute, the propagation of *P. albicarminus* was evaluated through layering, cuttings and grafts, under controlled conditions.



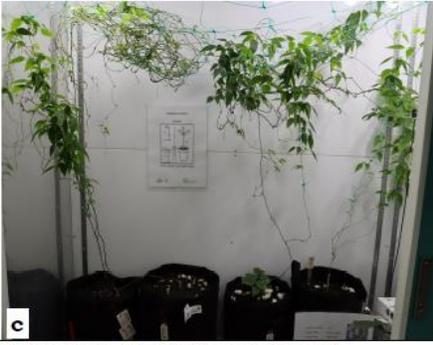


Figure 1. *P. albicarminus* plants established by asexual propagation: a: layering; b: cuttings; c: grafts.

The layering and cuttings were done by adjusting methodologies described by Arrieta-Ramos *et al.* (2017) and Reyes-Quiriones (2015). The grafts were performed using the slit-type method, and an accession of *P. dumosus* (G35684) was used as a rootstock. This methodology was successful for grafting *P. albicarminus* in previous years (Sabogal-Carvajal *et al.*, 2021). The experimental design was completely randomized with 4 replications.

Through asexual propagation, 14 new *P. albicarminus* plants were established: 3 layers + 2 cuttings + 9 grafts (Figure 1). The results of the analysis of variance indicate that statistically at least one of the treatments is different. The Tukey comparison of means test indicates that grafts are significantly more effective in propagating *P. albicarminus* as compared to layering and cuttings (Table 1). Another advantage of grafting is that it mitigates root problems of *P. albicarminus*.

To date through grafting: 7 seeds of *P. albicarminus*, 224 seeds of *P. albiflorus* (G40572), 673 seeds of *P. chiapasanus* (G40790), and 234 seeds of a hybrid of *P. vulgaris* x *P. dumosus* (G36387) have been produced. It is necessary to continue grafting and evaluate other rootstocks, to produce more seeds of critical species such as *P. albicarminus*.

Acknowledgments
This work has been supported by the Global Crop Diversity Trust. The authors thank all the staff of the CIAT Genetic Resources Program, especially the germplasm regeneration team. The growth chambers have been purchased thanks to a grant provided by the Bundesministerium für Wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (BMWi) of Germany.

References
Arrieta-Ramos, R. G., Román Quintero, L. G. & Novareta Valencia, A. L. (2017). Manual de Prácticas de la Unidad de Aprendizaje Propagación de Plantas (Morin, Ramos - Escamilla, Ed., Primer Edición). Ecuador. www.ecofoot.org, Nalco, México.
Debouck, D. G., Chaves, Herminio, N. & Arroyo Villalobos, R. (2020). *Phaseolus albicarminus* (Leguminosae, Phaseoleae), a new wild bean species from the subtropical forests of southern central Costa Rica. *Phytotaxa*, 449(1), 1–14.
Reyes-Quiriones, J. (2015). Guía de técnicas, métodos y procedimientos de reproducción asexual o vegetativa de las plantas. <http://www.compartividad.org.do/wp-content/uploads/2016/05/Guia-de-tecnicas-metodos-y-procedimientos-de-reproduccion-acsual-o-vegetativa-de-las-plantas.pdf>, Santo Domingo, República Dominicana.
Sabogal-Carvajal, R., Gereda, J.M., Mantua, A., Ypiales, J., Santaella, M., Debouck, D.G. (2021) Progress in seed production of *Phaseolus albicarminus* Debouck & N. Chaves, by use of grafting. XIII Simposio Internacional de Recursos Genéticos para las Américas y el Caribe (SIRGEAC), noviembre 30 a diciembre 3 de 2021. Alliance of Bioversity International and CIAT. 1 p.

XIV Simposio Internacional de Recursos Genéticos de las Américas y el Caribe – SIRGeAC 2023; December 13-15, 2023. Valdivia – Chile.









Evaluation of rootstocks for the multiplication of *Phaseolus albicarminus* Debouck & N. Chaves

Sabogal-Carvajal, R.^{*}, Gereda, J.M., Escobar-Guzmán, H., Santaella, M. y Debouck, D.G.
Genetic Resources Program, Alliance Bioversity International – CIAT, 763537, Cali, Colombia. Email: *r.sabogal@cgiar.org.

The wild bean *P. albicarminus* accession G40901 conserved in the Future Seeds germplasm bank (Palmira, Colombia) is currently not available because of lack of seeds for distribution. This living collection has been noted as susceptible to attacks of nematodes and root rots, putting the accession at risk.

By the grafting technique, the compatibility of 16 bean accessions (6 *P. coccineus* + 3 *P. dumosus* + 2 *P. lunatus* + 5 *P. vulgaris*) as rootstocks to propagate *P. albicarminus*, was evaluated, therefore reducing the use of original seeds in the multiplication process, reduce/mitigate root problems, and shorten the reproductive cycle of *P. albicarminus*.






Figure 1. Multiplication of *P. albicarminus* by grafting: a) Rootstock #9 *P. coccineus*; b) Rootstock #13 *P. dumosus*; c) Rootstock #15 *P. vulgaris*; d) Seeds harvested on scions of *P. albicarminus* grafted on *P. dumosus*

The grafts were carried out with the simplified slit-type method for *P. vulgaris*, and successfully validated in species such as *P. albicarminus*, *P. albilorus*, *P. chiapasanus* and a hybrid of *P. vulgaris* x *P. dumosus* (Izquierdo & Hosfield, 1982; Gurusamy *et al.*, 2010; Sabogal-Carvajal *et al.*, 2022). The grafts remained in a growth chamber programmed with the conditions indicated in Table 1. The grafts that survived were moved to the experimental stations of Corrales (1850 masl) and Tenerife (2200 masl). The experimental design was completely randomized with 3 replications.

