



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS PUEBLA

**POSTGRADO EN
ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL**

**DIVERSIDAD AGRONÓMICA, MORFOLÓGICA Y MOLECULAR EN
VARIEDADES NATIVAS DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.)
CULTIVADAS POR AGRICULTORES EN EL ESTADO DE PUEBLA**

ANA ROSA RAMÍREZ PÉREZ

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRA EN CIENCIAS

**Puebla, Puebla
2011**



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS
CAMPECHE-CÓRDOBA-MONTECILLO-PUEBLA-SAN LUIS POTOSÍ-TABASCO-VERACRUZ

CAMPUE- 43-2-03 ANEXO

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, la que suscribe **Ana Rosa Ramírez Pérez** alumno de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección del Profesor **Dr. Ramón Díaz Ruiz** por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **Diversidad agronómica, morfológica y molecular en variedades nativas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas por agricultores en el estado de Puebla** y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, el Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Puebla, Puebla 22 de julio de 2011

Ana Rosa Ramírez Pérez

Vo. Bo. Dr. Ramón Díaz Ruiz
Profesor Consejero o Director de Tesis

La presente tesis, titulada: **Diversidad agronómica, morfológica y molecular en variedades nativas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas por agricultores en el estado de Puebla**, realizada por la alumna: **Ana Rosa Ramírez Pérez**; bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS

ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

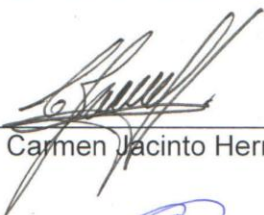
CONSEJO PARTICULAR

Consejero:



Dr. Ramón Díaz Ruiz

Asesora:



Dra. Carmen Jacinto Hernández

Asesor:



Dr. Juan Alberto Paredes Sánchez

Asesor:



Dr. Ramón Garza García

Puebla, Puebla, 22 de julio de 2011

DIVERSIDAD AGRONÓMICA, MORFOLÓGICA Y MOLECULAR EN VARIETADES NATIVAS DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) CULTIVADAS POR AGRICULTORES EN EL ESTADO DE PUEBLA

Ana Rosa Ramírez Pérez, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2011

RESUMEN

El frijol común representa un cultivo básico en México con una gran variabilidad en sus características morfológicas y moleculares. La descripción del germoplasma de una especie en las regiones donde se cultiva es el primer paso que permite conocer las características principales de las variedades que lo forman, para así propiciar un sistema integral que vincula el estudio experimental con la aplicación de los conocimientos a beneficio del productor. En éste trabajo se hizo la evaluación en campo de 100 variedades de frijoles nativos provenientes de diferentes comunidades del estado de Puebla, éstas presentaron diferencias en el rango de rendimiento, cual permitió hacer una selección de 35 variedades para ser evaluadas bajo invernadero, lo cual también mostró diferencias significativas en la expresión de los caracteres morfológicos cuantitativos y cualitativos, así como en los componentes del rendimiento de estas variedades. Posteriormente se caracterizaron 27 variedades de frijoles, mediante 7 marcadores tipo RAPD de la serie OPERON Technologies. Las bandas polimórficas se codificaron por presencia y ausencia. Con el programa NTSYS pc 2.2 se generó un dendograma construido a partir de los valores del índice de similitud de Dice, con nivel de corte a un valor de 0.48, donde se definieron 13 grupos. Seis grupos estuvieron integrados por una variedad, 4 grupos por 2 variedades, 2 grupos por 3 variedades y un grupo formado por 7 variedades. Los grupos definidos se integraron por colores de grano distintos y coincidieron en otras características morfológicas como edad a floración, tiempo de cocción y contenido de proteína.

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris* L., marcadores morfológicos, RAPD, variedades nativas.

DIVERSITY AGRONOMIC, MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR IN NATIVE VARIETIES OF BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.) CULTIVATED BY FARMERS IN THE STATE OF PUEBLA

Ana Rosa Ramírez Pérez, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2011

ABSTRACT

The common bean is a staple crop in Mexico with a great variability in morphological and molecular characteristics. The description of the germplasm of a species in the growing regions is the first step that allows to know the main characteristics of the varieties that form in order to promote an integrated system linking experimental study with the application of knowledge for the benefit of producer. In this work was the field evaluation of 100 native varieties of beans from different communities in the state of Puebla, they differed in the range of performance, which allowed for a selection of 35 varieties to be evaluated in a greenhouse, which also showed significant differences in the expression of quantitative and qualitative morphological characters and yield components in these varieties. Subsequently, 27 varieties of beans characterized by markers RAPD type 7 series Operon Technologies. The polymorphic bands were coded for presence and absence. The program NTSYS pc 2.2 is generated a dendrogram constructed from the values of the Dice similarity index, with clipping level to a value of 0.48, which defined 13 groups. Six groups were composed of a variety, 4 groups of 2 varieties, 2 varieties and 3 groups by a group of 7 varieties. Defined groups are composed of different grain colors and agreed on other morphological characteristics such as age at flowering, cooking time and protein content.

Keywords: *Phaseolus vulgaris* L., marker morphological, RAPD, native varieties.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca que me permitió realizar mis estudios, dándome la oportunidad de seguir adelante en mi formación.

Al programa en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional del Colegio de Postgraduados *Campus* Puebla, por haberme aceptado como estudiante de maestría, la cual cursé en un agradable ambiente de compañerismo y solidaridad.

Al Laboratorio de Calidad de frijol del Instituto CEVAMEX-INIFAP, por permitirme la realización de parte de este trabajo.

A los integrantes de mi consejo particular:

Dr. Ramón Díaz Ruiz: Por haberme brindado la oportunidad de ser mi tutor y guía, por su brillante dirección de este trabajo, por trasmitirme parte de sus conocimientos y por haber tenido la paciencia necesaria para ayudarme.

Dra. Carmen Jacinto Hernández: Una mujer admirable a la que agradezco por su dedicación para asesorar esta tesis y haberle dedicado parte de su valioso tiempo, por la confianza y el apoyo que recibí en todo momento con amabilidad, respeto y sobre todo con gran calidad humana.

Dr. Juan Alberto Paredes Sánchez: Por su grata colaboración, por su apoyo, por sus valiosas aportaciones y sus consejos sobre este trabajo.

Dr. Ramón Garza García: Por su apoyo y por sus valiosos consejos sobre este trabajo.

También deseo agradecer a la Dra. Juana Cervantes Vargas, sinodal encargada de revisar este trabajo, que amablemente dedicó parte de su valioso tiempo.

A todos y cada uno de mis maestros, por todas sus enseñanzas y sabios consejos en este trayecto.

Al Dr. Samuel Vargas López: Por su enseñanza, su atención y accesibilidad al dedicarme parte de su valioso tiempo.

A Mago, a Malú y a Lupita, por su amabilidad y por su valiosa ayuda en todos los trámites y papeleos.

A mi hermana Vero, que siempre ha sido mi apoyo en todo lo que hago.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	4
III. HIPÓTESIS	5
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	
4.1. Conservación de los recursos genéticos	6
4.2. Diversidad del cultivo de frijol	7
4.3. Marcadores morfológicos	8
4.4. Marcadores moleculares	10
4.5. Fragmentos polimórficos de ADN Amplificados al Azar (RAPD) --	11
4.6. Características culinarias y contenido nutricional de los frijoles --	11
V. MATERIALES Y MÉTODOS	
5.1. Procedencia de las colectas	14
5.2. Lugar del establecimiento del experimento en campo	15
5.2.1. Características geográficas del municipio Tulcingo del Valle --	15
5.2.2. Diseño del experimento en campo	17
5.2.3. Variables de estudio	17
5.3. Instalación de experimento en invernadero	18
5.3.1. Variables vegetativas	19
5.3.2. Variables reproductivas	20
5.4 Trabajos realizados en el laboratorio	21
5.4.1 Extracción de ADN	21
5.4.2. Protocolo de extracción de ADN	22
5.4.3. Calidad del ADN	22
5.4.4. Cantidad del ADN	23

5.4.5. Utilización de marcadores RAPD	-----	23
5.4.6. Amplificación de ADN	-----	24
 VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		
6.1. Descripción de las accesiones de frijol obtenidas de los Agricultores	-----	25
6.1.1 Resultados de las variedades de frijol sembradas en campo	--	25
6.2. Resultados de experimento bajo invernadero	-----	29
6.2.1. Caracteres cualitativos	-----	29
6.2.2. Caracteres cuantitativos	-----	32
6.3. Diversidad de variedades analizadas en laboratorio	-----	40
6.3.1. Análisis de datos de laboratorio. .Sistema de notación de bandas de marcadores RAPD	-----	41
6.3.2. Diversidad de frijoles nativos de diferentes regiones del Estado de Puebla	-----	42
6.4 Propuesta estratégica de investigación (generación de conocimiento científico) para el mejoramiento genético en frijol---		46
6.4.1. La estrategia de Investigación (generación de conocimiento científico)	-----	47
6.4.2. Para la realización de la estrategia se proponen las siguientes fases	-----	48
 VII. CONCLUSIONES		
	-----	52
 VIII. LITERATURA CITADA		
	-----	53
 IX. ANEXOS		
Anexo 1	-----	59
Anexo 2	-----	60
Anexo 3	-----	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización geográfica del municipio de Tulcingo del Valle, Pue.--	14
Figura 2. Instalación del experimento en invernadero -----	19
Figura 3. Cantidad y calidad de ADN de las accesiones de frijol colectadas -	21
Figura 4. Diversidad de variedades de frijol evaluadas en laboratorio -----	40
Figura 5. Dendograma generado a partir de 27 variedades de frijol -----	41

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Nutrimientos en grano seco de frijol -----	13
Cuadro 2. Intervalos promedio de tiempos de cocción en frijol -----	13
Cuadro 3. Componentes del Volumen Final de Reacción (VFR) -----	24
Cuadro 4. Programa de amplificación para los marcadores RAPD -----	24
Cuadro 5. Rendimiento en grano y vaina en las variedades de frijol sembradas en campo -----	26
Cuadro 6. Coeficientes de correlación Pearson en rendimiento y vainas --	28
Cuadro 7. Coeficientes de correlación Pearson en vainas buenas, malas y grano bueno -----	28
Cuadro 8. Color de cotiledón y flor, hábito de crecimiento de la planta y raíz-	29
Cuadro 9. Morfología de las vainas bajo invernadero -----	31
Cuadro 10. Rendimiento de grano, número y peso de vainas buenas formadas en los diferentes cultivares de frijol bajo invernadero --	32
Cuadro 11. Dimensiones de vainas y semillas formadas en los cultivares de frijol bajo invernadero -----	33
Cuadro 12. Días a emergencia, longitud y diámetro de epicótilo e hipocótilo en etapa vegetativa 3 de cultivares de frijol bajo invernadero --	34
Cuadro 13. Aparición de primer botón, flor y vaina y dimensiones de flor -	36
Cuadro 14. Características de la planta -----	37
Cuadro 15. Tiempo de cocción en el frijol -----	38
Cuadro 16. Contenido de proteína -----	39

I. INTRODUCCIÓN

La diversidad de una especie en una región específica se debe conocer con la finalidad de aprovecharla, como puede ser la selección de materiales para hacer frente a las incertidumbres del ambiente. Diferentes variedades pueden tener diferencias morfológicas, moleculares y de calidad nutricional claramente diferenciadas, esta diversidad permite aprovechar los caracteres de interés por los agricultores. Los agricultores participan activamente en el manejo y aprovechamiento de la diversidad de las especies de manera tradicional. Esta diversidad es mantenida por el intercambio habitual con otros agricultores, que pertenecen a una misma localidad o localidades cercanas (Ehlers y Sterner, 2000).

La descripción del germoplasma de una especie en las regiones donde se cultiva es el primer paso que permite conocer las características principales de las variedades que lo forman. De esta manera, es factible dar respuesta a las preguntas de cuanta variación existe y como esta organizada, además de planear la mejor forma de utilizarla y determinar si son fuente potencial aceptable de caracteres agronómicos y de calidad nutricional.

En México la diversidad de frijoles es amplia al igual que lo es en el Estado de Puebla (Díaz *et al.* 2008) además, representa uno de los cultivos básicos incluido en la dieta alimenticia de los mexicanos. La diversidad de la especie se intensifica constantemente como respuesta al ambiente, por lo que es necesario describirla con el fin de aprovecharla racionalmente y satisfaga necesidades de los productores y consumidores. Aunado a esto, es importante considerar la amplitud existente en los componentes implicados en la calidad culinaria y el contenido de proteínas.

Las variedades del frijol actualmente cultivadas por los agricultores son el resultado de un proceso de domesticación y evolución (mutación, selección, migración y deriva génica), a partir de una forma silvestre (*Phaseolus vulgaris* var. *aborigineus*) (Brücher, 1988) procedente del continente americano, desde donde se extendió a todo el mundo, y en la cual se han ido produciendo cambios morfológicos, fisiológicos y genéticos (Gepts y Debouck., 1991) como respuesta a las exigencias humanas o del medio ambiente.

La fuerza del conocimiento tradicional de los agricultores deriva no solo de observaciones agudas, sino también de aprendizaje experimental (Altieri, 1999). La compilación de estos conocimientos tradicionales que poseen los agricultores es una necesidad importante, ya que han permitido a través del tiempo el mantenimiento de la diversidad. Aunado a lo anterior, los agricultores han generado conocimiento que les ha permitido mantener la especie y adaptarla a las condiciones donde viven, por ello es interesante rescatar el conocimiento que han generado para conjugarlo con el conocimiento actual y fortalecer el conocimiento de la diversidad de la especie para así poder hacer una utilización óptima del recurso.

La caracterización morfológica del germoplasma nativo forma parte de los trabajos iniciales en los estudios sobre diversidad y el propósito es ordenar la diversidad de una especie mediante sus caracteres morfológicos. La caracterización morfológica es directa y práctica ya que permite describir todos los caracteres cualitativos y cuantitativos del fenotipo. Recientemente dichos trabajos se han reforzado con la utilización de marcadores moleculares. Cuando se aplican ambos tipos de marcadores los resultados son más confiables. De esta manera el conocimiento obtenido sobre la caracterización del germoplasma de una especie aporta material definido que sobresale en ciertos caracteres y pueden ser utilizados como progenitores para iniciar un programa de mejoramiento genético. De igual forma se puede rescatar una variedad nativa con caracteres potenciales para la agronomía o la industria.

El germoplasma con el que los agricultores han convivido contiene caracteres que no son manejados por ellos, principalmente, los referentes a caracteres nutricionales. La identificación de tales características permite identificar materiales con calidad nutricional y no únicamente por rendimiento de grano, lo cual es factible interpretarlo como valor agregado de la especie. La descripción de las variedades a nivel de ADN proporciona información al mejorador de plantas para que seleccione progenitores que contengan genes de interés (Nuez *et al.*, 2000). Entre los marcadores moleculares de ADN utilizados en los estudios de caracterización se encuentran los RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), los microsatélites y los AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism). Los marcadores RAPD son dominantes y el polimorfismo entre los individuos resulta de los cambios en las

secuencias en uno o ambos lados del genoma reconocidos por un iniciador lo cual se traduce en la presencia o ausencia de bandas (Rafalski *et al.*, 1994).

El conocimiento de la diversidad que se obtenga de frijoles en Puebla mediante la utilización de marcadores morfológicos y moleculares ayudará a tener un mejor aprovechamiento del germoplasma partiendo de su evaluación y caracterización que permita planear futuros trabajos encaminados a un programa de selección asistida por marcadores moleculares y mediante la aplicación de métodos de mejoramiento tradicional de la especie, siendo lo más congruente la combinación de ambos métodos de mejoramiento.

En Puebla los trabajos en frijol sobre caracterización son mínimos, solo se han descrito cultivares con base a caracteres agronómicos en la región del Tetzco (Herrera *et al.*, 1993). La investigación propuesta proporcionará información detallada del germoplasma de frijol existente en diferentes regiones de Puebla que será caracterizada a nivel morfológico y de su ADN (ácido desoxiribonucleico). El tipo de marcadores moleculares (RAPD, Random Amplified Polimorphic DNA) contemplados para realizar la caracterización son recomendados para este tipo de trabajos por lo que se garantiza obtener información confiable.

El estudio de la diversidad de la especie a través de las técnicas morfológicas y moleculares dará respuesta a las interrogantes ¿Cuánta variación existe? y ¿Cuáles son los caracteres destacables o potenciales de los cultivares? ofreciendo como resultado una descripción eficiente del germoplasma de frijol.

II. OBJETIVOS

Evaluar y seleccionar variedades de frijoles nativos cultivados en campo mediante caracteres agronómicos.

