

## **‘Dalia’, nueva variedad de frijol de grano tipo Flor de Junio para la región centro de México\***

## **‘Dalia’, a new variety of bean grain, Flor de Junio type for the central region of Mexico**

**Jorge Alberto Acosta-Gallegos<sup>1§</sup>, Víctor Montero-Tavera<sup>2</sup>, Yanet Jiménez-Hernández<sup>1</sup>, José Luis Anaya-López<sup>2</sup> y Mario Martín Gonzalez-Chavira<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Campo Experimental Bajío- INIFAP. Carretera Celaya-San Miguel de Allende, km 6.5. Celaya, Guanajuato, México. C. P. 38110. <sup>2</sup>Campo Experimental Bajío. INIFAP. Carretera Celaya-San Miguel de Allende, km 6.5. Celaya, Guanajuato, México. C. P. 38110. <sup>§</sup>Autor para correspondencia: acosta.jorge@inifap.gob.mx.

### **Resumen**

El frijol tipo Flor de Junio, cuyo color de grano es de fondo crema con franjas rosas, se produce y consume en la región Centro de México. Se describe el proceso de obtención y características de Dalia, una nueva variedad de frijol tipo Flor de Junio de raza Jalisco, derivada de la crusa de Flor de Junio Silvia por Flor de Mayo Anita realizada en el Campo Experimental Bajío en 2003. El proceso de selección se basó inicialmente en la sanidad y el ciclo de la planta, así como en las características comerciales del grano en siembras bajo condiciones alternas de riego y temporal. En su fase final se realizó selección asistida por marcadores moleculares (SAM) para seleccionar la progenie que tuviera simultáneamente los marcadores ROC11 y SW13, ligados a los genes *I* y *bc3*, cuya piramidación confiere resistencia a todos los patotipos de los virus BCMV y BCMNV. Dalia es de hábito de crecimiento indeterminado tipo 3, con guías de tamaño medio y ciclo de cultivo intermedio de 105 días de siembra a la madurez fisiológica, y resistente a BCMV y BCMNV. En un ensayo nacional de rendimiento y adaptación, Dalia mostró un rendimiento similar a Flor de Junio Marcela, la variedad dominante en el mercado, pero en contraste con ésta, una nula interacción genotipo por ambiente, lo que indicó amplia adaptación y estabilidad de rendimiento. Dalia se recomienda para producción bajo riego y temporal en las regiones de El Bajío y el Altiplano del centro de México.

### **Abstract**

Flor de Junio has grains of cream colored background with pink stripes; it is produced and consumed in the central region of Mexico. We describe the process for its gathering and Dalia's features, a new variety of bean grain, Flor de Junio type, Jalisco race, obtained from the cross of Flor de Junio Silvia X Flor de Mayo Anita performed in the Bajío Experimental Field in 2003. The selection process was initially based on health and the cycle of the plant, as well as the commercial properties in grain crops under alternative irrigation and rainfed conditions. In its final phase, we conducted an assisted molecular marker selection (AMS) for selecting the offspring that had simultaneously the markers ROC11 and SW13, linked to genes *I* and *bc3*, whose pyramiding confers resistance to all pathotypes of BCMV and BCMNV viruses. Dalia has an indeterminate growth habit type 3, with medium size guides and intermediate growing season with 105 days from sowing for physiological maturity and is resistant to BCMV and BCMNV. In a national assessment of yield and adaptation, Dalia showed similar yielding of Flor de Junio Marcela, the dominant variety within the market, but contrasting with this, a none existent G\*E interaction, which indicated a high adaptation and yield stability. Dalia is recommended for irrigated and rainfed production in the regions of El Bajío and highlands of central Mexico.

\* Recibido: junio de 2013  
Aceptado: enero de 2014

**Palabras clave:** *Phaseolus vulgaris* L., adaptación y estabilidad, resistencia a enfermedades, SAM.

## Introducción

El frijol tipo Flor de Junio de raza Jalisco (Singh *et al.*, 1991), se produce durante el ciclo primavera-verano en las regiones del altiplano central y semiárido de México, principalmente en los estados de Guanajuato y Zacatecas. En el Bajío su producción se realiza en condiciones de riego con siembras al final de Febrero y en temporal con siembras de fines de junio a mediados de julio. En el ciclo otoño-invierno, también se produce en el estado de Nayarit bajo condiciones de riego y humedad residual.