Photoperiod	Temperature	Relative humidity	Light intensity
16 hours of light	20°C day	80% day	480 µmoles
8 hours of darkness	14°C night	90% night	0

Successful *P. albicarminus* grafts reached 52.8%. In Corrales, the adaptation was 56.5% and in Tenerife 43.5%. Rootstocks #9, #13 and #15 are the ones that best adapted to the conditions of Corrales and Tenerife (Figure 1a, 1b and 1c). The remaining rootstocks had a success rate less than 50%. It was possible to establish 23 plants (grafts) of *P. albicarminus* (13 in Corrales and 10 in Tenerife).

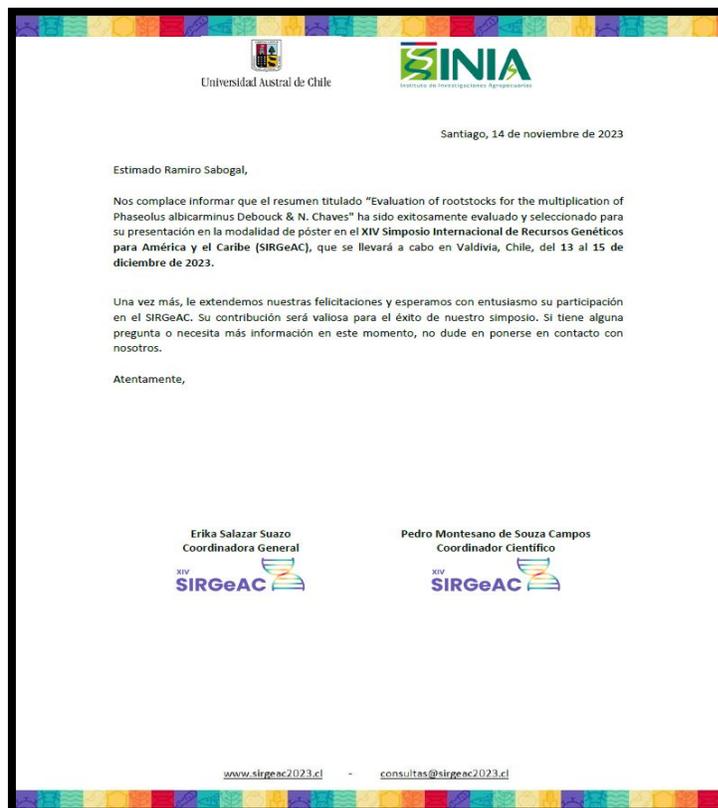
To date, grafts allowed the production of 7 seeds of *P. albicarminus* (Figure 1d), where it seems that there is no incompatibility due to the species of the rootstock. The goal is to carry out massive grafting in the coming years until completing 2,000 *P. albicarminus* seeds.

Acknowledgments
This work has been supported by the Global Crop Diversity Trust. The authors thank all the staff of the CIAT Genetic Resources Program, especially the germplasm regeneration team. The growth chambers have been purchased thanks to a grant provided by the Bundesministerium für Wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (BMZ) of Germany.

References
Gurusamy, V., Ben, K. E., & Vandenberg, A. (2010). Grafting as a tool in common bean 1450 breeding. *Canadian Journal of Plant Science*, 90(3), 299-304.
Izquierdo, J. A., & Hosfield, G. L. (1982). A simplified procedure for making cleft grafts and the evaluation of grafting effects on common bean. *HortScience*, 17, 750-752.
Sabogal-Carvajal, R.; Gereda, J.M.; Merino, A.; Ypiñal, J.; Rosero, G.; Santaella, M.; Debouck, D.G. (2022) Produciendo germoplasmas de frijol, mediante injertos. Poster presented at XI Congreso Colombiano de Botánica, Universidad de Los Llanos, Villavicencio, Meta, Colombia, Nov. 6-10, 2022. 1 p.

XIV Simposio Internacional de Recursos Genéticos de las Américas y el Caribe - SIRGeAC 2023; December 13-15, 2023. Valdivia - Chile.