Describir la diversidad de cultivares de frijol por medio de caracteres morfológicos y agronómicos.

Conocer la diversidad de frijoles nativos a nivel de ADN utilizando marcadores tipo RAPD.

III. HIPÓTESIS

Las variedades de frijoles nativos presentan diferencias tangibles en la expresión de los caracteres agronómicos lo cual permite seleccionar variedades con rendimiento de grano significativo.

Las variedades de frijoles nativos muestran diferencias significativas en la expresión de los caracteres morfológicos cualitativos y cuantitativos.

A nivel molecular, los cultivares de frijoles presentan diferencias y similitudes detectadas por los marcadores tipo RAPD con diferencias mayores que las similitudes.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Conservación de los recursos genéticos

La conservación y utilización de los recursos genéticos es de importancia estratégica para la humanidad. Las regiones centro y sudamérica son consideradas como los centros de mayor diversidad biológica del mundo; de hecho varias especies de importancia agrícola, agroindustrial, medicinal y farmacológica se han originado en estas regiones (Becerra y Paredes, 2000).

El cultivo de las leguminosas ha involucrado de manera empírica un proceso dinámico de selección, conservando aquellas plantas que mejor se adaptaban a sus condiciones locales. Durante las últimas décadas, un cambio acelerado en el uso del suelo ha modificado progresivamente los agrosistemas tradicionales, como es el caso de los camellones chontales en el municipio de Nacajuca (Degand *et al.*, 1994), que tienden a desaparecer, acompañado de pérdida de diversidad genética de los cultivos involucrados en tales sistemas, especialmente maíz y frijol (Saury, 2006).

Las diferentes especies vegetales han estado sometidas a una activa interacción con el medio ambiente, lo cual ha generado un gran número de genotipos adaptados a diferentes condiciones locales, ampliando la diversidad genética. En las últimas décadas esta diversidad se ha visto severamente reducida por las exigencias del mercado y la disminución de los suelos cultivados. Ante esta situación, uno de los desafíos actuales es buscar la manera de incentivar la conservación y uso racional de los recursos genéticos (Becerra y Paredes, 2000).

Actualmente, se ha detectado una reducción en la frecuencia de los colores de frijoles cultivados en Puebla, así, de 14 registrados los frijoles rojos y gris listrado fueron los menos abundantes, hasta una frecuencia menor al 2% (Díaz *et al.*, 2008). Con la finalidad de mantener la diversidad de estos frijoles se debe buscar valor agregado que demande interés por los productores y los conserven en mayor abundancia.

4.2. Diversidad del cultivo de frijol

En el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) es posible encontrar poblaciones silvestres desde el estado de Chihuahua, en México, hasta el norte de Argentina. Los hallazgos arqueológicos y las evidencias científicas demuestran que existen dos centros primarios de domesticación y diversidad genética del frijol común, que son el mesoamericano y el andino (Koenig y Gepts, 1989; Debouck y Smartt, 1995, Payró, *et al.*, 2005). Los restos arqueológicos más antiguos de frijol fueron encontrados en la Cueva de Guitarrero en Perú (8 000 a 10 000 años) y en Tehuacán, Puebla, en México (6 000 años a.p.) (Gepts y Debouck, 1991).

En el país, se conoce como frijol a diferentes especies del género *Phaseolus*, entre las cuales las de mayor importancia económica son: *Phaseolus vulgaris* (frijol común), *P. coccineus* (frijol ayocote), *P. lunatus* (frijol lima) y *P. acutifolius* (frijol tépari). En el estudio sobre la diversidad genética del frijol común se han identificado cuatro razas, tres del acervo mesoamericano (Durango, Jalisco y Mesoamérica) y una del andino (Nueva Granada) (Singh *et al.*, 1991a; Rosales *et al.*, 2005).

En la evaluación de la diversidad genética del frijol se han utilizado descriptores morfológicos (Cárdenas, 1984 y 2000; Singh *et al.*, 1991a; Voysest, 2000; Rosales *et al.*, 2003), agronómicos (Rosales *et al.*, 2003 y 2005) y de rendimiento (Acosta *et al.*, 2004), así como marcadores bioquímicos (Singh *et al.*, 1991a, b; Avendaño, 2001) y moleculares, tales como RAPD (Beebe *et al.*, 2000), RFLP (Adam *et al.*, 1994), AFLP (Pallottini *et al.*, 2004; Rosales *et al.*, 2005) e ISSR (Rosales *et al.*, 2003; González *et al.*, 2005), y las secuencias de genes del núcleo ribosómico (Delgado *et al.*, 2006).

Los estudios sobre diversidad de los cultivos en una región proporcionan información importante que es factible de ser utilizada y aprovechada ya que se describen sus caracteres importantes, permitiendo su organización en grupos similares. Herrera *et al.* (1993) realizaron una colecta de frijoles en la región de la Cordillera del Tentzo, Puebla e identificaron un total de nueve colores donde predominó el tamaño de semilla pequeño en frijoles de mata y semilla mediana en frijoles de guía. En colectas de frijol realizadas en todo el estado de Puebla, se

registró la predominancia de frijoles con tamaño de semilla mediana (61%) seguida del tamaño mediano (47%), en relación a los colores los más frecuentes son negro (25%), crema (15%), amarillo mostaza (14%) y castaño (14%) (Díaz *et al.*, 2008). A diferencia de lo encontrado por Bascur y Tay (2005) en regiones de Chile donde predomina el tamaño de semilla grande seguido del mediano. Esto podría indicar que en cada región es posible encontrar una diversidad particular y una común a todas las regiones. Castillo *et al.* (2006), encontraron diversidad de frijol común en el Estado de México en los caracteres color y forma de semilla, edad a floración y número de semillas por vaina. De acuerdo a los mismos autores la diversidad encontrada se mantiene por el intercambio de semillas en mercados locales y al sistema de policultivos. El conocimiento obtenido de la diversidad del germoplasma de una especie aporta una reserva de genes que pueden ser utilizados en programas de mejoramiento genético.

Por otra parte, los programas de mejoramiento genético del frijol se han enfocado a la obtención de materiales con buenas características agronómicas, como alto rendimiento de grano por hectárea, tolerancia a condiciones ambientales adversas y patógenos, de ciclo vegetativo corto y uniformidad de planta y grano (Navarro, 1983).

4.3. Marcadores morfológicos

La importancia de los marcadores radica en que ofrecen la posibilidad de estudiar poblaciones de organismos y seleccionar los que tengan caracteres deseables para el hombre. Los marcadores morfológicos controlados por un gen son efectivos cuando su expresión es temprana, reproducible en cualquier ambiente y se encuentran ligados con el carácter de interés ya sea agronómico o industrial (Vázquez *et al.*, 2000). De la misma manera, son efectivos cuando son dominantes y facilitan la inserción en variedades nuevas.

El ligamiento entre marcadores morfológicos y caracteres deseables se observa en trigo donde el gen *Rg1* encargado del color rojo de la gluma está ligado con el gen *Yr10* responsable de la resistencia a la roya amarilla (Metzger y Silbaugh, 1970). El

gen *a* que provoca la carencia de antocianina en plántula de tomate se encuentra asociado al gen *Tm-2* que produce la resistencia al virus del mosaico del tabaco (Robinson *et al.*, 1970) y en melón, el gen *yg* encargado de la deficiencia de clorofila se asocia al gen *Fom-2* responsable de la resistencia a *Fusarium oxysporum melonis* (Pitrat, 1991).

La morfología de las especies se agrupa en caracteres constantes y variables que identifican la especie o la variedad, son de alta heredabilidad y sus efectos son debidos a pocos genes. Los caracteres variables se deben a la interacción genotipo por ambiente y, allí se pueden encontrar muchos genes interactuando (Weir, 1996). A su vez, Martínez (1995) se refiere a los marcadores morfológicos-cuantitativos, como aquellos caracteres que son el resultado de los efectos combinados de muchos genes y el ambiente y para su evaluación se requiere de una medida de conteo.

Una de las acciones más importantes en el manejo de germoplasma de algunos cultivos, es la medida y cuantificación de la variabilidad genética disponible en las especies. La investigación en agricultura puede estimar el potencial de las cosechas y sus limitaciones basadas en variabilidades producidas en los centros de domesticación y/u origen (Hidalgo, 1991)

Para Martínez (1995) son numerosas las variables, caracteres o parámetros para observar y detectar la variabilidad presente en las colecciones. Otros parámetros como los marcadores genéticos reflejan la variabilidad debida principalmente a los genes. Los marcadores morfológicos de la planta de frijol, estudian los caracteres de cada órgano; su evaluación facilita una mejor comprensión de la planta en su totalidad (Debouck, 1985).

La eficiencia de cualquier programa de mejoramiento se puede medir por su capacidad para generar variabilidad en la intensidad y en la dirección requeridas. Inicialmente se debe partir de la variación existente en las colectas locales o en los bancos de germoplasma nacionales e internacionales (Robles, 1986).

4.4. Marcadores moleculares

En la década de los 50's la electroforesis comenzó a ser utilizada en estudios de diversidad genética. Actualmente, los avances en biología molecular han incorporado nuevos marcadores, de naturaleza molecular y de mayor sensibilidad para detectar cambios en el genotipo de los individuos, situación que ha permitido grandes avances en este tipo de estudios (Becerra y Paredes, 2000)

Los marcadores moleculares tienen ventajas sobre los marcadores morfológicos tales como la abundancia en una población segregante, son neutros y no son afectados por el ambiente (Nuez *et al.*, 2000). Aunado a esto, este tipo de marcadores permite trabajar en las primeras etapas de desarrollo de las plantas lo cual permite ganar tiempo en el proceso de mejoramiento.

El polimorfismo basado en proteínas ha sido de gran utilidad en las investigaciones realizadas en plantas, pero con el desarrollo de las tecnologías basadas en ADN, la investigación en esta área se ha visto favorecida con la disponibilidad de una mayor cantidad de marcadores, aquellos basados en Fragmentos de Restricción Polimórficos (RFLP) y en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Ambas técnicas han derivado en múltiples técnicas como son la Amplificación de ADN al Azar (RAPD), Fragmentos Polimórficos de ADN Amplificados (AFLP), minisatélites (VNTR) y microsatélites (SSR), entre otros (Becerra y Paredes, 2000).

En un estudio realizado por Avendaño *et al.* (2004) sobre diversidad enzimática en poblaciones nativas de frijol negro con muestras de diferentes estados de la Republica Mexicana, encontraron que en poblaciones provenientes de los estados de México, Veracruz y Puebla muestran una amplia diversidad genética, lo cual podría deberse a la amplitud de nichos ecológicos y a la diversidad de condiciones climáticas y edáficas existentes, tal diversidad no fue encontrada para el estado de Tabasco en un estudio de variabilidad morfológica y molecular de cultivares criollos y mejorados realizado por Vidal *et al.* (2006), el estado de Tabasco, no es considerado como una zona de diversidad de frijol en el país.

4.5. Fragmentos polimórficos de ADN Amplificados al Azar (RAPD)

Recientemente, se ha desarrollado una serie de técnicas basadas en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (White *et al.*, 1989). El principio de esta técnica se basa en la amplificación al azar de fragmentos de ADN usando un iniciador, ADN genómico molde, nucleótidos, cloruro de magnesio y *Taq* ADN polimerasa. Esta reacción es sometida a diferentes condiciones cíclicas de temperatura, lo que permite la amplificación *in vitro* de múltiples fragmentos de ADN a partir de una cadena molde. Estos productos son polimórficos cuando se ha producido una pérdida, inserción o cambio de un solo nucleótido en la cadena molde de ADN genómico.

La técnica RAPD (Fragmentos Polimórficos de ADN Amplificado al Azar) usa iniciadores aleatorios de 10 pares de bases (Williams *et al.*, 1990) para amplificar el ADN. Los productos de la amplificación son separados mediante electroforesis y las bandas visualizadas, de diferente peso molecular representan diferentes *loci*. En algunas especies, la técnica da la opción de usar dos o más partidores dentro de la misma reacción para aumentar el número de bandas, logrando una mayor cantidad de información por reacción.

Los productos de la reacción dependerán del genoma en estudio, del iniciador y de las condiciones de la reacción. Los resultados de RAPD obtenidos en plantas indican su herencia dominante, su habilidad para detectar regiones de ADN altamente variables (5-10 *loci* por iniciador), su tremenda potencialidad en el mapeo de genes, identificación de razas, estudios de hibridación inter e intraespecífica y en el estudio de la variación genética en poblaciones altamente emparentadas.

4.6. Características culinarias y contenido nutricional de los frijoles

La importancia del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en tiempos precortesianos era tal que, de acuerdo con el Códice Mendocino, los aztecas lo incluían en los tributos exigidos a otros pueblos y nunca desapareció de la dieta nacional durante los 500 años que siguieron. De ese modo ha sido, junto con el maíz, el alimento

básico de México y, además de su importante contenido de carbohidratos y minerales, se considera la principal fuente de proteínas vegetales en la dieta. Su papel es aún más significativo para las clases de menores recursos que, al no tener acceso a proteínas de origen animal, hallan en el frijol esos nutrimentos esenciales (Muñoz, 2010)

En el pasado, los programas de mejoramiento genético del frijol enfocaban sus esfuerzos a la obtención de materiales con buenas características agronómicas, como alto rendimiento por hectárea, resistencia a condiciones ambientales adversas y patógenos, de ciclo vegetativo corto y uniformidad de planta y grano (Navarro, 1983). Sin embargo, la demanda de los consumidores ha motivado el desarrollo de variedades con mejor calidad nutrimental y de cocción (Jacinto *et al*, 2002)

Las características físico-químicas del grano, como tamaño, color y uniformidad, sabor, tiempo de cocción, y contenido de proteína, se relacionan con mejor calidad culinaria y nutricional del frijol y son importantes para los consumidores en México (Castellanos *et al.*, 2007).

Algunos autores señalan que las variedades de *Phaseolus vulgaris*, más consumidas en Latinoamérica, tienen un contenido de proteína promedio del 20%, con un intervalo de variación del 19.3% al 35.2% (Nabhan *et al.*, 1985). Además del alto contenido de proteínas (alrededor de 20%), contribuye al mejoramiento de los suelos, por su capacidad de fijar nitrógeno (Cruz, 2009)

Por otra parte, la semilla de frijol también presenta factores antinutrientales que incluyen inhibidores enzimáticos, hemaglutininas, factores de flatulencia, taninos, y ácido fítico; la cocción elimina por completo las hemaglutininas, mientras que el inhibidor de tripsina es el factor más resistente al calor (Antunes y Sgarbieri, 1980).

La composición química depende del cultivar empleado, de la localidad geográfica y del ambiente en que se cultive (Nadal *et al.*, 2004). En líneas generales, el contenido medio es:

Cuadro 1. Nutrimientos en grano seco de frijol (Nadal *et al.*, 2004).

Nutrimento	Contenido medio en grano seco
Proteínas	20-25% del peso
Hidratos de carbono	50-60%
Grasa	0.5-2.5%
Fibra bruta	4-5%
Hierro	4 y 8 mg/100g
Calcio	25-50 mg/100g
Magnesio	50-150 mg/100g

Cuadro 2. Intervalos promedio de tiempos de cocción en frijol.

Tiempo de cocción	Catalogado
< 70 minutos	Suavidad a la cocción
70-100 minutos	Cocción intermedia
> 100 minutos	Dureza a la cocción

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Procedencia de las colectas

En el 2006 se realizaron 100 colectas de variedades de frijol cultivadas por los productores en 26 comunidades del Estado de Puebla (Figura 1), distribuidas en las siete regiones socioeconómicas del estado. De acuerdo a la Enciclopedia de los Municipios de México (2009), las regiones presentan las siguientes características climáticas:

Región I-Huauchinango: Se encuentra en el norte del estado, tiene un clima predominante húmedo y cálido con abundantes lluvias en verano y cuenta con una gran variedad de ecosistemas.

Región II-Teziutlán: Está localizada al norte y noreste del estado, se encuentra en la transición de los climas templados de Sierra Norte a los cálidos del declive del golfo, está ubicado dentro de la vertiente hidrológica norte del estado.

Región III-Cuidad Serdán: Se ubica al noreste del estado, cuenta con una variedad de climas donde predomina el templado-subhúmedo y el clima frío.

Región IV–San Pedro Cholula: Se encuentra ubicada en la región Centro Oeste del estado. A ella pertenece la zona fría y glacial, el relieve de esta región presenta una topografía generalmente plana.

Región V–Puebla: Predominan los climas templados, sub-húmedos y el semi-seco, está ubicada en la zona centro del estado.