En el tipo de frijol flor junio sólo se ha registrado una variedad mejorada: Flor de Junio Marcela (FJM) (Castellanos *et al.*, 2003a). FJM se desarrolló para las condiciones de riego del Bajío. Sin embargo, por la alta demanda de su grano, también se produce bajo temporal en la región semiárida de Guanajuato, San Luis Potosí y Zacatecas, principalmente. Debido a las características de su grano, de tamaño mediano, forma ovalada y de fondo crema con franjas rosa, FJM es la variedad de su tipo dominante en el mercado, y es un progenitor irremplazable en el programa de mejoramiento genético del Campo Experimental Bajío (CEBAJ) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

Sin embargo, FJM tiene algunas características indeseables como la susceptibilidad a la roya (*Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus*) y a otras enfermedades que se presentan en las condiciones de temporal, por lo que su uso como progenitor es limitado debido al bajo número de progenies obtenidas con las características del grano y la resistencia a enfermedades deseadas. El uso de germoplasma de frijol con una diversidad genética reducida es un cuello de botella para el mejoramiento genético (Singh, 2001).

## Origen

Dalia, se derivó de la cruce simple de Flor de Junio Silvia (FJS), línea hermana de FJM por Flor de Mayo Anita (FMA) (Castellanos *et al.*, 2003b). La cruce se realizó en el CEBAJ en siembras en condiciones de riego en 2003 (Cuadro 1). FMA es resistente a enfermedades y posee el gen *I*, que confiere resistencia al Virus del Mosaico Común del Frijol

**Key words:** *Phaseolus vulgaris* L., adaptation and stability, disease resistance, AMS.

## Introduction

The bean, Flor de Junio type, Jalisco race (Singh *et al.*, 1991), is produced during the spring-summer cycle in the central highlands and semiarid regions of Mexico, mainly in the States of Guanajuato and Zacatecas. In El Bajío, its production is under irrigation with sowings at the end of February and, under rainfed conditions, in late June to mid-July. In the autumn-winter cycle, it is also produced in Nayarit under irrigated and residual moisture conditions.

In the bean, Flor de Junio type, only one improved variety has been recorded: Flor de Junio Marcela (FJM) (Castellanos *et al.*, 2003a). FJM was developed for the irrigated conditions in El Bajío. Nevertheless, due to the high demand for its grain, it is also produced under rainfed in the semiarid region of Guanajuato, San Luis Potosí and Zacatecas. Due to the characteristics of its grain, of medium-sized, oval-shape and of cream colored background with pink stripes, FJM is the dominant variety of its kind on the market, and is an irreplaceable parent in the breeding program of the El Bajío Experimental Field (CEBAJ) of the National Research Institute for Forestry, Agriculture and Livestock (INIFAP).

However, FJM has some undesirable traits, such as the susceptibility to rust (*Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus*) and other diseases existent under rainfed conditions, for this reason, its use as a parent is limited, due to the low number of progenies obtained with grain characteristics and desired disease resistance. Using bean germplasm with reduced genetic diversity is indeed a bottleneck for genetic improvement (Singh, 2001).

## Origin

Dalia, was obtained from the single cross of Flor de Junio Silvia (FJS), sister line of FJM X Flor de Mayo Anita (FMA) (Castellanos *et al.*, 2003b). The cross was made in the CEBAJ, in sowings under irrigated conditions in 2003 (Table 1). FMA is resistant to diseases and has the *I* gene, which confers resistance to common mosaic virus of Bean

(BCMV), y es probable que el progenitor femenino FJS posea los genes *I* y *bc3* que confieren resistencia a BCMV y al Virus Necrótico del Mosaico Común del Frijol (BCMNV) ya que FJM los posee (Castellanos *et al.*, 2003a).