110 Aumento de semillas de *Phaseolus albicarminus* (Leguminosae, Phaseoleae) mediante técnicas de propagación asexual





7. Bibliografía

- Abanto Rodriguez, C., Alves Chagas, E., Paes de Almeida, L. F., Mathews Delgado, J. P., Del Castillo Torres, D., Pinedo Panduro, M., Correa da Silva, V. E., & Choy Sanchez, J. (2015). Genotype and Grafting Techniques Effects on Survival and Growth of Camu Camu Plants. *Journal of Agricultural Science*, 7(6), 160–170. <https://doi.org/10.5539/jas.v7n6p160>
- Abd-Alla, M. H. (2011). Nodulation and nitrogen fixation in interspecies grafts of soybean and common bean is controlled by isoflavonoid signal molecules translocated from shoot. *Plant, Soil and Environment*, 57(10), 453–458. <https://doi.org/10.17221/379/2010-PSE>
- Alliance Bioersivity International - CIAT. (2022). *Colombia Genebank | Alliance Bioersivity International - CIAT. Sitio Web.* <https://alliancebioersivityciat.org/services/genebanks/colombia-genebank>
- Álvarez Hernández, J. C. (2012). Comportamiento agronómico e incidencia de enfermedades en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) injertadas. *Acta Agronómica*, 61(2), 117–125. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169925874007>
- Álvarez López, H. (2019). *Manual de Injertación en frutales: Contribucción en Fisiología Vegetal*. Repositorio Institucional Digital - Universidad Nacional de Jaén. <http://m.repositorio.unj.edu.pe/bitstream/UNJ/389/1/MANUAL%20DE%20INJERTACION.pdf>
- Andrade Júnior, S., Sobreira Alexandre, R., Romais Schimldt, E., Partelli, F. L., Gava Ferrão, M. A., & Mauri, A. L. (2013). Comparison between grafting and cutting as vegetative propagation methods for conilon coffee plants. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 35(4), 461–469. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i4.16917>
- Araya Villalobos, R., Toro Chica, O., Martínez Umaña, K., & Debouck, D. G. (2014). *Phaseolus albicarminus, a new and rare wild bean species from Costa Rica (Poster)*. PCCMCA - 59 Reunión Anual, Programa Coperativo Centroamericano Para El Mejoramiento de Cultivos y Animales. Managua, Nicaragua, 28 April-3 May 2014). Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); Universidad de Costa Rica (UCR); Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/biblioteca/Phaseolus_albicarminus_a_new_and_rare_wild_bean_species_from_Costa_Rica.pdf
- Arrieta Ramos, B. G., Ramírez Guerrero, L. G., & Navarrete Valencia, A. L. (2017). *Manual de Prácticas de la Unidad de Aprendizaje Propagación de Plantas* (María. RAMOS-ESCAMILLA, Ed.; Primera Edición). ECORFAN. www.ecorfan.org

- Azcón Bieto, J., & Talón, M. (2008). *Fundamentos de Fisiología Vegetal* (Universidad de Barcelona, Ed.; 2.^a Edició). McGRAW -Hill interamericana.
- Bernal Alzate, J., Grimaldo Juarez, O., Gonzalez Mendoza, D., Cervantes Díaz, L., Rueda Puente, E. O., & Ceceña Durán, C. (2016). El injerto como alternativa para mejorar el rendimiento en la producción de frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris* L.). *Idesia*, 34(2), 43–46. <https://doi.org/10.4067/s0718-34292016005000006>
- Bidwell, R., 1998, Fisiología vegetal, AGT Editor, México.
- Bogoescu, M., Doltu, M., & Sora, D. (2014). Prevention and control of soilborne diseases and nematodes in eggplants crop by grafting plants combined with soil fumigation. *Acta Horticulturae*, 1044, 331–336. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1044.43>
- Boutelou, C. (1817). *Tratado del injerto*. https://bibdigital.rjb.csic.es/medias/3a/a8/bb/d2/3aa8bbd2-f3bd-4035-98de-af73b6aaffd7/files/BOU_Trat_Injer.pdf
- Cartagena Valenzuela, J. R. (1994). *Aspectos fisiológicos de la propagación de plantas*. Corporación colombiana de investigación agropecuaria - AGROSAVIA. <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/32720>
- Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT. (2019). *Conservación y uso de cultivos - CIAT*. Sitio Web. <https://ciat.cgiar.org/lo-que-hacemos/conservacion-y-uso-de-cultivos/?lang=es>
- CGIAR Genebank Platform. (2022). *Genebanks | CGIAR Genebank Platform*. Sitio Web. <https://www.genebanks.org/genebanks/>
- CIAT - Programa de Recursos Genéticos, Gereda, J. M., Sabogal Carvajal, R., Debouck, D. G., Wenzl, P., & van Beem, J. (2017). *Regeneración y caracterización de los recursos genéticos de Frijol en el CIAT* (SOP-REG-001-ES-v.20181025.docx; 2.0). https://ciatshare.ciat.cgiar.org/sites/grp/qms/science/regeneration/_layouts/15/WopiFrame.aspx?sourcedoc={6E159279-9642-44FD-89A1-BB617D38E3F1}&file=SOP-REG-001-ES-v.20181025.docx&action=default
- CROP TRUST. (2019). *Crop Trust - Securing our food, forever*. Sitio Web. <https://www.croptrust.org/>
- Crop Wild Relatives. (2019). *Bean - Crop Wild Relatives*. Sitio Web. <https://www.cwrdiversity.org/crop/bean/>
- Crop Wild Relatives. (2022). *Crop Wild Relatives*. Sitio Web. <https://www.cwrdiversity.org/about/why-are-cwr-important/>
- Cuervo, M., Ramírez, J. C., & Dorado, F. (2022). *Anlisis Fitosanitario No. 01 - Fríjol Laboratorio de Sanidad de Germoplasma Programa de Recursos Genéticos (01)*.