Región VI–Izúcar de Matamoros: Se encuentra al Suroeste del estado, presenta una gran variedad de climas, donde predominan los áridos-húmedos con lluvias todo el año, cuenta con amplia hidrografía.

Región VII–Tehuacán: La región se ubica en la Región Sureste del estado, presenta climas templados de la Sierra Zongolica y cálidos del valle de Tehuacán. Su orografía está formada por la sierra del Tentzo, Sierra Mixteca y Sierra Negra.

Para cada colecta se solicitó a los agricultores una cantidad de semilla igual de 0.5 a 1 Kg. En la mayoría de los casos fue comprada a precio de la región. Las colectas se registraron con el nombre de la localidad, estado, nombre del donante y tipo de crecimiento.

5.2. Lugar del establecimiento del experimento en campo

5.2.1. Características geográficas del municipio Tulcingo del Valle

El trabajo en campo se realizó en el municipio de Tulcingo del Valle (Figura1), localizado en la parte suroeste del estado de Puebla. Sus coordenadas geográficas son los paralelos 17° 52' 54" y 18° 05' 06" de latitud norte y los meridianos 98° 20' 24" y 98° 28' 18" de longitud occidental. Colinda al norte con Chila de la Sal, al sur limita con el estado de Guerrero, al oeste limita con Tecamatlán y al poniente con Albino Zertuche (inafed.gob.mx).

La superficie del municipio es igual 228.25 km² que lo ubica en el lugar 53 con respecto a los demás municipios del estado de Puebla. Se localiza en la región de la Mixteca Baja, anticlinal meridional del sinclinal que forma el Valle de Acatlán. El relieve del municipio presenta una topografía en general accidentada, con numerosos cerros aislados y sierras más bien cortas, así como algunos complejos montañosos. Destacan la sierra que cruza el sureste, formada por los cerros Palacios, Quintepec, Ostlayo, Cuate, Xolitzin, Cuatzamalo, el Tecomate y otros más. Se aprecia un descenso general del centro hacia el sur, rumbo al río Tecoyan, y del centro hacia el noroeste (inafed.gob.mx).

No obstante que el suelo es de tipo Regosol y son muy pobres en nutrientes, prácticamente infértiles, éste municipio produce diferentes granos, como el maíz, frijol y cacahuete.

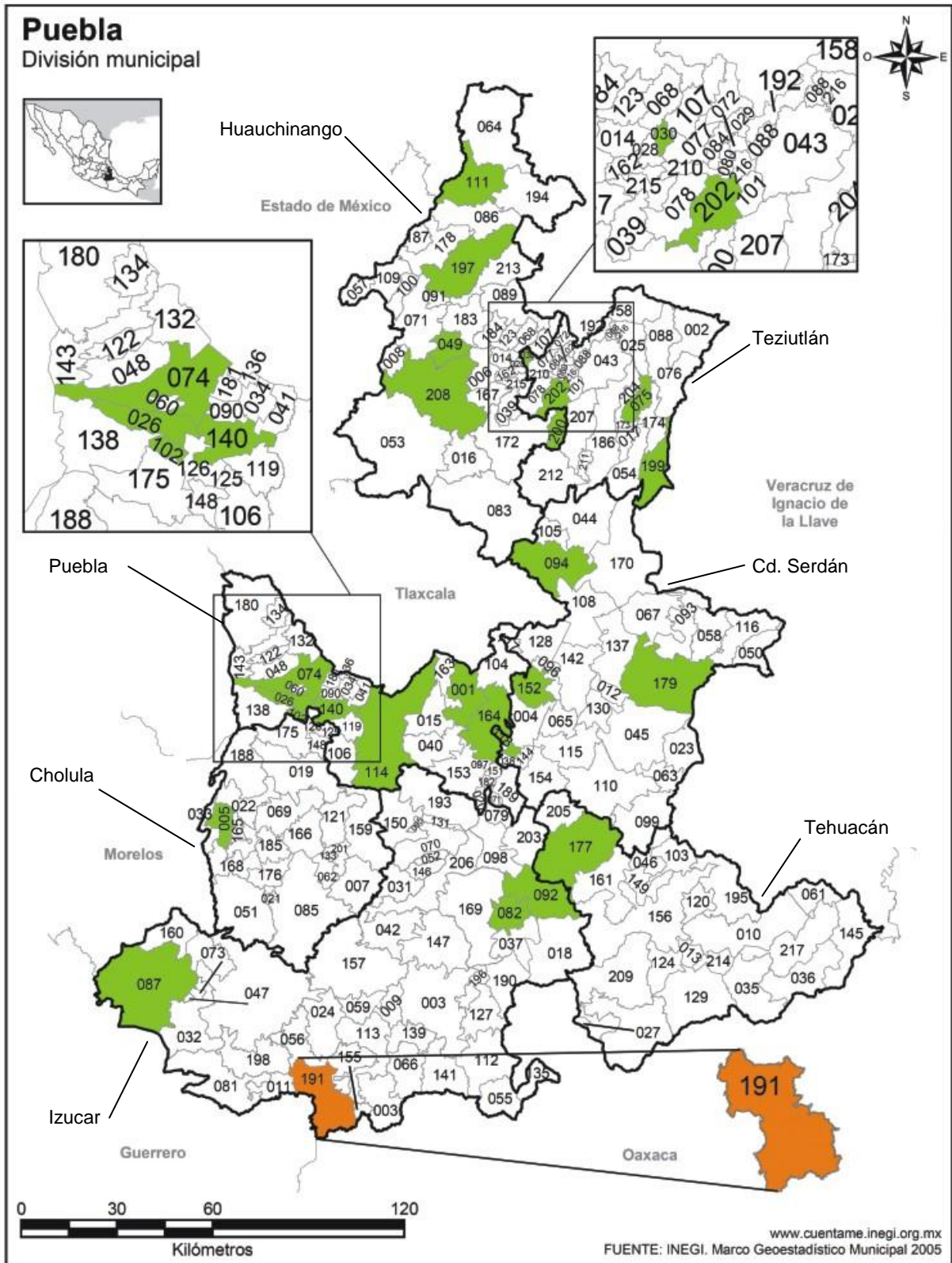


Figura 1. Localización geográfica del municipio de Tulcingo, del Valle y municipios donde se realizaron colectas de frijoles (color verde) y localización geográfica del municipio de Tulcingo del Valle, Puebla (color naranja, 191).

5.2.2. Diseño del experimento en campo

El arreglo experimental se realizó bajo un diseño de látice 10X10 con tres repeticiones. La unidad experimental se integró por cuatro surcos de cinco metros de largo separados a 0.70m. Cada ensayo abarcó 3,000 m² de superficie. La fertilización se hizo con la formula 40-40-00 en dos partes, la primera fue en la siembra tirando todo el fósforo y la mitad del nitrógeno y la segunda se realizó en la primera labor agregando el resto de nitrógeno. Las fuentes de fertilizantes utilizadas fueron urea para nitrógeno y superfosfato de calcio triple para el fósforo.

Para la siembra del experimento bajo el diseño experimental mencionado fueron sembradas las 100 variedades colectadas (anexo 2), en las cuales se eligieron las semillas más comunes en tamaño, forma y color de cada una de las colectas para evitar un efecto de tales caracteres en el desarrollo de las plantas.

5.2.3. Variables de estudio

Número de vainas: Se hizo el conteo manualmente.

Longitud de las vainas: Se registró mediante una regla graduada en cm, desde la base hasta el ápice.

Ancho y grosor de vainas: Ambos caracteres fueron estimados en la parte central con un vernier digital marca Mitutoyo Corporation, modelo CD-6" CSX y expresados en milímetros.

Peso de vainas totales, buenas y malas: Se registró con una balanza granataria Triple Beam Balance marca Ohaus. Se consideró una vaina buena a aquella que por lo menos tuvo un grano viable. Las vainas banas fueron las que tuvieron granos abortados o no completaron su desarrollo.

Peso de grano: La estimación fue con una balanza granataria Triple Beam Balance marca Ohaus. Fueron pesados los granos buenos y sanos, se descartaron los abortados o dañados.

5.3. Instalación del experimento en invernadero

De las 100 variedades evaluadas en campo se seleccionaron las que expresaron mejor los caracteres agronómicos de interés para los agricultores como son la precocidad y el rendimiento de grano y sus componentes. Así también, se consideraron los caracteres culinarios de los frijoles mayor y menor contenido de proteína, menor y mayor tiempo de cocción del grano, alta y baja cantidad de proteínas. Estos análisis fueron realizados a las colectas previamente (Díaz *et. al.*, 2010).

La descripción morfológica de las variedades se realizó en invernadero cubierto por una malla antiáfidos con el objeto de tener mayor control del experimento y un registro continuo de las variables de estudio. En el interior del invernadero se colocó un termómetro para registrar las temperaturas máximas y mínimas.

Las variedades seleccionadas se sembraron en macetas con capacidad para 6.0 Kg de suelo a una profundidad de 3.0 cm. En cada maceta se depositaron dos semillas con el fin de asegurar la siembra y después de la emergencia se dejó solo una plántula. Antes de la siembra, se aplicó un fungicida (prozicar) al suelo, para prevenir el daño por enfermedades en las plántulas. Para prevenir el daño por pulgón se aplicó arrivo, el cual es un insecticida piretroide.

El diseño experimental fue completamente al azar (DCA). Cada variedad tuvo 10 repeticiones generando un total de 330 macetas donde cada una representa la unidad experimental (Figura 2).



Figura 2. Instalación del experimento en invernadero.

Las variables de estudio consideradas fueron las siguientes:

5.3.1. Variables vegetativas

Son las variables registradas antes del inicio de la formación de botones florales:

Cuantitativas

Días a emergencia: Se registró en días desde la siembra hasta el día que fue visible el gancho plumular en la superficie del suelo.

Longitud del hipocótilo y epicótilo: Se midió con el vernier digital marca Mitutoyo Corporation, modelo CD-6" CSX. El hipocótilo comprendió desde la base del tallo hasta los cotiledones y el epicótilo se determinó como la región éntrelos cotiledones y las hojas simples.

Diámetro del hipocótilo: Fue medido en el centro del hipocótilo con el vernier digital marca Mitutoyo Corporation, modelo CD-6" CSX.

Altura total de la planta: Se estimó desde la superficie del suelo hasta la máxima altura del tallo principal con un metro graduado en centímetros.

Cualitativas

Hábito de crecimiento: Se registró por observación de acuerdo a los cuatro hábitos de crecimiento presentados en la Guía de Descriptores para Frijol (IPGRI, 2001).

5.3.2. Variables reproductivas

Estas variables se registraron desde la formación de botones florales hasta la maduración de los frutos.

Cuantitativas

Edad a la aparición del primer botón floral, apertura de la primera flor, edad a la formación del primer fruto: Estas variables se determinaron como el número de días transcurridos desde el momento de la siembra hasta la aparición de cada uno de los eventos.

Tamaño de las flores, longitud, grosor y ancho de vainas: Se midieron con un vernier digital marca Mitutoyo Corporation, modelo CD-6" CSX. En las flores se midió el estandarte y el cáliz, la suma de las longitudes de estas dos partes de la flor fue el tamaño de las mismas. La longitud de las vainas fue desde la base hasta el ápice. El ancho y grosor fue tomado en la parte central del fruto.

Número de frutos, número de granos por fruto y por planta, número de ramas, número de nudos y entrenudos: La obtención de estas variables fue mediante un conteo manual.

Peso seco de los frutos y de granos: Se registró con una balanza granataria Triple Beam Balance marca Ohaus. El peso seco se determinó en los frutos después de la cosecha secados al ambiente, de la misma forma fue para los granos.

Cualitativas

Color de flores, intensidad del color en flores y frutos, forma del fruto, color del grano y forma del grano: La medición de estos caracteres fue con base en las opciones presentadas en La Guía de Descriptores para Frijol (IPGRI, 2001).

Los datos cuantitativos y cualitativos de campo e invernadero fueron estudiados a través de la técnica estadística básica como promedio y análisis de varianza (ANVA), para lo cual se utilizó el programa SAS 2002 versión 9.

5.4. Trabajos realizados en el laboratorio

Como opción de complementar la caracterización del germoplasma de frijol, el uso de marcadores moleculares es una herramienta útil en las labores de evaluación de la variabilidad genética, debido a que los descriptores morfológicos son sensibles a factores ambientales. Con base en esto, para la caracterización molecular, realizada en el Laboratorio de Calidad de frijol del Instituto CEVAMEX-INIFAP, se utilizaron las técnicas RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) para llevar a cabo esta caracterización.

5.4.1. Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó en una muestra de hojas tiernas y sanas provenientes de tres plantas por variedad de las sembradas en el invernadero de acuerdo a la técnica utilizada por Torres *et al.* (1993).

Al ADN extraído se le realizó una prueba de calidad al estimar la absorbancia por espectrofotometría a 260 y 280 nm. Asimismo se evaluó la integridad del ADN al correrlo en geles de agarosa al 1.4 % (Figura 3)

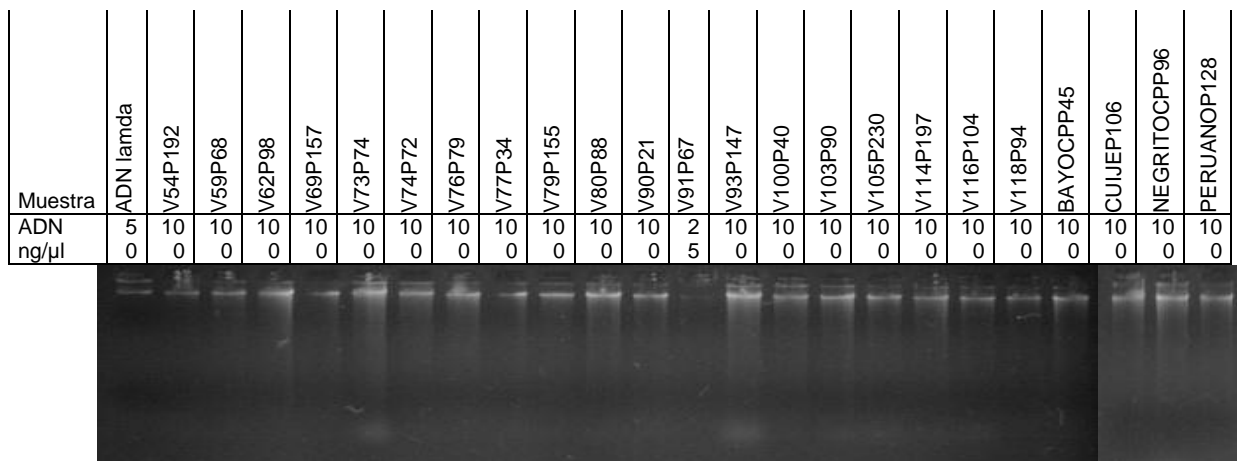


Figura 3. Cantidad y calidad de ADN de las accesiones de frijol colectadas.

5.4.2. Protocolo de extracción de ADN

Se pesaron 50mg de hoja de frijol y se colocaron en tubos eppendorf, agregando nitrógeno líquido para evitar la desnaturalización del ADN y moler la muestra con ayuda de taladro eléctrico con pistilos de plástico.

Se adicionaron 700µl de buffer de extracción (Tris 100mM pH 8, EDTA 20mM pH8, NaCl 1.0M, β-mercaptoetanol 1%, PVP 1%)+ 50µl SDS 20%, se Incubó 20 min a 65°C para después agregar 600µl de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1) y se mezclaron por inversión durante 15minutos.

Se centrifugaron 10minutos a 13000 revoluciones por minuto (rpm) en una Centrífuga Eppendorf 5415D. Se vació el sobrenadante a un tubo con 700µl de isopropanol preenfriado y se incubó 20minutos a -20°C. Posteriormente se centrifugó 5minutos a 13000rpm, se descartó el sobrenadante y se invirtió para sacar la pastilla.

Se gregaron 100µl de buffer TE (Tris HCl 50mM a pH 8) más 4µl de RNasa (10mg/mL) incubando a 37°C por 15minutos. Se precipitó con 1mL EtOH al 100% frío y se dejó 15minutos. Nuevamente se centrifugó por otros 5minutos a 13000rpm y se descartó el sobrenadante, se dejó secar la pastilla y se lavó con 1mL EtOH al 70% frío. Se centrifugó 5minutos y se descartó bien el sobrenadante para secar bien la pastilla. Se resuspendió el DNA en 100µl de buffer TE a pH 8 (Tris 10mM). Y se almacenó a 4°C.