(BCMV), and it is likely that the FJS female parent has the *K* and *bc3* genes that confer resistance to BCMV and the Common Necrotic Mosaic Virus of Bean (BCMNV) since FJM has them (Castellanos *et al.*, 2003a).

#### Cuadro 1. Descripción del proceso de obtención de la variedad Dalia.

Table 1. Description of the process for obtaining the variety Dalia.

Año	Actividad	Descripción
2003	Cruzamiento	Cruza entre los progenitores Flor de Junio Silvia (FJS) y Flor de Mayo Anita (FMA).
2004-2005	Selección individual	Siembra de poblaciones y familias segregantes en generaciones F <sub>2</sub> a F <sub>6</sub> para selección de plantas individuales en surcos con plantas de mayor vigor y sanidad.
2006-2007	Líneas en generación avanzada	Evaluación preliminar y estatal de líneas e identificación de la línea (FJS/FMA)-M-17-10, con características agronómicas superiores.
2008-2010	Pruebas de rendimiento	Codificación de líneas y conducción de ensayos de rendimiento en diversos ambientes que incluyeron a la línea FMB 08004.
2010	Análisis de datos	La línea FJB 08004 mostró alto rendimiento, estabilidad y amplia adaptación (baja interacción con el ambiente).
2011	Caracterización molecular	Ánalisis molecular de 340 plantas individuales con los marcadores específicos ROC11 y SW13 asociados a genes de resistencia al Virus del Mosaico Común ( <i>gen I</i> ) y Necrótico ( <i>gen bc3</i> ). Multiplicación de semilla de 206 progenies uniformes para los genes mencionados.
2012	Registro de la variedad Dalia	Descripción varietal para registro ante SNICS y multiplicación de semilla básica en condiciones de riego.

La selección de Dalia se realizó en el CEBAJ en condiciones de riego y temporal en dos generaciones alternas por año. Entre la generación temprana F<sub>2</sub> y la intermedia F<sub>6</sub>, la selección se hizo con base en la sanidad de las plantas, la carga de vainas y las características del grano. A partir de la generación F<sub>3</sub> la selección de Dalia fue entre y dentro de las familias, y en F<sub>8</sub> se consideró fenotípicamente uniforme, por lo que se incorporó con otras 34 líneas F<sub>8</sub> en un ensayo preliminar de rendimiento durante el ciclo primavera- verano 2006.

#### Características de la planta

La planta de Dalia es de hábito indeterminado-postrado, tipo 3, con guías de tamaño medio, follaje verde oliva y flores blancas. Cuando se siembra en suelo húmedo en febrero la emergencia ocurre a los 12 días, mientras que en el ciclo primavera- verano, requiere alrededor de siete. Dalia es de ciclo intermedio con alrededor de 50 y 105 días a la floración y madurez fisiológica, respectivamente; su planta es de menor volumen que la de FJM, por lo cual se adapta bien a las siembras a doble hilera en surcos de 0.9 a 1 m de ancho, y en triple hilera a 40 cm en camas de 1.6 m. La madurez

The selection of Dalia was made in the CEBAJ, under irrigation and rainfed conditions in two alternate generations per year. Within the early generation, F<sub>2</sub> and the intermediate F<sub>6</sub>, the selection was based on the health of the plants, pods number and the grain characteristics. From the generation F<sub>3</sub>, Dalia selection was between and within the families, and in F<sub>8</sub> was considered phenotypically uniform, for this reason it was joint with other 34 F<sub>8</sub> lines, in a preliminary yield trial during the spring- Summer, 2006 cycle.

#### Plant characteristics

Dalia is of indeterminate-prostrates habit, type 3, with medium size guides, olive green foliage and white flowers. When sowed in humid soil in February, the emergence occurs at 12 days, while in the spring-summer cycle requires about seven. Dalia is of intermediate cycle with about 50 to 105 days to flowering and physiological maturity, respectively; the plant is smaller in volume than FJM's, so it is well suited for double-row sowing in furrows of 0.9 to 1 m wide, and in three-row of 40 cm on beds of 1.6 m. Physiological maturity happen five days earlier than FJM's. Besides being resistant

fisiológica ocurre cinco días antes que la de FJM. Además de ser resistente al BCMV y BCMNV, Dalia tiene una resistencia similar a FMA, y mayor resistencia que FJM a enfermedades del follaje como tizón de halo, tizón común y roya.