- Debouck, D. G. (1978). *Diversidad del frijol en Mexico y actividades de recolección de germoplasma* (p. 13p). International Center for Tropical Agriculture. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/71919>
- Debouck, D. G. (1986). *La búsqueda de diversidad genética de Phaseolus en los tres centros americanos como servicio al fitomejoramiento del cultivo*. https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/71360/CIAT_COLOMBIA_000094_La_búsqueda_de_diversidad_genética_de_Phaseolus_en_los_tres_centros_american.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Debouck, D. G. (1988). *Patrones de diversidad genética en Phaseolus: hechos, ideas e implicaciones*. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/71936>
- Debouck, D. G. (1992). Views on variability in Phaseolus beans. *Bean Improvement Cooperative. Annual Report (USA)*, 35:9-10. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/65754>
- Debouck, D. G. (1999). *Diversity in Phaseolus Species in Relation to the Common Bean* (pp. 25–52). https://doi.org/10.1007/978-94-015-9211-6_2
- Debouck, D. G. (2009). *Flow chart of CIAT genebank operations*. <https://hdl.handle.net/10568/49631>
- Debouck, D. G. (2015a). *Hacia el entendimiento: con conservación sí hay desarrollo*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). <https://hdl.handle.net/10568/110114>
- Debouck, D. G. (2015b). Observations about Phaseolus Lignosus (Leguminosae: Papilionoideae: Phaseoleae), a bean species from the Bermuda Islands. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 9(1), 107–119. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/68451>
- Debouck, D. G. (2017, November 17). *Successful seed increase of Phaseolus filiformis Benth.* Poster - International Center for Tropical Agriculture (CIAT). Cali. CO. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/89651>
- Debouck, D. G. (2021). Phaseolus beans (Leguminosae, Phaseoleae): a checklist and notes on their taxonomy and ecology. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 15(1), 73–111. <https://doi.org/10.17348/JBRIT.V15.I1.1052>
- Debouck, D. G., Chaves Barrantes, N., & Araya Villalobos, R. (2020). Phaseolus albicarminus (Leguminosae, Phaseoleae), a new wild bean species from the subhumid forests of southern central Costa Rica. *Phytotaxa*, 449(1), 1–14. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.449.1.1>
- Debouck, D. G., & Hidalgo, R. (1985). *Morfología de la Planta de frijol Común* (Segunda). https://books.google.com.co/books?id=AtOLF2NhJogC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

- Debouck, D. G., Santaella, M., & Sabogal Carvajal, R. (2018, December 18). *Successful seed increase of Phaseolus zimapanensis* A. Delgado. Poster - International Center for Tropical Agriculture (CIAT). Cali. CO. . <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/99106>
- Debouck, D. G., & Santos Meléndez, L. G. (2019). *Las semillas de Phaseolus hygrophilus de Costa Rica no muestran comportamiento ortodoxo*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). <https://hdl.handle.net/10568/103513>
- Debouck, D. G., & Tohme, J. M. (1989). Implications for bean breeders of studies on the origins of common beans, *Phaseolus vulgaris* L. In S. Beebe (Ed.), *Current topics in breeding of common bean* (pp. 3–42). International Center for Tropical Agriculture. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/88245>
- Delgado-Salinas, A., Bibler, R., & Lavin, M. (2006). Phylogeny of the genus *Phaseolus* (Leguminosae): A recent diversification in an ancient landscape. *Systematic Botany*, 31(4), 779–791. <https://doi.org/10.1600/036364406779695960>
- Delgado-Salinas, A., Bruneau, A., & Doyle, J. J. (1993). Chloroplast DNA Phylogenetic Studies in New World Phaseolinae (Leguminosae: Papilionoideae: Phaseoleae). *Systematic Botany*, 18(1), 17. <https://doi.org/10.2307/2419784>
- Dickson, M. H., & Boettger, M. A. (1977). Breeding for Multiple Root Rot Resistance in Snap Beans1. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 102(4), 373–377. <https://doi.org/10.21273/JASHS.102.4.373>
- Dirección de Escuelas Agrarias - MINAGRO. (2008). *Manual de Vivero*. https://aulavirtual.agro.unlp.edu.ar/pluginfile.php/40611/mod_resource/content/1/020000_Manual_de_Vivero.pdf
- Dohle, S., Berny Mier y Teran, J. C., Egan, A., Kisha, T., & Khoury, C. K. (2019). Wild Beans (*Phaseolus* L.) of North America. In *North American Crop Wild Relatives, Volume 2* (pp. 99–127). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-97121-6_4
- Editorial Agro Cultivos. (2019). Métodos de Propagación Vegetativa . *Revista AgroSíntesis*. <https://www.agrosintesis.com/metodos-de-propagacion-vegetativa/>
- Engels, J. M. M., & Visser, L. (2007). *Guía para el manejo eficaz de un banco de germoplasma. Manuales para Bancos de Germoplasma No. 6*. www.biodiversityinternational.org,
- Equipo de regeneración- PRG - CIAT. (2022). *Regeneración de germoplasma de fríjol*.
- Escobar Acevedo, C. J., Zuluaga Peláez, J. J., & Osorio Moreno, V. E. (2002). *Manual técnicas de propagación 12 de especies vegetales leñosas promisorias para el piedemonte de Caquetá* (GRÁFICAS FLORENCIA, Ed.). Corpoica Regional 10.