5.4.3. Calidad del ADN

Posterior a la extracción del ADN, se realizó la cuantificación y estimación de la pureza los ácidos nucleicos en cada una de las muestras, con un espectrofotómetro marca Perkin-Elmer modelo Lambda Bio. Las lecturas se realizaron a 260 y 280 nm (Sambrook *et al.*, 1989)

5.4.4. Cantidad de ADN

Para cuantificación de la cantidad del ADN, se preparó un gel de agarosa al 1.2 % disuelto en TBE 1X y 0.20% de bromuro de etidio en una cámara de electroforesis Horizontal de 12 x 24 cm Modelo SUNRISE TM 96 de Life Technologies.

En cada pozo se depositó 5 µL de una dilución de ADN más 2 µL de Azul de Bromofenol. En los extremos del gel se colocaron 5 µL del marcador fago λ Hind III. La electroforesis se realizó a 70 v. Finalizado el corrido de las muestras, se determinó la cantidad del ADN visualizandose con luz ultravioleta en un transiluminador Upland modelo Ts-20.

La concentración de ADN en las muestras se determinó con la fórmula:

$$\text{Concentración de ADN } \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1} = \frac{(\text{Densidad Óptica a 260} \times \text{Factor de dilución} \times 50 \text{ mg/ml})}{1000}$$

El ADN utilizado para la PCR se diluyó de acuerdo a la cantidad de ADN obtenida tras la dilución con Buffer TE a pH 8 (Tris 10mM), para obtener una concentración final de 10ng/µL.

5.4.5. Utilización de marcadores RAPD

Los iniciadores RAPDs fueron de la serie OPERON Technologies (Alameda Calif.) con longitud de 10 pares de bases. Los componentes de la mezcla de reacción se observan en el cuadro 3 y el volumen final de reacción fue de 25 µL. Las condiciones de amplificación se basaron en la metodología propuesta por Williams *et al.* (1990) y modificada por Torres *et al.* (1993).

Inicialmente se evaluaron 13 iniciadores aleatorios para la técnica RAPD, solamente los iniciadores OPC-19, OPN-13, OPL-11, OPF-06, OPG-17, OPF-10 y OP AE-19 de RAPD revelaron polimorfismo entre los genotipos en estudio.

Las reacciones de PCR se hicieron en un volumen final de 20 μ L. La mezcla de reacción para RAPD por muestra consistió de 3.2 μ L de ADN genómico a una concentración de 10ng/ μ L, 0.14 μ L de enzima *Taq* DNA polimerasa (Amplificasa®), 1.12 μ L de iniciador (0.8mM), 1.6 μ L de dNTPs (200mM) (Invitrogen), 1.2 μ L de MgCl₂ (30mM) y 2.0 μ L de buffer 1X.

Cuadro 3. Componentes del Volumen Final de Reacción (VFR)

Reactivo	Concentración final	VFR (20 μ l)
dd H ₂ O	-	10.74 μ l
Buffer 10X	1X	2.0 μ l
MgCl (30mm)	1.8	1.2 μ l
DNTP'S (2.5mm)	200mm	1.6 μ l
Iniciador	0.8mm	1.12 μ l
Taq pol	0.72	0.14 μ l
ADN	32ng	3.2 μ l

5.4.6. Amplificación de ADN

La amplificación se realizó en un termociclador Techne TC-520 (con el programa ver cuadro 4). La separación de los fragmentos amplificados se hizo por electroforesis en geles de agarosa al 0.8%. El revelado de las bandas se hizo con bromuro de etidio y se observaron bajo luz ultravioleta en un transiluminador marca Ecosa. La imagen se capturó con un fotodocumentador Gel Logic 100 Imaging System de Kodak.

Cuadro 4. Programa de amplificación para los marcadores RAPDs.

Fase	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Ciclos
Desnaturalización	94	1	40
Hibridación	36	1	
Extensión	72	1	
Extensión final	72	8	

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Descripción de las accesiones de frijol obtenidas de los agricultores

En las 26 comunidades colectadas se encontraron 14 colores diferentes. El frijol color negro fue el más predominante representa el 25% del total de variedades colectadas. Los frijoles color amarillo mostaza representan el 18.8% y los de color crema el 16.1%. El 12.5% de colectas fueron mezclas compuestas por diferentes colores desde dos hasta ocho colores diferentes. Los frijoles color café representan el 9.8%. Los cuatro colores mencionados más la mezcla representan el 82.2% razón para considerarlos como los más predominantes en las comunidades colectadas. Entre los colores con predominancia intermedia se encuentran el morado y el pinto con el 3.6% cada uno y el blanco con el 2.7%. En total representan el 9.9% de los colores.

Los colores menos predominantes están integrados por 6 y representan el 8.1%, incluye los colores ambar (1.8%), gris con manchas blancas (1.8%), morado con raya negra (1.8%), café con manchas rojas (0.9%), crema con manchas café (0.9%) y rojo (0.9%). De acuerdo con Herrera *et al.* (1993) el color de frijol negro predomina por sus características culinarias, aunado a esto la tolerancia a enfermedades radiculares ya que uno de los genes responsables del color también lo es para la producción de phaseolina debido a que se ha identificado como una sustancia efectiva contra pudriciones de raíz (Davis, 1985). Las mezclas de colores son importantes para los agricultores, ya que de acuerdo con ellos es una forma de enfrentar las irregularidades de la distribución de la lluvia a través de los años.

6.1.1. Resultados de las variedades de frijol sembradas en campo

El rendimiento de las variedades sembradas en campo estuvo en 867.4 kg/ha en promedio, donde la variedad 76 obtuvo el mayor rendimiento (2652.8 kg/ha) y la variedad 75 obtuvo el menor rendimiento (128.0 kg/ha). El peso de grano bueno fue de 51.6 g planta⁻¹; la variedad que obtuvo el más alto peso de grano bueno concordó con la variedad 76 que fue la de más alto rendimiento (Cuadro 5).

Cuadro 5. Rendimiento en grano y vaina en las variedades de frijol sembradas en campo.

Var.	REN	PGB	NVT	PVT	NVB	PVB	NVM	PVM
V76	2652.8a	165.8a	83.0b	162.5abc	74.5b	161.1abc	8.5bc	1.3bc
V94	2168.0ab	135.5ab	129.0ab	86.7abc	118.0ab	105.8abcd	12.5bc	4.7bc
V63	2121.6abc	132.6abc	107.0ab	192.5ab	105.0ab	193.0ab	2.5c	0.5c
V203	2112.0abcd	132.0abcd	129.0ab	87.3abc	105.0ab	84.1abcd	24.0abc	3.1bc
V22	1782.4abcde	64.33bcde	109.5ab	89.2abc	96.0ab	86.6abcd	18.5abc	1.7bc
V62	1608.0abcde	100.5abcde	136.0ab	133.6abc	120.0ab	128.0abcd	24.0abc	5.6bc
V80	1450.0abcde	83.67abcde	98.0ab	102.4abc	82.0b	98.7abcd	16.0cb	3.6bc
V56	1421.6abcde	88.85abcde	118.0ab	133.3abc	115.5ab	130.7abcd	2.5c	0.3c
V54	1414.4abcde	88.4abcde	110.0ab	56.5abc	89.0b	103.8abcd	21.0abc	2.7bc
V202	1403.7abcde	87.73abcde	250.0a	148.2abc	221.5a	144.5abcd	24.0abc	3.5bc
V148	908.8abcde	56.8bcde	148.0b	95.0abc	70.0b	93.6abcd	11.0cb	1.4bc
V70	906.1abcde	56.6bcde	56.5b	69.9abc	52.5b	69.9abcd	6.5cb	0.6c
V108	884.8abcde	55.3bcde	89.5b	71.4abc	77.5b	68.0abcd	14.5cb	3.3bc
V15	880.0abcde	55.0bcde	89.0b	78.7abc	70.0b	66.7abcd	19.5abc	1.4bc
V25	871.5abcde	54.4bcde	72.5b	42.7cb	57.0b	57.3bcd	15.5bc	2.0bc
V107	857.6abcde	53.6bcde	77.0b	71.3abc	75.5b	71.7abcd	6.5bc	1.1bc
V37	853.9abcde	53.3bcde	74.5b	72.5abc	63.0b	70.6abcd	11.5bc	1.8bc
V117	838.3bcde	47.0bcde	67.5b	51.4cb	62.0b	50.8bcd	6.0bc	0.6c
V147	834.4bcde	52.1bcde	69.5b	72.7abc	60.0b	71.4abcd	9.5bc	1.3bc
V81	825.1bcde	51.5bcde	88.0b	87.8abc	78.0b	85.9abcd	10.0bc	1.8bc
V58	304.0e	19.0e	41.0b	39.1bc	34.0b	37.6cd	7.0bc	1.5bc
V12	280.0e	17.5e	25.50b	8.15c	19.0b	7.45d	6.5bc	3.0bc
V20	249.6e	15.6e	38.5b	22.2c	28.0b	21.7cd	4.5c	0.5c
V55	248.0e	15.5e	108.5ab	212.3 ^a	102.5ab	211.2 ^a	6.5bc	0.3c
V3	242.1e	15.1e	25.0b	21.4c	22.5b	21.1cd	5.0c	0.6c
V10	202.1e	12.6e	21.5b	25.0c	27.0b	24.0cd	10.0bc	0.6c
V9	178.7e	11.1e	16.5b	12.4c	12.0b	11.8d	4.5c	0.6c
V2	149.9e	9.3e	26.5b	17.3c	19.0b	16.8cd	7.5bc	2.5bc
V201	147.6e	8.0e	18.5b	12.4c	15.0b	12.0d	3.5c	0.4c
V75	128.0e	6.8e	92.0b	37.2bc	33.5b	25.0cd	58.5a	12.4b

REN: rendimiento por kilogramo, PGB: peso de grano bueno, NVT: número de vainas totales, PVT: peso de vainas totales, NVB: número de vainas buenas, PVB: peso de vainas buenas, NVM: número de vainas malas, PVM: peso de vainas malas.

Así mismo, se encontró un amplio rango de variación en el número de vainas totales, de 17 hasta 250, lo cual mostró que la variedad que obtuvo el mayor rendimiento no fue acorde con su número total de vainas (Cuadro 5).

Se contó como vaina buena a aquella que por lo menos formó un grano viable, por consiguiente, del número de vainas totales, el número de vainas buenas fue de 12 hasta 222 vainas con un rango de peso de 7.25 g hasta 211.25 g, y de vainas malas de 1 a 59 vainas, con una media de 13.36 g (Cuadro 5).

De acuerdo a los coeficientes de correlación Pearson con probabilidad al $<.0001$, se encontró que el rendimiento por planta esta altamente correlacionado con el rendimiento por kg y por hectárea, número de vainas totales, peso de vainas totales, número de vainas buenas, peso de vainas buenas y con el peso de grano bueno (Cuadro 6 y 7).

El rendimiento por hectárea y por Kg estuvo altamente correlacionado con el número de vainas totales, peso de vainas totales, número de vainas buenas y peso de grano bueno. El número de vainas totales y peso de vainas totales estuvieron fuertemente correlacionados con el peso de vainas totales, número de vainas buenas y con el peso de grano bueno (Cuadro 6 y 7).

El número de vainas malas y el peso de vainas malas no presentó correlación con ninguna de las otras variables de número y peso de vaina así como también con el peso de grano bueno (Cuadro 6 y 7).

Cuadro 6. Coeficientes de correlación Pearson en rendimiento y vainas.

Variables	NVT	PVT	NVB	PVB
RPL	0.6	0.8	0.7	0.8
RENKG	0.6	0.8	0.7	0.8
RENHA	0.6	0.8	0.7	0.8
NVT	1.0	0.7	0.9	0.7
PVT	0.7	1.0	0.8	0.9
NVB	0.9	0.8	1.0	0.8
PVB	0.7	0.9	0.8	1.0
NVM	0.4	0.1	0.2	0.08
PVM	0.1	0.1	0.07	0.01
PGB	0.6	0.8	0.7	0.8

RPL: rendimiento por planta, RENKG: rendimiento por kilogramo, RENHA: rendimiento por hectárea, NVT: número de vainas totales, PVT: peso de vainas totales, NVB: número de vainas buenas, PVB: peso de vainas buenas, NVM: número de vainas malas, PVM: peso de vainas malas, PGB: peso de grano bueno.

Cuadro 7. Coeficientes de correlación de Pearson en vainas buenas, malas y grano bueno.

	NVM	PVM	PGB
RPL	0.05	-0.05	0.9
RENKG	0.05	-0.05	0.9
RENHA	0.05	-0.05	0.9
NVT	0.4	0.1	0.6
PVT	0.1	0.1	0.8
NVB	0.2	0.07	0.7
PVB	0.08	0.01	0.8
NVM	1.0	0.4	0.05
PVM	0.45	1.0	-0.04
PGB	0.05	-0.04	1.0

RPL: rendimiento por planta, RENKG: rendimiento por kilogramo, RENHA: rendimiento por hectárea, NVT: número de vainas totales, PVT: peso de vainas totales, NVB: número de vainas buenas, PVB: peso de vainas buenas, NVM: número de vainas malas, PVM: peso de vainas malas, PGB: peso de grano bueno.

En un estudio agromorfológico realizado por Cruz *et al* (2009) también observaron una gran variabilidad en la mayoría de los rasgos morfológicos estudiados, particularmente en la forma, tamaño y color de granos y en rendimiento, las entradas evaluadas mostraron fluctuaciones entre 555.7 y 1.458 kg/ha.

6.2. Resultados de experimento bajo invernadero

6.2.1. Caracteres cualitativos

De las variedades que fueron cultivadas en invernadero, las formas de semillas más frecuentes fueron alargada truncada (84%), arriñonada (10%), cuboide (3%) y elíptica (3%).

De las 350 unidades experimentales se obtuvo un porcentaje de germinación del 94%. El color de los cotiledones predominante fue el verde (67%) seguido del moteado o verde-morado (33%) y el color de la flor más abundante fue el blanco (65%) seguido del morado (32%) y lila (3%).

Se encontraron tres tipos de crecimiento, donde el tipo II fue el más frecuente con el 64 % y los tipos I y III presentaron misma frecuencia igual a 18 %. El nudo donde se formó la primera vaina en las plantas fue el 5 en promedio. Sin embargo se localizaron las primeras vainas formadas en los nudos 3 y 14 (Cuadro 8).

Las raíces de la planta fueron en promedio de volumen medio, con presencia de media de nódulos, los cuales fueron de tamaño medio (Cuadro 8).

Cuadro 8. Color de cotiledón y flor, hábito de crecimiento de la planta y raíz.