### **Adaptación y rendimiento**

A partir de 2007 la línea que dio origen a la variedad Dalia se codificó como FJB 08004, y se comenzó a evaluar su adaptación y rendimiento en diversas localidades de riego y temporal en el país. Las evaluaciones se realizaron entre los años 2007 y 2009 en 15 combinaciones localidad año. Con la información recabada se estimó la interacción del genotipo con el ambiente. Aunque el rendimiento promedio de FJB 08004 ( $1881 \text{ kg ha}^{-1}$ ) y FJM ( $1733 \text{ kg ha}^{-1}$ ) en los distintos ambientes fue similar, la interacción de FJB 08004 con el ambiente fue baja; es decir, que su respuesta de rendimiento fue estable a través de las combinaciones en las distintas localidades durante los años de evaluación, mientras que FJM y FJS tuvieron una alta interacción con el ambiente (Acosta *et al.*, 2012). La respuesta mostrada por Dalia coincide con la descripción de variedad ideal como fue descrita por Rao y Prabhakaran (2005).

En el caso del frijol negro opaco producido en la región del Trópico Húmedo de México, la amplia adaptación y estabilidad del rendimiento depende en parte de la resistencia múltiple a enfermedades y la tolerancia a los suelos ácidos (López *et al.*, 2003). Estos autores han observado una relación negativa de valor intermedio entre la incidencia de enfermedades, como la mancha angular (*Phaoisariopsis griseola*) y la roya, con el rendimiento. La resistencia a enfermedades es esencial para que los genotipos de frijol muestren estabilidad, una característica equivalente a la homeostasis a través del tiempo (Bruzi *et al.*, 2007).

### **Selección asistida con marcadores moleculares**

En 2011, después de haber comprobado la amplia adaptación y estabilidad de rendimiento de FJB 08004 (Acosta *et al.*, 2012), se sometió a esta línea a un proceso de SAM para identificar plantas con los genes *I* y *bc3*. La ocurrencia de ambos genes proporciona resistencia universal a las cepas del BCMV y BCMNV (Kelly *et al.*, 1995). Para ello, se seleccionaron y marcaron en campo 340 plantas de la línea FJB 08004 establecidas en condiciones de riego en el CEBAJ en febrero de 2011. De cada planta se tomó tejido de hojas jóvenes para la extracción de ADN siguiendo el procedimiento de Doyle y Doyle (1990). Para cada planta se amplificaron

to BCMV and BCMNV, Dalia has a resistance similar to FMA's, and better resistance than FJM's to foliage diseases, such as halo blight, common blight and rust.

### **Adaptation and yield**

From 2007, the line that created the variety Dalia was coded as FJB 08004, and we began assessing its adaptation and yield in several locations under rainfed and irrigation conditions through the country. The evaluations were conducted between 2007 and 2009 in 15 town/year combinations. With the information gathered, we estimated the genotype interaction with the environment. Although, the average yield of FJB 08004 ( $1881 \text{ kg ha}^{-1}$ ) and FJM ( $1733 \text{ kg ha}^{-1}$ ) in the environments was indeed similar; the FJB 08004 interaction with the environment was low; *i.e.* its yield response was stable across the combinations in different localities during the years of assessment, while FJM and FJS presented a high interaction with the environment (Acosta *et al.*, 2012). The response shown by Dalia matches the description of ideal variety as described by Rao and Prabhakaran (2005).

In the case of opaque black bean produced in the Wet Tropics region of Mexico, the wide adaptation and yield stability depends in part on multiple disease resistance and tolerance to acid soils (López *et al.*, 2003). These authors observed a negative relationship of intermediate value between the incidence of diseases such as angular leaf spot (*Phaoisariopsis griseola*) and rust, with yield. Disease resistance is essential for the stability of beans, a characteristic equivalent to homeostasis through time (Bruzi *et al.*, 2007).