- Feng, M., Augstein, F., Kareem, A., & Melnyk, C. W. (2024). Plant grafting: Molecular mechanisms and applications. *Molecular Plant*, 17(1), 75–91. <https://doi.org/10.1016/J.MOLP.2023.12.006>
- Flores Montes De Oca, A. (2010, August). *Manual agroclimático, para la realización de injertos en árboles frutales caducifolios de clima frío-templado, para principiantes*. Huerto Fenológico Del Colegio de Geografía, de La Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). http://huertofenologico.filos.unam.mx/files/2017/05/Manual_agroclimatico_injertos.pdf
- Frey, C., Encina García, A. E., & Acebes Arranz, J. L. (2022, March 15). Plantas quimera: arte y ciencia de los injertos. *The Conversation: Academic Rigour, Journalistic Flair*. <https://theconversation.com/plantas-quimera-arte-y-ciencia-de-los-injertos-175853>
- Freytag, G. F., & Debouck, D. G. (2002). *Taxonomy, distribution, and ecology of the genus phaseolus (Leguminosae-papilionoideae) in North America, Mexico and Central America* (B. Lipscomb, Ed.). Botanical Research Institute of Texas. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/54291>
- Gaiji, S., & Debouck, D. G. (2008). Flujos de germoplasma en las Américas. 30 años de distribución de muestras de frijol por parte del Centro Internacional de Agricultura Tropical. *Recursos Naturales y Ambiente (Costa Rica)*, 53, 54–61. www.cgiar.org
- Gallego Acuña, L. (2022). *Mecanismos celulares y moleculares del injerto en plantas* [Universidad de Leon]. https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/15587/Gallego_Acu%c3%b1a_Lara.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Gautier, A. T., Chambaud, C., Brocard, L., Ollat, N., Gambetta, G. A., Delrot, S., & Cookson, S. J. (2019). Merging genotypes: graft union formation and scion-rootstock interactions. *Journal of Experimental Botany*, 70(3), 747–755. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery422>
- Gepts, Paul., & Debouck, D. G. (1991). Origin, domestication and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In A. van Schoonhoven & O. Voysest (Eds.), *Common beans: Research for crop improvement* (pp. 7–53). Commonwealth Agricultural Bureaux International. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/88263>
- Gereda, J., Mestizo, A., Ypiales, J., Sabogal Carvajal, R., Santaella, M., Santos, L. G., & Debouck, D. G. (2021, December 3). *Successful seed increase of Phaseolus chiapasanus Piper*. Póster- XIII Simposio Internacional de Recursos Genéticos Para Las Américas y El Caribe (SIRGEAC), Noviembre 30 a Diciembre 3 de 2021. Alliance of Bioversity International and CIAT. . <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/110071>
- Google.(2023).*GoogleEarth*.<https://earth.google.com/web/search/Semillas+del+Futuro,+Cali,+Valle+del+Cauca/>

- Grozeff-Gergoff, G. E., Ruscitti, M. F., & Gimenez, D. O. (2023). *Introducción a la propagación vegetal De la fisiología a la práctica integrada* (Editorial de la Universidad de La Plata, Ed.; 1st ed.). Universidad Nacional de La Plata. <https://core.ac.uk/download/597602003>
- Gul, A., Cengiz, O., & Tepecik, M. (2017). The effect of grafting on salinity tolerance in cucumber plants grown in perlite. *Acta Horticulturae*, 1170(1170), 1165–1172. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1170.150>
- Gurusamy, V., Bett, K. E., & Vandenberg, A. (2010). Grafting as a tool in common bean breeding. *Canadian Journal of Plant Science*, 90(3), 299–304. <https://doi.org/10.4141/CJPS09077>
- Hamaguchi, H., Kokubun, M., Yoneyama, T., Hansen, A. P., & Akao, S. (1993). Control of Supernodulation in Intergeneric Grafts of Soybean and Common Bean. *Crop Science*, 33(4), 794–797. <https://doi.org/10.2135/CROPSCI1993.0011183X003300040033X>
- Hartmann H.T., Kester D.E., Davies F.T., Geneve R.L. (1997). *Plant propagation: principles and practices*, 6th ed., Prentice Hall, EUA.
- Heywood, V., Casas, A., Ford-Lloyd, B., Kell, S., & Maxted, N. (2007). Conservation and sustainable use of crop wild relatives. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 121(3), 245–255. <https://doi.org/10.1016/J.AGEE.2006.12.014>
- Hu, B., Ling, P., & Kleinhenz, M. (2016). Grafted tomato propagation: Effects of light intensity and temperature on graft healing and plant regrowth. *Acta Horticulturae*, 1140, 327–330. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1140.72>
- Hunter, D., & Heywood, V. (2011). *Parientes Silvestres de los Cultivos Manual para la Conservación In Situ* (D. Hunter & V. Heywood, Eds.; Primera). Bioversity Internacional 2012. https://www.bioversityinternational.org/fileadmin/_migrated/uploads/tx_news/Parientes_silvestres_de_los_cultivos_1641.pdf
- Izquierdo, J. A., & Hosfield, G. L. (1982). A simplified procedure for making cleft grafts and the evaluation of grafting effects on common bean. *HortScience*, 17, 750–752. <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=catalco.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mf n=058986>
- Jackson, J. E. (2009). The graft union, grafting and budding. In *The Biology of Apples and Pears* (pp. 126–140). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/cbo9780511542657.006>
- Jimenez Vazquez, K. R. (2020). *Participación del transporte de auxinas en el crecimiento direccional de la raíz de Arabidopsis thaliana en interacción con Achromobacter sp. 5B1* [Univerdidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo].