Var.	CC	CE	CA	TC	NPV	R	NPR	TN	TN
V1	2.8ab	2.8a	2.8a	2.0fgh	4.0ef	1.7bcde	1.7bcd	2.0abcd	2.0abcd
V3	1.4cd	1.0d	1.0d	2.8cd	8.5bc	2.2abc	2.7ab	2.5ab	2.5ab
V5	1.0d	1.0d	1.0d	2.6cde	7.1bcde	2.3abc	2.2abc	2.1abcd	2.1abcd
V6	1.0d	1.0d	1.0d	2.4def	8.1bcd	2.1bc	2.1abcd	2.1abcd	2.1abcd
V8	1.0d	1.0d	1.0d	1.0i	3.1f	1.9bcde	2.3abc	2.3abc	2.3abc
V13	1.0d	1.0d	1.0d	1.8gh	4.2ef	1.7cde	1.5cd	2.2abc	2.2abc
V19	1.0d	3.0a	3.0a	3.4ab	-	2.6ab	2.5abc	2.6ab	2.6ab
V28	1.0d	1.0d	1.0d	2.0fgh	5.0cdef	2.1abc	2.1abc	2.0abcd	2.0abcd
V30	2.9a	2.8a	2.8a	2.0fgh	5.0cdef	1.9bcde	1.7bcd	1.8bcd	1.8bcd
V52	1.1d	1.0d	1.0d	3.0bc	9.8b	2.6ab	2.6abc	2.7ab	2.7ab
V54	1.0d	1.0d	1.0d	2.0fgh	4.8def	1.8bcde	1.7bcd	2.3abc	2.3abc
V59	2.4ab	3.0a	3.0a	1.7h	4.4ef	2.2abc	1.9abcd	2.1abcd	2.1abcd
V62	1.0d	1.0d	1.0d	1.0i	3.7ef	1.8bcde	1.8abcd	1.8abcd	1.8abcd
V69	1.2cd	1.3cd	1.3bcd	2.2efg	4.6def	2.2abc	1.7bcd	2.1abcd	2.1abcd
V73	2.0bc	1.0d	1.0d	3.7a	14.2a	2.6abc	2.7ab	2.7ab	2.7ab
V74	1.0d	1.2cd	1.2d	2.3defg	4.3ef	2.6ab	2.6abc	2.4ab	2.4ab
V76	1.0d	2.0b	1.8b	1.0i	3.4f	1.1de	1.0d	1.2cd	1.2cd
V77	1.0d	1.2cd	1.2cd	2.1efgh	5.2cdef	2.0bcd	2.1abcd	2.0abcd	2.0abcd
V79	2.8a	2.8a	2.8a	2.0fgh	4.8def	2.1abc	2.5abc	2.5ab	2.5ab
V80	2.8ab	2.9a	2.9a	2.0fgh	4.8def	2.1abc	1.7bcd	1.7bcd	1.7bcd
V90	2.7ab	3.0a	3.0a	2.0fgh	5.8cdef	3.0a	3.0a	3.0a	3.0a
V91	1.0d	-	-	3.0bc	-	3.0a	3.0a	3.0a	3.0a
V93	1.4cd	1.4bcd	1.4bcd	3.0ab	-	3.0a	3.0a	3.0a	3.0a
V100	2.0bc	1.6bc	1.6bc	3.8a	6.3bcdef	2.6abc	2.6abc	2.6ab	2.6ab
V103	1.0d	1.0d	1.0d	2.3defg	5.8cdef	2.5abc	2.5abc	2.6ab	2.6ab
V105	1.0d	1.0d	1.0d	2.0fgh	5.0cdef	1.9bcde	1.7bcd	1.8bcd	1.8bcd
V114	2.7ab	2.8a	2.8a	2.0fgh	5.4cdef	2.0bcd	2.1abcd	2.3abc	2.3abc
V116	2.6ab	2.9a	2.9a	2.0fgh	4.9def	2.0bcd	2.1abcd	2.1abcd	2.1abcd
V118	1.1d	1.0d	1.0d	2.0fgh	4.6def	1.9bcde	1.8bcd	1.7bcd	1.7bcd
bayo CP	1.0d	1.0d	1.0d	2.0fgh	4.2ef	2.0bcd	1.9abcd	2.0abcd	2.0abcd
cuije	1.0d	-	-	2.0fgh	-	1.9e	1.0d	1.0d	1.0d
negrito CP	2.9a	3.0a	3.0a	2.0fgh	6.1cdef	2.1bc	2.0abcd	2.1abcd	2.1abcd
peruano	1.0d	1.0d	1.0d	1.0i	3.8ef	2.1bc	1.7bcd	1.8bcd	1.8bcd

CC: color cotiledón (1: verde, 2: morado, 3: moteado ambos colores), CE: color estandarte (1: blanco, 2: lila, 3: morado), CA: color alas (1: blanco, 2: lila, 3: morado), TC: tipo de crecimiento de la planta (1: tipo I, 2: tipo II, 3: tipo III, 3: tipo IV), NPV: nudo a la primera vaina, RA. Número de ramas, R: raíz de la planta (1: escasa, 2: media, 3: abundante), NPR: nódulos presentes en raíz (1: escasos, 2: medios, 3: abundantes), TN: tamaño de nódulos (1: pequeños, 2: medianos, 3: grandes).

En las variedades sembradas en invernadero se encontraron dos colores de vainas amarillas y moradas, donde el color amarillo predominó en un 72.4% y con solo el 27.6% el otro tipo de color. El carácter pigmentación de la vaina fue ausente en un 82% y solo se presentó en vainas color amarillo en un 18%. Es decir se encontraron frijoles con vainas amarillas con pigmentación ausente (Cuadro 9).

El grado de curvatura medio de las vainas predominó en un 75.9% y de curvatura ligera 24.1%. Todas las vainas estuvieron curvadas hacia la parte ventral. La forma de la punta fue 48.3% puntiaguda y de forma roma en un 51.7%. La longitud del pico de la vaina fue corta y mediana en un 41.4%, de longitud muy larga un 13.8% y larga solo el 3.4%. La curvatura del pico fue fuerte en el 55% de las vainas y de curvatura media el 31% y en el menor porcentaje de curvatura ligera el 13.8% de las vainas (Cuadro 9).

La prominencia del grano marcado en la superficie de las vainas fue media en el 51.7% de las vainas, mientras que las catalogadas como fuerte fue en el 37.9% de los casos y débil el 10.3% (Cuadro 9).

Cuadro 9. Morfología de las vainas bajo invernadero

Var.	CSV	PV	GCV	CV	FP	LP	CP	PGV
V1	2.0 _a	1.0 _d	2.2 _{ab}	1.0 _b	1.2 _{ab}	1.5 _{cde}	2.7 _{ab}	2.2 _{abcd}
V3	2.0 _a	1.0 _d	2.2 _{ab}	1.2 _a	2.0 _a	2.5 _{bc}	2.5 _{abc}	2.2 _{abcd}
V5	1.0 _c	1.1 _{bcd}	2.5 _{ab}	1.0 _b	1.7 _{ab}	2.0 _{bcde}	2.6 _{abc}	2.3 _{abc}
V6	1.8 _{ab}	1.0 _d	2.0 _{ab}	1.0 _b	1.8 _a	1.6 _{bcde}	1.8 _{bcde}	2.6 _{ab}
V8	1.0 _c	1.0 _d	2.0 _{ab}	1.0 _b	2.0 _{ab}	4.0 _a	1.0 _e	1.0 _e
V13	1.0 _c	1.6 _{abcd}	2.2 _{ab}	1.0 _b	1.4 _{ab}	1.2 _{cde}	2.8 _{ab}	2.0 _{abcde}
V28	1.0 _c	1.4 _{abcd}	2.4 _{ab}	1.0 _b	1.8 _{ab}	1.6 _{bcde}	2.8 _{ab}	2.4 _{abc}
V30	1.0 _c	1.8 _{ab}	2.4 _{ab}	1.0 _b	1.4 _{ab}	1.5 _{bcde}	2.5 _{abc}	2.2 _{abcd}
V52	1.0 _c	1.0 _d	3.0 _a	1.0 _b	1.6 _{ab}	1.8 _{bcde}	2.8 _{ab}	2.4 _{abc}
V54	1.0 _c	1.0 _d	2.2 _{ab}	1.0 _b	1.8 _{ab}	2.0 _{bcde}	2.4 _{abc}	2.6 _{ab}
V59	1.8 _a	1.0 _d	1.6 _{ab}	1.0 _b	2.0 _a	2.8 _{ab}	1.5 _{cde}	1.2 _{cde}
V62	1.0 _c	1.0 _d	2.0 _{ab}	1.0 _b	2.0 _a	4.0 _a	1.5 _{cde}	1.5 _{bcde}
V69	1.0 _c	1.2 _{bcd}	2.0 _{ab}	1.0 _b	1.7 _{ab}	1.7 _{bcde}	2.5 _{abc}	2.7 _{ab}
V73	1.3 _{abc}	1.3 _{abcd}	2.3 _{ab}	1.0 _b	1.3 _{ab}	1.0 _e	2.6 _{ab}	3.0 _a
V74	1.0 _c	1.2 _{bcd}	2.0 _{ab}	1.0 _b	1.5 _{ab}	2.0 _{bcde}	2.2 _{abcd}	2.5 _{ab}
V76	1.0 _c	1.8 _{abc}	1.6 _b	1.0 _b	2.0 _a	4.0 _a	1.2 _{de}	1.8 _{abcde}
V77	1.0 _c	1.2 _{bcd}	2.5 _{ab}	1.0 _b	1.0 _b	1.2 _{cde}	2.7 _{ab}	2.5 _{ab}
V79	2.0 _a	1.0 _d	3.0 _a	1.0 _b	1.0 _b	2.0 _{bcde}	3.0 _a	3.0 _a
V80	1.8 _a	1.0 _d	2.4 _{ab}	1.0 _b	1.0 _b	1.1 _{de}	3.0 _a	2.7 _{ab}
V90	1.8 _{ab}	1.1 _{bcd}	2.0 _{ab}	1.0 _b	2.0 _a	2.3 _{bcd}	2.0 _{abcde}	1.8 _{abcde}
V100	1.0 _c	1.5 _{abcd}	2.0 _{ab}	1.0 _b	1.5 _{ab}	1.0 _e	2.0 _{abcde}	3.0 _a
V103	1.0 _c	1.5 _{abcd}	2.5 _{ab}	1.0 _b	1.0 _b	1.0 _e	3.0 _a	2.5 _{ab}
V105	1.1 _{bc}	1.0 _d	2.6 _{ab}	1.0 _b	1.1 _{ab}	1.7 _{bcde}	3.0 _a	3.0 _a
V114	2.0 _a	1.0 _d	2.2 _{ab}	1.0 _b	1.0 _b	1.0 _e	3.0 _a	2.4 _{abc}
V116	1.9 _a	1.0 _d	2.8 _{ab}	1.0 _b	1.2 _{ab}	1.0 _e	3.0 _a	2.8 _a
V118	1.0 _c	1.1 _{cd}	2.2 _{ab}	1.0 _b	1.7 _{ab}	1.2 _{cde}	2.4 _{abc}	2.8 _a
V-bayo CP	1.0 _c	2.0 _a	2.0 _{ab}	1.0 _b	1.1 _{ab}	1.0 _e	2.9 _a	3.0 _a
V-negrillo CP	2.0 _a	1.0 _d	2.0 _{ab}	1.0 _b	1.7 _{ab}	1.6 _{bcde}	2.8 _{ab}	1.9 _{abcde}
V-peruano	1.0 _c	1.0 _d	1.0 _{ab}	1.0 _b	2.0 _a	4.0 _a	1.0 _e	1.1 _{de}

CSV: color de superficie de la vaina (1: amarilla, 2: morada, 3: rosa), PV: pigmentación vaina (1: ausente, 2: presente), GCV: grado de curvatura de la vaina (1: muy ligera, 2: ligera, 3: media, 4: fuerte), CV: curvatura de la vaina (1: parte ventral, 2: forma de S), FP: forma de la punta (1: roma, 2: puntiaguda), LP: longitud de la punta (1: corta, 2: media, 3: larga, 4: muy larga), CP: curvatura del pico (1: ligera, 2: media, 3: fuerte), PGV: prominencia del grano en la vaina (1: débil, 2: media, 3: fuerte).

6.2.2. Caracteres cuantitativos

El rendimiento de las variedades sembradas en campo osciló en un rango de 2.8 a 1,649.1 kg, donde la variedad Bayo-CP tuvo el menor rendimiento y la V118 el mayor rendimiento (Cuadro 10) Así mismo, se encontró un amplio rango de variación en el número de vainas buenas, fue en promedio de 1 hasta 21 vainas y

respecto a su peso en el cual hubo una variación de 3.1 a 28 g/planta de vainas buenas. Se obtuvo un promedio de 3.5 a 20.6 g de peso de grano bueno, representadas por las variedades Bayo-CP y V118 respectivamente, concordando con las variedades que obtuvieron el menor y mayor rendimiento.

Cuadro 10. Rendimiento de grano, número y peso de vainas buenas formadas en los diferentes cultivares de frijol bajo invernadero.

Variedad	REN (kg)	NVB	PVB (g)	PGB (g)
V118	1649.1 ^a	21.2 ^{ab}	28.0 ^{ab}	20.6 ^{ab}
V76	1467.2 ^{ab}	13.5 ^{bcde}	26.2 ^{abc}	18.3 ^{abc}
V90	1358.3 ^{abc}	27 ^a	30.4 ^a	16.9 ^{abc}
V80	1340.6 ^{abc}	13.1 ^{bcde}	21.2 ^{abc}	17.9 ^{abc}
V30	1334.6 ^{abc}	21.0 ^{ab}	21.9 ^{abc}	16.4 ^{abc}
V77	1329.6 ^{abc}	14.8 ^{bcd}	23.4 ^{abc}	16.6 ^{abc}
Peruano	1326.2 ^{abc}	17.3 ^{bc}	25.6 ^{abc}	16.5 ^{abc}
V62	1277.7 ^{abc}	13.0 ^{bcde}	24.2 ^{abc}	15.9 ^{abcd}
V8	1222.3 ^{abc}	16.6 ^{bc}	24.2 ^{abc}	14.8 ^{abcde}
V1	1178.4 ^{abcd}	4.0 ^f	4.8 ^g	3.2 ^{fg}
V59	1147.2 ^{abcd}	14.4 ^{bcd}	20.2 ^{abcd}	14.3 ^{abcde}
V5	1142.0 ^{abcd}	9.6 ^{cdef}	18.7 ^{bcde}	16.2 ^{abc}
V28	1140.7 ^{abcd}	14.4 ^{bcd}	19.2 ^{bcde}	14.2 ^{abcde}
V54	991.8 ^{abcd}	14.0 ^{bcd}	20.0 ^{abcd}	15.1 ^{abcde}
V13	914.0 ^{cde}	17 ^{bc}	16.6 ^{cdef}	11.4 ^{bcdef}
V116	686.0 ^{def}	8.0 ^{def}	10.2 ^{defg}	9.4 ^{cdefg}
V3	552.0 ^{efg}	7.3 ^{def}	9.8 ^{defg}	6.9 ^{defg}
V73	480.0 ^{efgh}	5.3 ^{ef}	8.6 ^{efg}	6.0 ^{efg}
V52	324.7 ^{fgh}	4.1 ^f	6.5 ^{fg}	4.0 ^{fg}
V6	306.4 ^{fgh}	3.7 ^f	4.8 ^g	3.0 ^{fg}
V105	113.0 ^{gh}	1.8 ^f	2.2 ^g	1.4 ^g
Negrito-CP	18.8 ^h	-	22.2 ^{abc}	21.1 ^a
Bayo-CP	2.8 ^h	-	3.1 ^g	3.5 ^{fg}

REN (Kg): rendimiento por Kg., NVB: número de vainas buenas, PVB: peso de vainas buenas, PGB: peso de grano bueno.

Las variedades de frijol presentaron diferencias significativas en longitud de vaina (Cuadro 11). La variación fue de 6.6 cm para las vainas más pequeñas hasta las vainas más largas de 11.7 cm, correspondientes a las variedades V116 y V105, obteniendo en promedio una longitud de vainas igual a 9 cm.

Cuadro 11. Dimensiones de vainas y semillas formadas en los cultivares de frijol bajo invernadero.

Variedad	LV (cm)	AV (mm)	GV (mm)	LS (mm)	AS (mm)	GS (mm)
V105	11.7 ^a	12.6 ^a	8.6 ^a	12.2 ^a	8.5 ^b	5.9 ^b
V28	11.5 ^{ab}	10.1 ^{abc}	10.0 ^a	9.9 ^{ab}	7.0 ^b	6.3 ^b
V13	10.7 ^{abc}	9.8 ^{abc}	8.9 ^a	12.7 ^a	7.2 ^b	5.9 ^b
V73	10.6 ^{abc}	11.0 ^{ab}	7.9 ^a	9.4 ^{ab}	6.4 ^b	5.2 ^b
V8	10.5 ^{abc}	10.1 ^{abc}	7.7 ^a	11.5 ^{ab}	7.2 ^b	4.9 ^b
V69	10.5 ^{abc}	11.1 ^{ab}	8.9 ^a	12.1 ^a	8.2 ^b	6.1 ^b
V54	10.3 ^{abcd}	10.8 ^{abc}	8.2 ^a	12.4 ^a	6.9 ^b	5.2 ^b
V52	10.0 ^{abcd}	12.3 ^a	8.4 ^a	12.5 ^a	7.4 ^b	5.6 ^b
V30	9.8 ^{abcd}	10.2 ^{abc}	8.1 ^a	11.7 ^{ab}	7.1 ^b	5.2 ^b
V79	9.7 ^{abcd}	9.1 ^{abc}	6.1 ^a	9.2 ^{ab}	5.9 ^b	3.9 ^b
V74	9.5 ^{abcd}	12.1 ^a	8.4 ^a	12.4 ^a	7.9 ^b	5.9 ^b
V59	9.4 ^{abcd}	10.6 ^{abc}	8.6 ^a	12.4 ^a	7.4 ^b	5.5 ^b
V1	9.4 ^{abcd}	9.0 ^{abc}	7.7 ^a	11.4 ^{ab}	6.6 ^b	5.2 ^b
V90	9.1 ^{abcd}	10.8 ^{abc}	8.3 ^a	12.0 ^{ab}	7.3 ^b	5.6 ^b
V80	8.9 ^{abcd}	10.8 ^{abc}	8.2 ^a	11.9 ^{ab}	7.6 ^b	5.1 ^b
V3	8.8 ^{abcd}	8.8 ^{abc}	9.2 ^a	7.8 ^{ab}	7.2 ^b	5.7 ^b
V62	8.8 ^{abcd}	10.8 ^{abc}	8.7 ^a	11.4 ^{ab}	7.5 ^b	6.4 ^b
Bayo-CP	8.4 ^{abcd}	6.9 ^c	2.1 ^a	11.6 ^{ab}	11.5 ^a	8.0 ^b
V76	8.3 ^{abcd}	12.0 ^a	8.6 ^a	12.1 ^a	8.1 ^b	5.7 ^b
Peruano	8.2 ^{abcd}	11.8 ^{ab}	8.3 ^a	11.4 ^{ab}	7.7 ^b	5.2 ^b
V100	8.2 ^{abcd}	11.2 ^{ab}	7.2 ^a	11.4 ^{ab}	6.9 ^b	5.1 ^b
V77	8.1 ^{abcd}	11.1 ^{ab}	8.8 ^a	11.6 ^{ab}	8.1 ^b	5.5 ^b
V103	8.1 ^{abcd}	10.7 ^{abc}	8.3 ^a	12.6 ^a	7.8 ^b	5.2 ^b
V114	7.8 ^{bcd}	11.2 ^{ab}	7.3 ^a	12.3 ^a	7.7 ^b	6.2 ^b
V118	7.7 ^{bcd}	10.8 ^{abc}	7.6 ^a	12.4 ^a	7.4 ^b	5.6 ^b
V5	7.7 ^{bcd}	10.0 ^{abc}	8.0 ^a	11.8 ^{ab}	7.4 ^b	5.3 ^b
V6	7.6 ^{cd}	12.1 ^a	9.4 ^a	13.3 ^a	8.5 ^b	6.5 ^b
Negrito-CP	7.5 ^{cd}	7.8 ^{bc}	2.3 ^a	12.5 ^a	11.3 ^a	7.6 ^b
V116	6.6 ^d	10.07 ^{abc}	8.0 ^a	12.8 ^a	7.8 ^b	5.4 ^b

LV: longitud de vaina, AV: ancho de vaina, GV: grosor de vaina, LS: longitud de semilla, AS: ancho de semilla, GS: grosor de semilla.