### **Assisted selection with molecular markers**

In 2011, after proving the wide adaptation and yield stability of FJB 08004 (Acosta *et al.*, 2012), this line was underwent through an AMS process in order to identify plants with genes *I* and *bc3*. The occurrence of both genes provide universal resistance to BCMV and BCMNV strains (Kelly *et al.*, 1995). For this, we selected and marked in field 340 plants from the line FJB 08004 established under irrigated conditions in the CEBAJ, in February, 2011. From each plant, young leaf tissue was taken for DNA extraction following the method of Doyle and Doyle (1990). For each plant, DNA fragments were amplified defined by the oligonucleotides SW13 and ROC11, linked to the presence of genes *I* and *bc3*, respectively (Johnson *et al.*, 1997). Of the 340 plants, 206 showed the presence of the two amplified DNA fragments associated with the mentioned genes (Figure 1).

los fragmentos de ADN definidos por los oligonucleótidos SW13 y ROC11, ligados a la presencia de los genes *I* y *bc3*, respectivamente (Johnson *et al.*, 1997). De las 340 plantas, 206 mostraron la presencia amplificada de los dos fragmentos de ADN asociados a los genes en cuestión (Figura 1).

La semilla proveniente de las plantas con ambos marcadores se estableció en campo bajo condiciones de riego en el ciclo primavera- verano 2011 en un surco de 6 m de longitud para su incremento. Al tiempo que se realizó el incremento, se verificaron en el campo las características agronómicas de cada progenie, principalmente la fenología y la sanidad, y después de la cosecha se comparó su grano. Para confirmar la resistencia al BCMV y BCMNV se tomaron al azar 30 de las progenies que presentaron ambos marcadores para inocularlas artificialmente en condiciones controladas en invernadero con una cepa de cada uno de los virus, BCMV y BCMNV.

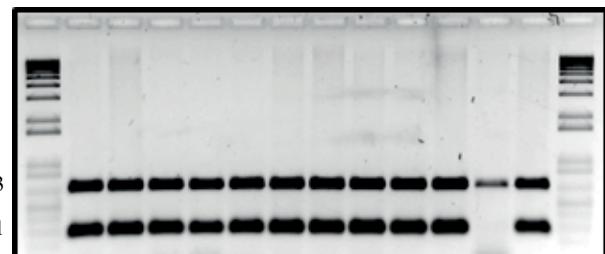
Todas las progenies mostraron reacción de resistencia. Adicionalmente se tomaron al azar tres plantas de 36 progenies para verificar la presencia de ambos marcadores mediante el método descrito. Todas las plantas analizadas presentaron los dos marcadores. La semilla original de la variedad Dalia se derivó de juntar la semilla cosechada de 160 surcos individuales y la nueva versión de Dalia se incluyó en ensayos de rendimiento bajo riego y temporal en 2012 con resultados similares a los obtenidos con anterioridad.

### Disponibilidad de semilla

La semilla original de Dalia se conserva en el Programa de Frijol y Garbanzo del CEBAJ, donde también se cuenta con semilla de categoría básica para su venta a compañías productoras de semilla y organizaciones de productores.

### Agradecimientos

Los autores(a) agradece el financiamiento parcial para realizar la investigación que condujo a obtener la variedad de frijol Dalia a las siguientes instituciones a través de los proyectos: "Desarrollo de Variedades de frijol de los tipos Flor de Junio y Azufrados de alto rendimiento para riego y temporal" (CONCYTEG clave: 02-24-210-055); "Mejoramiento del cultivo del frijol en Guanajuato" (Fundación Guanajuato Produce, A.C. Folio FGP: 492/08, y Folio SIFP: 11-2008-0593); "Desarrollo de variedades de frijol de alto rendimiento, tolerantes a sequía, resistentes



**Figura 1. Fotografía representativa de los productos de amplificación de los marcadores SW13 y ROC11 que denotan la presencia de los genes *I* y *bc3*.** El primero y último carril corresponde al marcador de peso molecular 1Kb Plus, los demás carriles a diversas plantas. Se observa que una de ellas no presenta el marcador del gen *bc3*.