http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/3981/IIQB-M-2020-1044.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Karunakaran, R., & Ilango R, V. J. (2020). Graft success, growth, and early flowering onset, as affected by grafting time in topworked tea plants. *Journal of Crop Improvement*, 34(3), 397–403. <https://doi.org/10.1080/15427528.2020.1723768>
- Lee, J.-M., Kubota, C., Tsao, S. J., Bie, Z., Hoyos Echevarria, P., Morra, L., & Oda, M. (2010). Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation. *Scientia Horticulturae*, 127, 93–105. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.08.003>
- Linnaeus, C. von. (1753). *Species plantarum Tomus II. A facsimile (1957–1959) of the first edition*. (Tomo II, Vol. 2). Ray Society; sold by B. Quaritch,. <http://www.botanicus.org/bibliography/b12069590>
- López Pérez, D., & Carazo Nuria. (2005). La producción de esquejes. *Horticultura Internacional*, 1, 22–29. https://www.researchgate.net/publication/28280218_La_produccion_de_esquejes
- López Serrano, L., Canet Sanchis, G., Selak, G. V., Penella, C., San Bautista, A., López Galarza, S., & Calatayud, Á. (2020). Physiological characterization of a pepper hybrid rootstock designed to cope with salinity stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 148, 207–219. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.016>
- Loupit, G., Brocard, L., Ollat, N., & Cookson, S. J. (2023). Grafting in plants: recent discoveries and new applications. *Journal of Experimental Botany*, 74(8), 2433–2447. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERAD061>
- Martínez Rodríguez, M. del C., Pérez Fernández, J. Enrique., & Loureiro Rodríguez, M. Dolores. (1999). *La vid en el occidente del Principado de Asturias : descripción ampelográfica de las variedades*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- Millán Ramos, C. C., & Salvador Pardo, M. I. (2018). *Evaluación de cuatro tipos de injertos, bajo la influencia de las fases lunares para la especie forestal Sapindus saponaria L* [Universidad Distrital Francisco José de Caldas]. <https://repository.udistrital.edu.co/bitstream/handle/11349/13080/MillanRamosCri;jsessionid=326D0CB8A2038C315B8C35F6A8A22068?sequence=1>
- Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente Gobierno de España. (2014). *Guía de gestión integrada de plagas para el cultivo de cítricos* (A. y M. A. Ministerio de Agricultura, Ed.). <http://publicacionesoficiales.boe.es/>
- Mudge, K., Janick, J., Scofield, S., & Goldschmidt, E. E. (2009). A History of Grafting. In J. Janick (Ed.), *Horticultural Reviews* (Vol. 35, pp. 437–493). John Wiley & Sons, Inc. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9780470593776>
- Muralidhara, B. M., & Doreyappa Gowda, I. N. (2019). Soft wood grafting-A novel and rapid multiplication technique in Coorg mandarin (*Citrus reticulate* Blanco). *Journal of Horticultural Sciences*, 14(1), 7–12. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=577061293003>

- Naciones Unidas. (1992). *Convenio sobre la diversidad biológica*.
<https://www.cbd.int/doc/legal/cbd-es.pdf>
- Nawaz, M. A., Imtiaz, M., Kong, Q., Cheng, F., Ahmed, W., Huang, Y., & Bie, Z. (2016). Grafting: A technique to modify ion accumulation in horticultural crops. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01457>
- Nguyen, V. H., & Yen, C. R. (2018). Rootstock age and grafting season affect graft success and plant growth of papaya (*Carica papaya* L.) In greenhouse. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 78(1), 59–67. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392018000100059>
- Nie, W., & Wen, D. (2023). Study on the Applications and Regulatory Mechanisms of Grafting on Vegetables. In *Plants* (Vol. 12, Issue 15). <https://doi.org/10.3390/plants12152822>
- Orrala Borbor, N., Herrera Isla, L., & Balmaseda Espinosa, C. (2018). Watermelon yield and fruit quality under different graft patterns and NPK doses. *Cultivos Tropicales*, 39(3), 25–30.
- Orton, T. J. (2020). Breeding Methods for Outcrossing Plant Species: III. Asexual Propagation. In C. Cockle (Ed.), *Horticultural Plant Breeding* (pp. 309–326). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815396-3.00017-2>
- Osuna Fernández, H. R., Osuna Fernández, A. M., & Fierro Álvarez, A. (2016). *Manual de propagación de plantas superiores*. Universidad Nacional Autónoma de México Universidad Autónoma Metropolitana. http://www.casadelibrosabiertos.uam.mx/contenido/contenido/Libroelectronico/manual_plantas.pdf
- Pérez Moreno, I. (2002). La filoxera o el invasor que vino de América. In *Bol. S.E.A.* (Vol. 30). http://sea-entomologia.org/PDF/BOLETIN_30/B30-044-218.pdf
- Porch, T., Beaver, J., Debouck, D., Jackson, S., Kelly, J., & Dempewolf, H. (2013). Use of Wild Relatives and Closely Related Species to Adapt Common Bean to Climate Change. *Agronomy*, 3(2), 433–461. <https://doi.org/10.3390/agronomy3020433>
- PRG - CIAT. (2022). *Accesiones de frijol críticas (menos de 100 semillas)*.
- Programa de Recursos Genéticos (PRG) - CIAT. (2022). *Colección de frijol*. Sitio Web. . <https://genebank.ciat.cgiar.org/genebank/beancollection.do>
- Reyes Quiñones, J. (2015). *Guía de técnicas, métodos y procedimientos de reproducción asexual o vegetativa de las plantas*. <http://www.competitividad.org.do/wp-content/uploads/2016/05/Guía-de-técnicas-métodos-y-procedimientos-de-reproducción-asexual-o-vegetativa-de-las-plantas.pdf>
- Rojas González, S., García Lozano, J., & Alarcón Rojas, M. (2004). *Propagación asexual de plantas* (Produmedios, Ed.). CORPOICA. www.produmedios.com