El ancho de vainas estuvo en el rango de 6.9 hasta 12.6 mm representadas por la variedad Bayo-CP y la V105 respectivamente. La media para este carácter fue de 11 mm. Asimismo, las variedades presentaron diferencias significativas en grosor de vaina (Cuadro 11). La variación fue desde 2.1 mm hasta 10 mm correspondientes a las variedades Bayo-CP y V28. El promedio obtenido en la población de frijoles fue igual a 8 mm. Las variedades con mayor espesor de vaina fueron V28, V3 y V69 y las de menor espesor fueron Bayo-CP, Negrito-CP y V79. Los cultivares de frijol

mostraron mayor espesor de vainas en relación a las dos variedades utilizadas como testigos Bayo-CP y Negrito-CP.

Las semillas de frijol también presentaron variación respecto a su longitud (Cuadro 11), presentando una media de 12 mm, las semillas más largas midieron hasta 12.7 mm y las más pequeñas 7.8 mm. Las variedades V13, V52 y V59 formaron las semillas más largas, las variedades V73, V79 y V3 tuvieron semillas con menor longitud. El ancho de semillas osciló entre 5.9 mm y 8.5 mm, con una media entre las variedades de 8 mm. El espesor de las semillas varió de 3.9 mm hasta 8 mm correspondientes a la V79 y Bayo-CP (Cuadro 11).

Las variedades sembradas de frijol emergieron a los 7 días en promedio (Cuadro 12), las variedades en emerger más pronto lo hicieron a los 6 días después de la siembra y las que más tardaron lo hicieron a los 8 días después de la siembra. La longitud del hipocótilo en la etapa vegetativa III tomada a los 23 días después de la siembra, tuvo en promedio una longitud de 3.4 cm y el epicótilo presentó una longitud de 4 cm. El diámetro del hipocótilo en la población de frijoles descrita fue en promedio igual a 0.7cm.

Cuadro 12. Días a emergencia, longitud y diámetro de epicótilo e hipocótilo en etapa vegetativa 3 de cultivares de frijol bajo invernadero.

Variedad	DAE	LH3 (cm)	LE3 (cm)	DH3 (cm)
V1	6 ^{def}	3.9 ^{bcde}	4.8 ^{abcd}	0.5 ^{cd}
V8	6 ^{def}	3.1 ^{bcdefg}	3.7 ^{cdefghi}	0.5 ^{dc}
V13	6 ^f	3.4 ^{bcdefg}	3.2 ^{efghi}	0.5 ^{cd}
V54	6 ^{def}	4.0 ^{bcd}	4.6 ^{abcde}	0.5 ^{cd}
V59	6 ^{ef}	2.9 ^{bcdefghi}	3.1 ^{hi}	0.5 ^{cd}
V77	6 ^{def}	4.3 ^{ab}	4.6 ^{abcdef}	0.4 ^{cd}
V90	6 ^f	3.0 ^{bcdefgh}	3.0 ^{hi}	0.5 ^{cd}
V114	6 ^{def}	4.1 ^{bc}	5.0 ^{abc}	0.5 ^{cd}
V118	6 ^{def}	2.7 ^{cdefghi}	3.8 ^{bcdefghi}	0.4 ^{cd}
Bayo-CP	6 ^f	1.5 ⁱ	2.5 ⁱ	0.3 ^b
Negrito-CP	6 ^f	1.5 ⁱ	3.1 ^{ghi}	0.4 ^a
V5	7 ^{def}	3.9 ^{bcdef}	3.0 ^{hi}	0.4 ^{cd}
V52	7 ^{def}	4.1 ^{bcd}	4.0 ^{bcdefgh}	0.5 ^{cd}
V69	7 ^{def}	3.1 ^{bcdefg}	3.6 ^{cdefghi}	0.5 ^{cd}

DAE: días a emergencia, LH: longitud del hipocótilo, LE: longitud del epicótilo, DH: diámetro del hipocótilo.

Continuación de Cuadro 12. Días a emergencia, longitud y diámetro de epicótilo e hipocótilo en etapa vegetativa 3 de cultivares de frijol bajo invernadero.

Variedad	DAE	LH3 (cm)	LE3 (cm)	DH3 (cm)
Negrilo-CP	6 ^f	1.5 ⁱ	3.1 ^{ghi}	0.4 ^a
V5	7 ^{def}	3.9 ^{bcdef}	3.0 ^{hi}	0.4 ^{cd}
V52	7 ^{def}	4.1 ^{bcd}	4.0 ^{bcdefgh}	0.5 ^{cd}
V69	7 ^{def}	3.1 ^{bcdefg}	3.6 ^{cdefghi}	0.5 ^{cd}
V79	7 ^{def}	5.6 ^a	4.9 ^{abcd}	0.5 ^{cd}
V100	7 ^{def}	3.8 ^{bcdef}	5.2 ^{ab}	0.5 ^{cd}
V105	7 ^{def}	4.0 ^{bcd}	4.9 ^{abcd}	0.5 ^{cd}
V116	7 ^{def}	3.3 ^{bcdefg}	4.5 ^{abcdefg}	0.4 ^{cd}
V3	8 ^{bcdef}	3.4 ^{bcdefg}	3.3 ^{efghi}	0.5 ^{cd}
V6	8 ^{def}	3.7 ^{bcdef}	3.7 ^{cdefghi}	0.4 ^{cd}
V28	8 ^{bcd}	3.1 ^{bcdefg}	3.9 ^{bcdefghi}	0.4 ^{cd}
V30	8 ^{def}	3.5 ^{bcdef}	4.2 ^{abcdefgh}	0.4 ^{cd}
V62	8 ^{bcd}	2.5 ^{efghi}	3.2 ^{fghi}	0.5 ^{cd}
V73	8 ^{def}	4.3 ^{ab}	4.6 ^{abcde}	0.5 ^{cd}
V74	8 ^{bcde}	3.3 ^{bcdefg}	3.5 ^{defghi}	0.5 ^{cd}
V76	8 ^{bcd}	2.1 ^{ghi}	3.8 ^{cdefghi}	0.6 ^c
V80	8 ^{def}	3.8 ^{bcdef}	4.8 ^{abcd}	0.4 ^{cd}
V103	8 ^{def}	4.0 ^{bcd}	4.1 ^{abcefg}	0.5 ^{cd}
Peruano	8 ^{cdef}	2.5 ^{fghi}	3.1 ^{ghi}	0.5 ^{cd}

Las variedades de frijol presentaron el primer botón floral a los 44 días después de la siembra en promedio (Cuadro 13), donde la V8 presentó el primer botón a los y 41 días y la V90 lo presentó a los 53 días. El rango de variación de apertura de la primera flor ocurrió en promedio a los 47 días, es decir, tres días después de la aparición del botón floral. Consecuentemente, la formación de la primera vaina apareció a los 49 días en promedio.

En cuanto a las dimensiones de la flor, la longitud del estandarte estuvo en el rango de variación de 1 cm hasta 2.3 cm, contrario a lo ocurrido con la longitud del cáliz que hubo poca variabilidad de 0.3 cm a 0.5 cm. De esta manera, la longitud promedio de la flor fue igual a 1.9 cm (Cuadro 13).

Cuadro 13. Aparición de primer botón, flor y vaina y dimensiones de flor.

Variedad	DDSPB	DDSPF	DDSPV	LE (cm)	LC (cm)	LFT (cm)
Bayo-CP	23h	44bcde	17c	1.0c	0.4e	1.2cd
Negrilo-CP	23h	44bcde	18c	1.3c	0.4d	1.3cd
V8	41g	39e	42b	1.5b	0.6a	2.4bcd
V62	42fg	44bcde	49ab	1.4b	0.5abc	1.9cd
Peruano	42fg	44bcde	48b	1.6b	0.5abc	2.1cd
V1	43efg	46bcde	51ab	1.3b	0.4bcd	1.7cd
V13	43defg	47bcde	52ab	1.5b	0.5ab	2.1cd
V74	43defg	44bcde	49ab	1.2b	0.5ab	2.0cd
V76	43efg	45bcde	49ab	1.4b	0.5abcd	1.9cd
V79	43efg	46bcde	51ab	1.1b	0.5abcd	1.6cd
V114	43efg	47bcde	52ab	1.3b	0.5abcd	1.8cd
V118	43efg	46bcde	51ab	1.2b	0.5abcd	1.8cd
V30	44defg	47bcde	51ab	1.3b	0.4bcd	1.7cd
V54	44defg	47bcde	52ab	1.2b	0.4abcd	1.7cd
V77	44defg	47bcde	51ab	1.3b	0.4abcd	1.8cd
V80	44defg	48abcde	54ab	1.2b	0.4abcd	1.7cd
V103	44defg	47bcde	52ab	1.3b	0.5abcd	1.8cd
V105	44defg	48bcde	53ab	1.3b	0.4abcd	1.7cd
V73	45cdefg	39de	44b	1.3b	0.6ab	3.1ab
V116	45cdefg	49abcde	54ab	1.3b	0.4bcd	1.7cd
V5	46cdefg	49abcde	54ab	1.3b	0.4abcd	1.7cd
V52	48bcdef	53abcde	58ab	1.2b	0.5abcd	1.7cd
V69	48bcdefg	52abcde	56ab	1.3b	0.4abcd	1.7cd
V28	49bcde	41cde	49ab	2.3a	0.3cde	2.3bcd
V59	49bcde	52abcde	57ab	1.3b	0.5abc	1.8cd
V6	50abcd	53abc	58ab	1.2b	0.5abcd	1.8cd
V100	50abcd	54abc	68 ^a	1.3b	0.4bcd	1.7cd
V3	53ab	55abc	45b	1.3b	0.4bcd	2.8ab
V90	53ab	57ab	61ab	1.1b	0.5ab	1.7cd

DDSPB: días después de la siembra de la aparición del primer botón floral, DDSPF: días después de la siembra de la aparición de la primera flor, DDSPV: días después de la siembra de la aparición de la primer vaina, LE: longitud del estandarte, LC: longitud del cáliz, LFT: longitud floral total.

La primera vaina formada en la planta se observó a los 36.9 cm en promedio. La variedad V28 formó la primera vaina a 9.7 cm a partir del suelo y la V100 presentó su primera vaina a 106.3 cm (Cuadro 14). La localización de la primera vaina formada estuvo en función del hábito de crecimiento, las de tipo I fueron las que presentaron su vaina a menor altura y las de tipo IV lo hicieron a mayor altura. Las plantas de frijol tuvieron en promedio 7 ramas con 50 nudos y 49 entrenudos. Tales

características dependieron también del hábito de crecimiento. Así la V100 registró la mayor cantidad de nudos y entrenudos (Cuadro 14).

Cuadro 14. Características de la planta sobre altura, ramas, nudos y entrenudos.

Variedad	APV	NR	NN	NEN
V28	9.7 ^{ef}	24.2 ^{ab}	35.2 ^{hij}	23.2 ^{hi}
V74	11.6 ^{ef}	7.2 ^{ab}	53.6 ^{cdefgh}	50.1 ^{defghi}
V13	11.8 ^{ef}	4.7 ^b	32.1 ^{hij}	31.1 ^{ghi}
V1	13.0 ^{ef}	4.7 ^b	31.3 ^{hij}	30.3 ^{ghi}
V59	13.3 ^{ef}	4.7 ^b	33.2 ^{hij}	32.2 ^{ghi}
V8	13.5 ^{ef}	6.3 ^{ab}	21.6 ^{ij}	19.1 ⁱ
Peruano	14.0 ^{ef}	5.3 ^b	21.7 ^{ij}	20.7 ^{hi}
V62	15.7 ^{ef}	6.1 ^{ab}	19.5 ^{ij}	16.5 ⁱ
V118	16.4 ^{ef}	4.9 ^b	42.7 ^{efghij}	41.7 ^{efghi}
V80	16.6 ^{ef}	4.7 ^b	40.1 ^{fghij}	39.1 ^{fghi}
V30	16.7 ^{ef}	4.5 ^b	41.4 ^{fghij}	40.4 ^{efghi}
V79	17.5 ^{ef}	4.3 ^b	39.0 ^{ghij}	38.0 ^{fghi}
V90	18.3 ^{def}	5.0 ^b	45.2 ^{defghij}	44.4 ^{efghi}
V116	19.5 ^{def}	4.6 ^b	45.4 ^{defghij}	44.4 ^{efghi}
V76	20.2 ^{def}	4.8 ^b	23.5 ^{ij}	18.7 ⁱ
V114	21.2 ^{def}	4.7 ^b	46.0 ^{defghij}	45.0 ^{efghi}
V69	21.4 ^{def}	4.8 ^b	48.3 ^{defghi}	47.3 ^{efghi}
V105	21.5 ^{def}	4.6 ^b	40.2 ^{fghij}	39.2 ^{fghi}
V54	23.0 ^{cdef}	4.1 ^b	36.2 ^{ghij}	35.2 ^{ghi}
V77	23.0 ^{cdef}	13.6 ^{ab}	42.2 ^{efghij}	43.7 ^{efghi}
Negrilo-CP	30 ^{bcde}	6.1 ^{ab}	4.6 ^j	60.9 ^{cdefghi}
V103	44.8 ^{bcdef}	4.2 ^b	52.1 ^{cdefghi}	51.3 ^{cdefghi}
V6	51.9 ^{bcdef}	4.5 ^b	93.7 ^{abc}	93.8 ^{abcd}
V3	68.0 ^{bcdef}	3.6 ^b	87.5 ^{abcd}	86.5 ^{abcde}
V73	82.0 ^{bcde}	11.6 ^{ab}	81.7 ^{abcde}	72.6 ^{abcdefg}
V52	91.5 ^{bcd}	3.8 ^b	84.5 ^{abcde}	83.5 ^{abcdef}
Bayo-CP	95.1 ^{bc}	4.2 ^b	5.0 ^j	56.1 ^{cdefghi}
V5	99.0 ^{ab}	11.1 ^{ab}	42.2 ^{efghij}	46.4 ^{efghi}
V100	106.3 ^{ab}	5.2 ^b	115.7 ^a	114.7 ^{ab}

APV: altura a la primera vaina, NR: número de ramas, NN: número de nudos, NEN: número de entrenudos.