**Figure 1. Representative photograph of the amplification products of the SW13 and ROC11 markers that emit the presence of the genes *I* and *bc3*.** The first and last lane corresponds to molecular weight marker 1 Kb Plus, the other lanes to several plants. It is observed that one of them did not had the gene marker *bc3*.

The seeds from plants with both markers were established under irrigation in the spring-summer cycle, 2011 in a furrow of 6 m in length. The field agronomic traits of each offspring were verified, mainly the phenology and health, and after the harvest we compared its grain. In order to confirm the resistance of BCMV and BCMNV, 30 progenies that showed both markers were randomly selected for artificially inoculating them in controlled greenhouse conditions with a strain of each virus.

All progenies showed resistance reaction. Additionally three plants were randomly taken of the 36 progenies, for verifying the presence of both markers. All the plants analyzed showed both markers. The original seed of Dalia was obtained from gathering seeds of 160 individual furrows and, the new version of Dalia was included in yield trials under irrigation and rainfed conditions in 2012 with similar results to those previously obtained.

### Seed availability

The original seed of Dalia is preserved in the Bean and Chickpea Program of the CEBAJ, which also has basic category seed for sale to seed producing companies and producer's organizations.



a patógenos y con la calidad que demanda el consumidor" (SAGARPA-2009-109621). A la Dra. Laura Silva R. (CINVESTAV-Irapuato) y a la M. en C. Bertha Ma. Sánchez G. (ex INIFAP) por apoyo técnico en el manejo de la inoculación con los potyvirus BCMV y BCMNV.

## Literatura citada

- Acosta-Gallegos, J. A.; Espinoza-Trujillo, E.; Sánchez-García, B. M.; Jiménez-Hernández, Y.; Salinas-Pérez, R. A.; Rosales-Serna, R.; Zandate-Hernández, R. and González-Rivas, C. 2012. Adaptability of the flor de junio dry bean type to different environments in Mexico. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 15:427-438.
- Bruzi, A. T.; Ramalho, M. A. P.; Abreu, A. F. B.; Ferreira, D. F. and Sena, M. R. 2007. Homeostasis of common bean populations with different genetic structures. *Crop Breed. Appl. Biot.* 7:111-116.
- Castellanos-Ramos, J. Z.; Guzmán-Maldonado, S. H.; Kelly, J. D. and Acosta-Gallegos, J. A. 2003a. Registration of 'Flor de Junio Marcela' common bean. *Crop Sci.* 43(3):1121-1122.
- Castellanos-Ramos, J. Z.; Guzmán-Maldonado, H.; Muñoz-Ramos, J. J. y Acosta-Gallegos, J. A. 2003b. Flor de Mayo Anita, nueva variedad de frijol para la región Central de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 26(3):209-211.
- Doyle, J. J. and Doyle, H. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus.* 12:13-15.
- Johnson, W. C.; Guzmán, P.; Mandala, D.; Mkandawire, A. B. C.; Temple, S.; Gilbertson, R. L. and Gepts, P. 1997. Molecular tagging of the bc-3 gene for introgression into andean common bean. *Crop Sci.* 37(1):248-254.
- Kelly, J. D.; Afanador, L. and Haley, S. D. 1995. Pyramiding genes for resistance to bean common mosaic virus. *Euphytica* 82:207-212.
- López, E.; Tosquy, O. H.; Villar, B.; Becerra, E. N. and Ugalde, F. J. 2003. Adaptación, resistencia múltiple a enfermedades y tolerancia a suelos ácidos en genotipos de frijol. *Agron. Mesoamer.* 14(2):151-155.
- Rao, A. R. and Prabhakaran, V. T. 2005. Use of AMMI in simultaneous selection of genotypes for yield and stability. *J. Ind. Soc. Agric. Statist.* 59(1):76-82.
- Singh, S. P.; Gepts, P. and Debouck, D. G. 1991. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Econ. Bot.* 45:379-396.
- Singh, S. P. 2001. Broadening the genetic base of common bean cultivars. *Crop Sci.* 41(6):1659-1675.