- Sabogal-Carvajal, R., Escobar-Guzman, E. H., Gereda, J. M., Santaella, M., & Debouck, D. (2023a). *Propagación asexual de Phaseolus albicarminus Debouck & N. Chaves (Papilionoideae Phaseoleae), bajo condiciones controladas*. <https://hdl.handle.net/10568/131632>
- Sabogal-Carvajal, R., Escobar-Guzmán, H., Gereda, J. M., Santaella, M., & Debouck, D. G. (2023b). *Propagation of Phaseolus albicarminus Debouck & N. Chaves, by layering, cuttings, and grafting*. <https://hdl.handle.net/10568/135843>
- Sabogal-Carvajal, R., Gereda, J. M., Escobar-Guzmán, H., Santaella, M., & Debouck, D. G. (2023). *Evaluation of rootstocks for the multiplication of Phaseolus albicarminus Debouck & N. Chaves*. <https://hdl.handle.net/10568/135853>
- Sabogal-Carvajal, R., Gereda, J. M., Mestizo, A., Ypiales, J., Rosero, G., Santaella, M., & Debouck, D. G. (2022). *Produciendo germoplasma de frijol, mediante injertos*. Poster : XI Congreso Colombiano de Botánica, Universidad de Los Llanos, Villavicencio, Meta, Colombia, Alliance of Bioversity International and CIAT. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/125689>
- Sabogal-Carvajal, R., Gereda, J. M., Mestizo, A., Ypiales, J., Santaella, M., & Debouck, D. G. (2021a). *Avances en la producción de semillas de Phaseolus albicarminus Debouck y N. Chaves, mediante injerto (XIII Simposio Internacional de Recursos Genéticos Para Las Américas y El Caribe (SIRGEAC))*. <https://hdl.handle.net/10568/116906>
- Sabogal-Carvajal, R., Gereda, J. M., Mestizo, A., Ypiales, J., Santaella, M., & Debouck, D. G. (2021b). *Progress in seed production of Phaseolus albicarminus Debouck & N. Chaves, by use of grafting*. Póster - XIII Simposio Internacional de Recursos Genéticos Para Las Américas y El Caribe (SIRGEAC), Noviembre 30 a Diciembre 3 de 2021. Alliance of Bioversity International and CIAT. <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/116913>
- Sabogal-Carvajal, R., Mestizo, A., Ypiales, J., Gereda, J., Santaella, M., Santos, L. G., & Debouck, D. G. (2020). *Successful seed increase of Phaseolus tuerckheimii Donn. Sm.* Poster - Genetic Resources Program, Alliance Bioversity International – CIAT, Cali, Colombia. . <https://cgspace.cgiar.org/handle/10568/109648>
- Sanders, P. L., & Markhart, A. H. (1992). Interspecific Grafts Demonstrate Root System Control of Leaf Water Status in Water-Stressed Phaseolus. *Journal of Experimental Botany*, 43(12), 1563–1567. <https://doi.org/10.1093/jxb/43.12.1563>
- Santalla, M., Monteagudo, A. B., González, A. M., & De Ron, A. M. (2004). Agronomical and quality traits of runner bean germplasm and implications for breeding. *Euphytica*, 135(2), 205–215. <https://doi.org/10.1023/B:EUPH.0000014912.07993.E7/METRICS>
- Schmit, V., & Baudoin, J. P. (1992). Screening for resistance to Ascochyta blight in populations of Phaseolus coccineus L. and P. polyanthus Greenman. *Field Crops Research*, 30(1–2), 155–165. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(92\)90064-G](https://doi.org/10.1016/0378-4290(92)90064-G)

- Schmit, V., & Debouck, D. G. (1991). Observations on the origin of phaseolus polyanthus Greenman. *Economic Botany*, 45(3), 345–364. <https://doi.org/10.1007/BF02887077/METRICS>
- Sharkoff, J., & Brick, M. A. (1990). *Effects of grafting roots and shoots of Phaseolus vulgaris and P. acutifolius on physiological and morphological variables* (pp. 190–191). Colorado State University. <http://handle.nal.usda.gov/10113/IND92013837>
- Sharma, A., & Zheng, B. (2019). Molecular responses during plant grafting and its regulation by auxins, cytokinins, and gibberellins. *Biomolecules*, 9(9), 397. <https://doi.org/10.3390/biom9090397>
- Silva Souza, L., Diniz, R. P., Neves, R. de J., Alves, A. A. C., & Oliveira, E. J. de. (2018). Grafting as a strategy to increase flowering of cassava. *Scientia Horticulturae*, 240, 544–551. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2018.06.070>
- Singh, D. P., Singh, A. K., & Singh, A. (2021). Breeding methods used in asexual crops. In *Plant Breeding and Cultivar Development* (pp. 379–398). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817563-7.00006-4>
- Taiz, L. (2013). Agriculture, plant physiology, and human population growth: past, present, and future. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 167–181. <https://doi.org/10.1590/s2197-00252013000300001>
- Tang, W., Zhang, R., Wang, M., Wang, H., Ding, F., Chen, X., Shen, X., Yin, C., & Mao, Z. (2024). Effects of two apple rootstocks on the soil microecology of replanted apple orchard soil. *Scientia Horticulturae*, 324, 112640. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2023.112640>
- Tedesco, S., Feveireiro, P., Kragler, F., & Pina, A. (2022). Plant grafting and graft incompatibility: A review from the grapevine perspective. *Scientia Horticulturae*, 299, 1–12. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2022.111019>
- The Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO. (2010). *The Second Report on The State Of The World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture*. Plant Genetic Resources for Food and Agriculture.
- The Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO. (2014). *Normas para bancos de germoplasma de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura*. www.fao.org/
- The Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO. (2019). *El estado de la biodiversidad para la alimentación y la agricultura en el mundo - resumen*. <http://www.fao.org/3/CA3229ES/CA3229ES.pdf>
- Umeya, K., & Imai, E. (1963). Growth response of azuki bean beetle (*Callosobruchus chinensis* L.) to beans harvested from the plants of grafting combination between azuki bean