Similar que en el presente trabajo, un estudio realizado por Bascur y Tay (2005) en campo e invernadero para evaluar la diversidad genética de varios caracteres morfológicos en frijol en Chile, determinaron una gran variabilidad desde hábito de crecimiento I a IV con distintas formas de hoja, color de flor desde blanco a púrpura, diversidad en la forma, tamaño y color de vainas y forma de ápice. La semilla varió

de un tamaño pequeño a grande, con forma redonda a alargada y con gran variación en el color primario o en la combinación de ellos. Del total de accesiones evaluadas, material que usaron para el mejoramiento genético de tipos "tórtolas" y "coscorrón", estudios de heredabilidad y caracterización molecular. Pues para Robles (1986) la eficiencia de cualquier programa de mejoramiento se puede medir en su capacidad para generar variabilidad en la intensidad y la dirección requeridas, que inicialmente se debe partir de la variación existente en las colectas locales o en bancos de germoplasma nacionales e internacionales.

Para Cerón *et al.* (2001), en un estudio de selección de variables, de 24 caracteres cuantitativos evaluados de mayor importancia fueron: el número de nudos, la longitud del tallo principal, el número de vainas por planta, el peso de 100 semillas, el ancho de hojas primarias, días a floración y el número de semillas por vaina, estos caracteres mostraron la mayor contribución en la cuantificación de la variabilidad genética. Así mismo, para Ligarreto *et al.* (2003) la mayor variabilidad en frijol se observó en el peso de 100 semillas; longitud de vainas y del ápice de las vainas; número de nudos y de vainas por planta; y época de madurez fisiológica en frijol común mesoamericano y andino con base en 23 descriptores cuantitativos en siete ambientes.

González *et al.* (2007) realizó una caracterización de 86 accesiones de frijol pertenecientes al banco de germoplasma del INIA-CENIAP, Maracay, estado Aragua (Venezuela); con base a los caracteres asociados al rendimiento las variables de mayor importancia fueron altura de la planta, número de vainas por planta, y altura a la primera vaina, el análisis de varianza ($p \leq 0,01$) arrojó diferencias altamente significativas para los caracteres asociados al rendimiento. Se identificó un conjunto de materiales de frijol con caracteres favorables para el mejoramiento genético.

6.3. Diversidad de variedades analizadas en el laboratorio

Las variedades seleccionadas para el análisis de laboratorio fueron diversas en colores, tamaño grano, peso de grano y forma de grano (Figura 4). Considerando los rangos mostrados por Jacinto *et al.* (2002), se encontraron rangos de variación en tiempo de cocción de menos de 70 minutos hasta superior a los 100 minutos, donde el 80% fueron suaves a la cocción (Cuadro 15). Así mismo, hubo variación en el contenido de proteína, el 19% de las variedades fueron de contenido bajo, mientras que los frijoles de contenido promedio de proteína representaron el 49% y con igual porcentaje los frijoles con alto contenido (Cuadro 16). Estos análisis fueron realizados previamente en el laboratorio (Datos no presentados) donde se contempló un mayor número de variedades incluyendo las de la presente investigación.

Cuadro 15. Tiempo de cocción en las variedades de frijol estudiadas.

TIEMPO DE COCCIÓN			
Tiempo (minutos)	Catalogado	Frecuencia	
		Absoluta	Relativa %
Menor a 70	Suavidad a la cocción	20	80
Entre 70-100	Cocción intermedia	3	12
Superior a 100	Dureza a la cocción	2	8
total		25	100

Cuadro 16. Contenido de proteína en las variedades de frijol estudiadas.

CONTENIDO DE PROTEÍNA			
Proteína	Catalogado	Frecuencia	
		Absoluta	Relativa %
Menor a 20%	Bajo contenido	5	19
Entre 20-23.5%	Contenido promedio	11	41
Superior a 23.5%	Alto contenido	11	41
total		27	100



Figura 4. Diversidad de variedades de frijol evaluadas en laboratorio.

6.3.1. Análisis de datos de laboratorio. Sistema de notación de bandas de marcadores RAPD

Se generaron perfiles de bandeo a partir de la utilización de los 7 “primers” previamente seleccionados. Con las bandas determinadas se construyó una matriz de presencia-ausencia que representa el análisis con marcadores RAPD del germoplasma de *Phaseolus vulgaris*. A partir de los 31 materiales analizados, se identificaron 21 bandas distribuidas así: 2 bandas para el marcador OPC-19, 3 bandas para OPN-13, 6 bandas para OPL-11, 2 bandas para OPF-06, 1 banda para OPG-17, 6 bandas para OPF-10, y una banda para OP AE-19. (Anexo 3)

6.3.2. Diversidad de frijoles nativos de diferentes regiones del estado de Puebla

Las variedades de frijol presentaron variabilidad genética significativa, lo cual se reflejó en el polimorfismo detectado con los RAPDs en el análisis de agrupamiento mediante el programa NTSYS pc 2.2 el cual generó un dendograma construido a partir de los valores del índice de similitud de Dice, con nivel de corte igual a 0.48, donde se definieron 13 grupos integrados por diferente número de variedades (Figura 5).

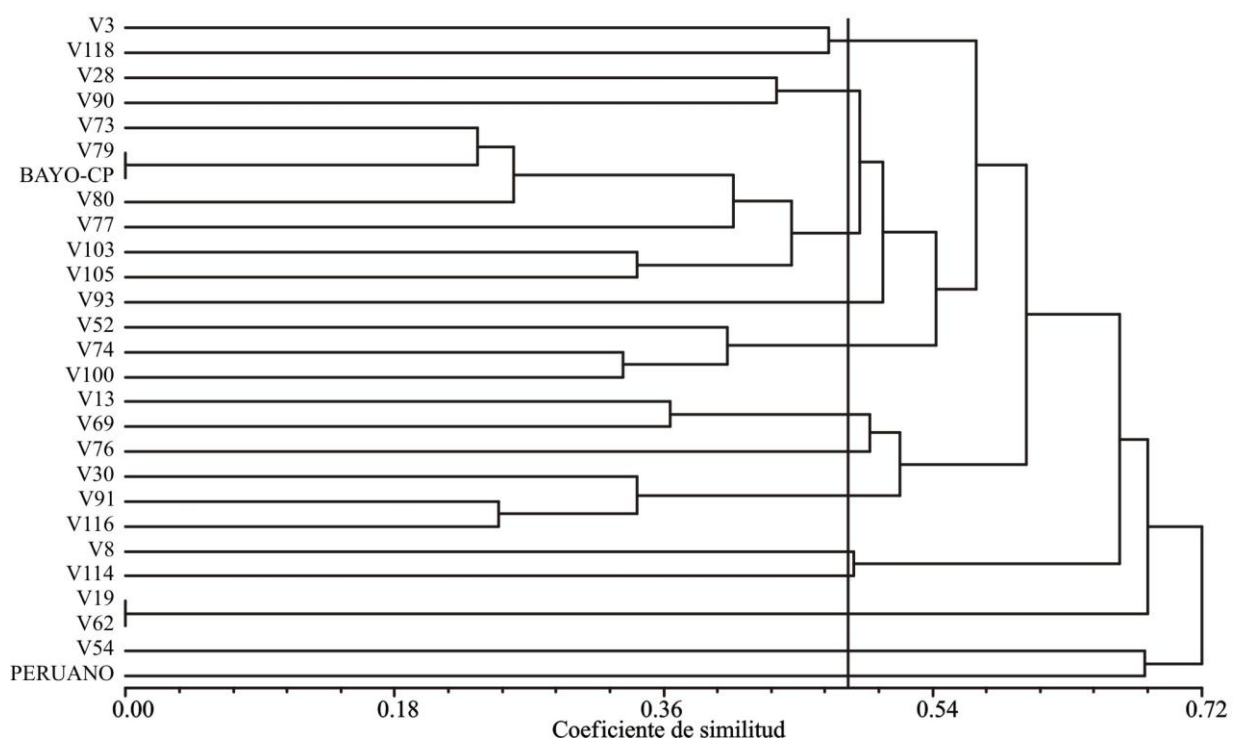


Figura 5. Agrupamiento de 27 genotipos de *Phaseolus vulgaris* L., basado en una matriz de similitud genética construida a partir del coeficiente de Dice.

El grupo I se integró por la V3 perteneciente a una mezcla de frijoles y la V118. Estas variedades son similares en bajo contenido de proteína (16.3 y 17.7% respectivamente), en tiempo de cocción rápido (55 y 67 min respectivamente) y en peso de 100 granos igual a 24.6 g en promedio. Ambas variedades serán utilizadas como genotipos con bajo contenido de proteína para ser cruzadas con genotipos con alta cantidad de proteína y formar una población segregante, de esta forma iniciar un programa de selección asistida por marcadores moleculares como se ha hecho en frijol para otros caracteres de importancia económica (Kelly *et al.*, 2003).

El grupo II se formó también con dos variedades similares en tiempo de cocción igual a 83 min en promedio, por lo que son considerados frijoles de cocción intermedia.

El grupo III presentó el mayor número de variedades (7), las cuales fueron similares en los caracteres edad a floración y tiempo de cocción. La diferencia en floración entre estas variedades fue de 2 días. El tiempo de cocimiento definido es considerado de cocción rápida, igual a 61 min en promedio.

El grupo IV se integró solamente por la V93 que sobresalió de los demás grupos en tiempo de cocción prolongado (141 min) por lo que se considera un frijol duro al cocimiento (Jacinto *et al*, 2002). Asimismo, fue de los más tardíos en edad a floración (57 días) pero sobresalió en un mayor peso de 100 granos (50.1 g).

En el grupo V se registraron tres variedades la V52, V74 y V100 unidas por los caracteres edad a floración de 43 a 50 días, peso de 100 granos de 37 g en promedio, tiempo de cocción intermedia y contenido de proteína promedio de 22.5%.

El grupo VI está conformado por las variedades V13 y V69 las cuales tienen similitud en edad a floración de 44 y 48 días respectivamente y son suaves a la cocción con un tiempo de 61min en promedio.

El grupo VII lo forma la V76, la cual es una variedad de 42 días de floración, peso en cien semillas de 47.38 g, es suave a la cocción (en 67 min) y contiene 21.89% de proteína.

Se encuentran formando el grupo VIII las variedades V30, V91 y V116, con características similares en edad a floración (45 días) y en contenido de proteína de (23.7% en promedio).

El grupo IX únicamente lo integra la variedad V8, la cual llega a floración a los 41 días, el peso de cien semillas es de 37.2 g, se incluye entre los frijoles blandos con tiempo de cocción igual a 61 min y contiene 27.1% de proteína.

La V114 integra el grupo X, se caracteriza por llegar a floración a los 43 días, cien semillas pesan 36.7 g, es suave a la cocción (61 min) y tiene 24.32% de proteína.

Integran el grupo XI las variedades V19 y V62, con similitud en las características edad a floración a los 46 y 41 días en promedio, 39.2g en promedio de peso en cien semillas, ambas son suaves a la cocción (58 min en promedio), contenido de proteína de 25y 23.8% respectivamente y ambas son de color de semilla amarillo. Este grupo fue el que abarcó más características similares.

El grupo XII está formado por la variedad V54, la cual a los 44 días está en floración, tiene un peso de 26.8 g en cien semillas, es suave a la cocción (58 min) y su contenido de proteína es de 25.2%.

En el grupo XIII lo integra solamente la variedad Peruano, de color se semilla amarilla, floración a los 42 días y con contenido de proteína de 21.83%.

En la conformación de los grupos de variedades de frijol mediante el coeficiente de Dice, no fue determinante el lugar geográfico donde se realizaron las colectas ni el color del grano. Las características que más influyeron en la integración de los grupos fueron la edad a floración, tiempo de cocción y contenido de proteína. Sin embargo en los grupos con mayor número de variedades hay un color de grano predominante. Esta tendencia ha sido reportada por Miranda *et al.* (2006) en frijoles criollos de Cuba. Sin embargo, también encontraron agrupamientos de frijoles de diferentes colores.

En otras regiones de México, como Hidalgo se han registrado diferencias en los frijoles nativos en tiempo de cocción y contenido de proteínas principalmente (Muñoz *et al.*, 2009). En los estados de México, Veracruz y Puebla se reporta mayor diversidad genética atribuida a la amplitud de nichos ecológicos y a la diversidad de condiciones climáticas y edáficas existentes (Avendaño *et al.*, 2004). Por el contrario, Vidal *et al.* (2006) mostraron la existencia de poca variabilidad genética dentro de genotipos de frijol negro en Tabasco, de acuerdo con los autores se debe a que es una zona considerada con poca diversidad de frijol en el país.

Estudios realizados con isoenzimas en frijoles negros provenientes de regiones distintas de México determinaron 68.7% de polimorfismo (Avendaño *et al.*, 2004), lo cual indica que el color de grano no es determinante en la similitud de una especie, sino que también hay otros caracteres implicados en la variabilidad genética de los genotipos. De igual forma, Vidal *et al.* (2006) encontraron agrupamientos de variedades de frijol realizados mediante RAPD-ISSR que no mostraron asociación con características morfológicas.

En una evaluación morfoagronómica y molecular realizada por Cruz *et al.* (2009) generó un dendograma generado a partir de RAPDs y tampoco se formaron grupos según la procedencia de los frijoles. Resultados con la misma tendencia reportados por Gómez *et al.* (2004) analizando la diversidad genética en frijoles de Nicaragua con marcadores microsatélite y morfológico, las variaciones a nivel molecular fueron explicadas por diferencias dentro y entre razas no entre las zonas agroecológicas.

Guachambala y Rosas (2010), en el dendograma generado del análisis molecular de frijol en Honduras encontraron dos situaciones contrastantes en similitud genética y lugares de recolección, en un caso forman un grupo con un coeficiente de similitud de 0.95 donde las accesiones fueron colectadas de comunidades muy cercanas y que son muy similares y otro caso donde forman otro grupo accesiones que presentan alta similitud genética con un coeficiente de similitud de 0.96, pero son de origen distante.

En la presente investigación, el uso de marcadores RAPD permitió identificar grupos de frijoles con características culinarias que los productores de frijol desean encontrar en los frijoles que cultivan. De esta manera, se está en condiciones de seleccionar los frijoles con precocidad significativa, blandos al cocimiento y contenido de proteína alto. Con esta última característica se seleccionarán las variedades con alto y bajo contenido para iniciar un programa de selección asistida por marcadores moleculares aprovechando el germoplasma nativo

6.4. Propuesta Estratégica de Investigación (Generación de conocimiento científico) Para el Mejoramiento Genético en Frijol

La propuesta se ubica en lo que se denomina proceso de generación, transferencia y aplicación de tecnologías, el cual explica acciones relacionadas con las fases de un proceso y a la vez cada una de ellas a procesos específicos en si mismos, que vía el proceso de la producción integran el proceso más amplio.

Lo anterior y para el presente caso, que el proyecto de investigación se realizó en relación con la agricultura tradicional, la que se considera como resultante de un patrón de tecnologías autogeneradas, culturalmente transferidas y persistentemente aplicadas. Se plantea un enfoque que busca atender de forma sistemática este tipo de agricultura, con el propósito de proponer alternativas a las necesidades de alimentos para la creciente población.

Para lo anterior se requiere fortalecer la infraestructura científica y tecnológica agropecuaria, la propuesta se ubica en los procesos de generación de tecnología, la cual desde la perspectiva de la investigación implica considerar los siguientes aspectos: la tecnología responde a las necesidades de quién produce y quienes se benefician de la producción, y debe responder al ámbito ecológico en que se desarrolla en relación con su contexto socioeconómico y cultural, considerando que el productor ha generado su propia tecnología, a través de ensayo y error y en respuesta a sus necesidades básicas de alimentación y contar con excedentes para la venta o intercambio.

Reconocemos que el proceso se desarrolla en un ambiente en el cual existe una distancia social entre campesinos, técnicos, científicos, funcionarios y políticos, la que se debe reducir. Asimismo no hay comprensión del proceso por parte de los organismos institucionales y de quienes lo administran; además se detecta imprecisión de las políticas hacia el sector rural.

Lo anterior lleva a definir responsabilidades de parte de quien genera el conocimiento: Considerando la investigación como la fuente generadora de conocimiento (básico y aplicado), la obligación de fortalecer la agricultura mediante la aplicación de la ciencia a partir de el diagnóstico y reconocimiento de los

problemas de la producción de frijol; definición de la problemática a investigar para su diseño y establecer en forma sistemática las relaciones con las otras partes del proceso.

En nuestro caso consideramos al productor como un ente participante en el proceso de investigación al proporcionar no solo sus variedades de frijol, sino una descripción de las características que lo llevan a producirlas, con el objetivo de que controle o sea participe de las etapas del proceso de generar, transferir y aplicar tecnologías. El reto es lograr su participación iniciando con el reconocimiento de sus tecnologías, sin interferir en sus valores (culturales, sociales y económicos), reconociendo su capacidad para el cambio tecnológico y para interactuar en condiciones de igualdad con la sociedad mayor.