- (Phaseolus radiatus L.) and kidney bean (P. vulgaris L.) (Preliminary report). *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, 7(2), 154–156. <https://doi.org/10.1303/jjaez.7.154>
- Universidad de Florida, Universidad de Kentucky, & Universidad de Texas A&M. (2020a). *Layering and Division*. Sitio Web. <https://irrecenvhort.ifas.ufl.edu/plant-prop-glossary/08-layering/01-layering-air.html>
- Universidad de Florida, Universidad de Kentucky, & Universidad de Texas A&M. (2020b). *Micropropagation*. Sitio Web. <https://irrecenvhort.ifas.ufl.edu/plant-prop-glossary/index.html>
- Universidad Nacional del Nordeste - Argentina. (2016). *Anatomía Floral. Reproducción Asexual y Sexual*. Sitio Web [Http://www.Biologia.Edu.Ar/Botanica/Tema22/Index22.Htm](http://www.Biologia.Edu.Ar/Botanica/Tema22/Index22.Htm). <http://www.biologia.edu.ar/botanica/tema22/index22.htm>
- Vallejo Cabrera, F. A., & Estrada Salazar, E. I. (2002). *Mejoramiento Genético de Plantas* (Primera). Universidad Nacional de Colombia - Sede Palmira. http://bdigital.unal.edu.co/46265/3/9588095115_Part01.PDF
- Vanderborght, T. (1983). Increasing seed of Phaseolus coccineus L. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 53, 17–18. <https://hdl.handle.net/10568/104405>
- Vázquez Yanes, C., Orozco, A., Rojas, M., Sánchez, M. E., & Cervantes, V. (1997). *La reproducción de las plantas: semillas y meristemas* (F. D. C. ECONÓMICA, Ed.; Primera ed). <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/lcpt157.htm>
- Velasco Alvarado, M. de J. (2013). *Anatomía y manejo agronómico de plantas injertadas en jitomate (Solanum lycopersicum L.)* [Universidad Autónoma Chapingo]. <http://portal.chapingo.mx/horticultura/pdf/tesis/TESISMCH2013050810128186.pdf>
- Vince Prue, D., & Yeomans, R. (2018). Propagating plants vegetatively. In C. Bird (Ed.), *The Fundamentals of Horticulture* (pp. 162–185). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/cbo9781139194150.011>
- Vougeleka, V., Savvas, D., Ntatsi, G., Ellinas, G., Zacharis, A., Iannetta, P. P. M., Mylona, P., & Saitanis, C. J. (2023). Impact of the rootstock genotype on the performance of grafted common bean (Phaseolus vulgaris L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 311, 111821. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2022.111821>
- Warschefsky, E. J., Klein, L. L., Frank, M. H., Chitwood, D. H., Londo, J. P., von Wettberg, E. J. B., & Miller, A. J. (2016). Rootstocks: Diversity, Domestication, and Impacts on Shoot Phenotypes. In *Trends in Plant Science* (Vol. 21, Issue 5, pp. 418–437). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.11.008>

- White, J. W., & Castillo, J. A. (1989). Relative Effect of Root and Shoot Genotypes on Yield of Common Bean under Drought Stress. *Crop Science*, 29(2), 362. <https://doi.org/10.2135/cropsci1989.0011183X002900020026x>
- White, J. W., Montes, C., & Mendoza, L. Y. (1991). Use of grafting to characterize and alleviate hybrid dwarfness in common bean. *Euphytica*, 59(1), 19–25. <https://doi.org/10.1007/BF00025357>
- Wright, J. W. (1976). Useful Techniques—Vegetative Propagation. In *Introduction to Forest Genetics* (pp. 111–133). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-765250-4.50011-3>
- Wulf, K. E., Reid, J. B., & Foo, E. (2020). What drives interspecies graft union success? Exploring the role of phylogenetic relatedness and stem anatomy. *Physiologia Plantarum*, 170(1), 132–147. <https://doi.org/10.1111/PPL.13118>
- Yousef, A. F., Ali, M. M., Rizwan, H. M., Gad, A. G., Liang, D., Binqi, L., kalaji, H. M., Wróbel, J., Xu, Y., & Chen, F. (2021). Light quality and quantity affect graft union formation of tomato plants. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88971-5>
- Zaiter, H. Z., Coyne, D. P., & Clark, R. B. (1987). Temperature, Grafting method, and rootstock influence on iron-deficiency chlorosis of bean. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 112, 1023–1026. <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=catalco.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mn=058993>
- Zrig, A., ben Mohamed, H., Tounekti, T., Khemira, H., Serrano, M., Valero, D., & Vadel, A. M. (2016). Effect of rootstock on salinity tolerance of sweet almond (cv. Mazzetto). *South African Journal of Botany*, 102, 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.09.001>