6.4.1. La estrategia de Investigación (generación de conocimiento científico)

La formulación de esta estrategia como propuesta para el mejoramiento genético del frijol, tiene como propósito provocar el interés de los investigadores en torno a la importancia de la diversidad del germoplasma de frijol que existe en el estado de Puebla y por ende del país. De esta manera, propiciar mediante investigación y estudios el seguimiento de la tarea de la conservación y uso potencial de las variedades de frijol, que con todos los actores involucrados en otra fase del estudio, se podrá garantizar una continuidad de manera complementaria con la finalidad de llegar a manos de los productores con variedades ajustadas a sus necesidades.

Esta estrategia sugiere los procesos que establecen las relaciones metodológicas enfocadas a favorecer el uso potencial del frijol, lo cual conlleva a la generación de nuevos conocimientos y que la información obtenida se enfoque, en corto o mediano plazo para beneficio de los productores y sus familias, acción que va a derivar en un mejor aprovechamiento del germoplasma, aportes a la nutrición y beneficios en la comercialización.

Se consideran como puntos importantes de la propuesta: 1. La Valoración de la diversidad del recurso genético; 2. Conocimiento y manejo de la información y 3. Potencialización de su uso para un óptimo aprovechamiento.

La descripción del germoplasma.- El primer paso que permite conocer las principales características de las variedades que existen en una región es la descripción del germoplasma del frijol; ya que las plantas, dentro de una misma especie pueden presentar características variables a nivel morfológico y molecular lo cual resulta en una amplia diversidad de la especie.

Reconocimiento de variedades: El incremento de la población, crea la necesidad de implementar metodologías para la selección de variedades y desarrollar nuevas con caracteres deseables para los productores como: rendimiento de grano significativo, calidad nutricional expresada en contenido de proteína superior a la media reportada para la especie, resistencia a las plagas y enfermedades principales que dañan al cultivo, etc. Tales características presentan ventajas de calidad que implican un valor agregado de la especie, potenciándola a ubicarse comercialmente en nuevos mercados.

6.4.2. Para la realización de la estrategia se proponen las siguientes fases:

Fase 1: Selección de genotipos

- Realización de colectas de variedades de frijol en diferentes comunidades de las regiones consideradas en el estudio, comprar o solicitar a los agricultores de 0.5 a 1 Kg., a partir de técnicas participativas; registro de las colectas con el nombre de la localidad, municipio, estado, nombre del donante y tipo de crecimiento.
- Determinación de caracteres morfológicos de las semillas de las colectas: color, forma, peso, tamaño y volumen; complementado con el conocimiento de caracteres culinarios y nutricionales: tiempo de cocción, contenido de proteínas, entre otros.

Producto fase 1.- Se logra contar una amplia diversidad genética debido a que el origen del germoplasma provino de diversas condiciones de ambientes y tipos diferentes de las condiciones edáficas que existen en las regiones seleccionadas.

Fase 2: Evaluación de los genotipos

- Evaluación en campo de colectas de frijol realizadas en las distintas comunidades, para obtención de los componentes del rendimiento: número de vainas, peso de vainas, número de granos y peso de granos
- De las variedades evaluadas en campo se seleccionan las que expresaron mejor rendimiento de grano, precocidad, así como las variedades con mayor y menor contenido de proteína, menor y mayor tiempo de cocción del grano.
- Evaluación en invernadero para realizar la descripción morfológica de las variedades seleccionadas previamente: Descripción en planta y en frutos.
- Uso de marcadores moleculares para la caracterización de la diversidad genética del germoplasma.

Productos fase 2:

- Selección de mejores variedades: Para identificar las variedades que constituyan un mejoramiento del cultivo utilizado como punto de partida, determinando los caracteres útiles, como el rendimiento y la calidad.
- Caracterización de variedades por marcadores morfológicos: Contribuye a la descripción de características fenotípicas de fácil identificación visual como la forma, color, tamaño, altura de las plantas y frutos, ya que son importantes descriptores en la identificación de variedades.
- Caracterización de variedades por marcadores moleculares: Aunque los marcadores morfológicos han sido útiles para predecir la respuesta genética al seleccionar variedades, éstos pueden ser influenciados por el ambiente y por factores genéticos. Por tal razón, la descripción de tales características se debe complementar con estudios moleculares. Entonces, por la experiencia del estudio, se proponen los marcadores moleculares tipo RAPD, que permiten identificar diferencias y similitudes genéticas existentes en el germoplasma de frijol a nivel de ADN. Los resultados obtenidos proporcionan elementos que

apoyan la necesidad de realizar estudios más minuciosos, lo cual es esencial para el desarrollo de planes dirigidos a la conservación y el mejoramiento del cultivo.

Fase 3: Propuesta

Potencial de aceptación y adaptación a las zonas donde no se produce:

Para establecer el potencial de aceptación y adaptación de las variedades, se considera ampliar este trabajo con el fin de promover la conservación y utilización potencial de la diversidad genética de *P. vulgaris*. Sin embargo, los productores necesitan variedades que se adapten al ambiente en que se cultivan y que se adecuen a las prácticas de cultivo que realizan.

Mejoramiento genético.- Teniendo en cuenta los resultados obtenidos del estudio en relación al germoplasma de frijol utilizando marcadores morfológicos y marcadores moleculares tipo RAPD, y por estudios anteriores realizados con estas técnicas, se recomienda a investigadores que continúen con la caracterización del germoplasma, incluyan un mayor número de variedades nativas de *P. vulgaris* L., combinando ambos tipos de marcadores para liberar su capacidad potencial.

Visión a futuro.- Profundizar en la identificación de las colecciones del germoplasma de frijol con que cuentan los productores, para incrementar los conocimientos sobre la diversidad biológica de esta especie.

Consideramos los siguientes planteamientos realizados por Paredes y Álvarez (2008:106), en relación a la generación de conocimiento basado en la ciencia, como factor de desarrollo rural, y la importancia de la participación sistemática de los actores que intervienen, no solo en la generación de conocimiento sino también en los procesos de transferencia y aplicación de tecnología enmarcan la importancia de la propuesta estratégica como inicio del proceso de generación de conocimiento científico.

Un sistema como el planteado, requiere de una coordinación interinstitucional de las entidades que operan en el sector rural (tanto públicas como privadas), educativas,

de servicio y organizaciones no gubernamentales, en un ambiente político que favorezca su participación, siendo este, factor esencial para promover el desarrollo rural sustentable en el estado de Puebla.

El desarrollo de nuevas áreas de conocimiento de producción, de innovaciones en los métodos y medios de producción, es un factor decisivo para establecer nuevas estrategias de desarrollo en el marco de la globalización y la apertura comercial.

VII. CONCLUSIONES

- La recolección de germoplasma realizada en Puebla, provenientes de las siete regiones agroclimáticas con condiciones muy distintas de clima, suelo, y sistemas productivos mostró que existe variabilidad en las variedades de frijol, con base en los componentes del rendimiento, así como en sus características morfológicas y a nivel molecular.
- En la población de frijoles nativos se encontró variabilidad significativa mediante los marcadores moleculares tipo RAPD, técnica que resultó eficiente en la formación de grupos de variedades con caracteres morfológicos similares a través del polimorfismo producido.
- Se formaron en total 13 grupos con distinto número de variedades que fue desde una hasta siete. Los grupos tuvieron similitud en precocidad, tiempo de cocción, contenido de proteína y peso de 100 granos, tales caracteres son demandados por los productores de frijol y serán considerados en un programa de selección asistida por marcadores moleculares.
- Un fundamento para que el desarrollo continúe avanzando, es la ciencia; no solo por el conocimiento científico que produce, sino también por las actividades de investigación que conllevan a un aporte tecnológico, considerando nuevas técnicas y metodologías que enriquecen los procesos de producción, e incluso los de investigación, conduciendo a una interrelación entre tecnologías de investigación y tecnologías de producción.

VIII. Literatura Citada

- Acosta G, J, A; González R, H; Torres C, A; Cuéllar R, I; Acosta D, E. (2004) Impacto de la genotecnia en el cultivo del frijol en México, en R.E. Preciado y S.A. Ríos (eds.), Memoria del simposium Aportaciones de la genotecnia en la agricultura. Sociedad Mexicana de Fitogenética, Chapingo, pp. 36-57.
- Adam B, A, F; Sévignac M, Bannerot H. and Dron M. (1994) Scar, rapd, and rflp markers linked to the dominant gene (Are) conferring resistance to anthracnose. *Theoretical and Applied Genetics* 88: 865-870.
- Altieri M, A. (1999) ¿Por qué estudiar la agricultura tradicional? En *Agroecología y Agricultura Sostenible. Modulo 1: Agroecología: Bases históricas y técnicas*. CEAS-UNAH-ACTAF.
- Antunes P, L. and Sgarbieri V, C. (1980). Effect of heat treatment on the toxicity and nutritive value of dry bean (*Phaseolus vulgaris* var. rosinha (G2) protein. *J. Agric. Food Chem.* 28: 935-938.
- Avendaño C, H. (2001) Diversidad fenotípica e isoenzimática en cultivares nativos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) tipo negro. Tesis de maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco.
- Avendaño A, C, H; Ramírez V, P; Castillo G, F; Chávez S, J. L y Rincón E, G. (2004). Diversidad isoenzimática en poblaciones nativas de frijol negro. *Ver. Fitotec. Mex.* 27 (1): 31-40.
- Bascur B, G. y Tay U, J. (2005) Colecta, caracterización y utilización de la variabilidad genética en germoplasma chileno de poroto (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agri. Téc. (Chile)*, 65 (2): 135-146.
- Beebe S; Sckroch P, W; Thome J; Duque M, C; Pedraza F. (2000) Structure of genetic diversity among common bean landraces of Middle American origin based on correspondence analysis of rapd. *Crop Science* 40: 264-273.
- Becerra V, V. y Paredes C, M. (2000) Uso de Marcadores Bioquímicos y Moleculares en estudios de diversidad genética. *Agric. Téc.*, 60 (3): 270-281.
- Brücher H. (1988) The wild ancestor of *Phaseolus vulgaris*. En: Gepts, P. (ed). *Genetics resources of Phaseolus beans: their maintenance, domestication, evolution and utilization*, Kluwer. Dordrecht, Holanda, pp 185-214.
- Cárdenas F A (1984) Clasificación preliminar de los frijoles en México. Folleto técnico núm. 81, inifap-sarh, México.
- Cárdenas F, A. (2000) Investigación agrícola sobre frijol en México durante el periodo 1943 a 1980. *Agricultura Técnica en México* 26: 63-78.

- Castellanos J, Z; Guzmán M, H; Jiménez A; Mejía C; Muñoz R, J. J; Acosta G, J. A; Hoyos G; López S, E; González E, D; Salinas P, R; González A, J; Muñoz V, J. A; Fernandez H, P. y Cázares B. (1997) Hábitos preferenciales de los consumidores de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en México. Arch. Latinoamericam. Nutr. 47:163-167.
- Castillo M, M; Ramírez V, P; Castillo G, F. y Miranda C, S. (2006) Diversidad morfológica de poblaciones nativas de frijol común y frijol ayocote del oriente del Estado de México. Rev. Fitotec. Méx., 29 (2): 111-119.
- Cerón L, M. D. S; Ligarreto M, G; Moreno M, J. D. y Martínez W, O. (2001) Selección de variables cuantitativas y clasificación de 22 accesiones de frijol arbustivo (*Phaseolus vulgaris* L.). Rev. Corpoica. Colombia. 3:2 31-38
- Cruz B, J; Camarena M, F; Baudoin J, P; Huaranga J, A. y Blas S, R. (2009) Evaluación agromorfológica y caracterización molecular de la ñuña (*Phaseolus vulgaris* L.) IDESIA (Chile) Vol. 27, Nº 1; p: 29-40.
- Davis H, C. J. (1985) Conceptos básicos de genética de frijol. In: Investigación y producción. CIAT-PNUD. Pp 81-88.
- Debouck D, G. (1985) Morfología de la planta de frijol. CIAT, Cali, Colombia.
- Debouck D, G. and Smartt J. (1995) Beans, en J. Smartt y N.W. Simmonds (eds.), Evolution of crop plants. Longman, Harlow, UK, pp. 287-294.
- Degand J; Vandercam F; Pierard O. and Installé M. (1994) Analyse du risque lié à l'adoption des systèmes intensifs de production: le cas des camellones chontales. Cahiers Agricultures 3: 31-38.
- Delgado A; Bibler R. and Lavin M. (2006) Phylogeny of the genus *Phaseolus* (Leguminosae): A recent diversification in an ancient landscape. Systematic Botany 31: 779-791.
- Díaz R, R; Ramírez P, A. R; y Paredes S, J. A. (2008). Diversidad de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado en diferentes regiones del estado de Puebla. En: E. Reyes-Altamirano y J. A. Paredes-Sánchez (Coordinadores), Seguridad alimentaria en Puebla: prioridad para el desarrollo. Secretaría de Desarrollo Rural del Gobierno del Estado de Puebla, Colegio de Postgraduados Campus Puebla. Editorial Altres Costa-Amic, México. p 225-235.
- Ehlers J, D. and Sterner M, H. (2000) Bean-nut popping beans, No. 6,040,503. U.S. Patent and Trademark Office. [En línea], disponible en: <http://patft.uspto.gov/netacgi/nph-Parser?Sect1=PTO1&Sect2=HITOFF&d=PALL&p=1&u=/netahtml/srchnum.htm&r=1&f=G&l=50&s1=6,040,503.WKU.&OS=PN/6,040,503&RS=PN/6,040,503> [Accesado el día 20 de diciembre de 2007].
- Enciclopedia de los Municipios de México. (2009). Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, Gobierno del Estado de Puebla. [En

línea] disponible en: <http://www.e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/puebla/regi.htm>. [Accesado el día 22 de julio de 2011]

- Gepts P. and Debouck D, G. (1991) Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), en A.v. Schoonhoven y O. Voysest (eds.), Common beans: Research for crop improvement. CIAT-C.A.B. International, Wallingford, Oxon, UK, pp. 7-53.
- Gómez O, J; Blair M, W; Frankow L, B.E and Gullberg U. (2004) Molecular and phenotypic diversity of common bean landraces from Nicaragua. *Crop sci.* 44:1412-1418.
- González G; Pérez D; Trujillo A; y Gutierrez M. (2007) Caracterización morfológica de 86 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) pertenecientes al banco de germoplasma del INIA-CENIAP. XVII Con. Ven. Bot.
- González A; Wong A; Delgado A; Papa R. and Gepts P. (2005) Assessment of inter simple sequence repeat markers to differentiate sympatric wild and domesticated populations of common bean. *Crop Science* 45: 606-615.
- Guachambala C, M. S y Rosas S, J. C. (2010) Caracterización molecular de accesiones cultivadas y silvestres de frijol común de Honduras. *Agronomía Mesoamericana.* 21 (1): 51-61.
- Herrera C, B. E; Díaz R, R. y Muñoz O, A. (1993) Variación genética en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en la Cordillera Del Tentzo, Puebla. *Memorias del I Simposio Internacional y II Reunión Nacional sobre Agricultura Sostenible. México.*, pp 193-198.
- Hidalgo R. (1991) CIAT's World Phaseolus Collection. In Common beans Research for crop improvement. A. Van Schoonhoven & O. Voysest eds. CIAT, Cali' Colombia. 163-178.
- Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. (2011) [En línea] disponible en: [http:// www. inafed.gob.mx/work/templates/enciclo/EMM21puebla/municipios/21191a.html](http://www.inafed.gob.mx/work/templates/enciclo/EMM21puebla/municipios/21191a.html).
- IPGRI (2001) Descriptores para *Phaseolus vulgaris*. International Plant Genetic Resources Institute. Rome.
- Jacinto H, C; Hernández S, H; Azpíroz R, S; Acosta J, A. y Bernal L, I. (2002) Caracterización de una población de líneas endogámicas de frijol común por su calidad de cocción y algunos componentes nutrimentales. *Agrociencia* 36: 451-459.
- Kelly J. D; Gepts P; Miklas P. N. and Coyne D. P. (2003) Tagging and mapping of genes and QTL and molecular marker-assisted selection for traits of economic importance in bean and cowpea. *Field Crops Res.* 82: 135-154.

- Koenig R. and Gepts P. (1989) Allozyme diversity in wild *Phaseolus vulgaris*: Further evidence for two major centers of genetic diversity. *Theoretical and Applied Genetics* 78 : 809-817.
- Ligarreto G. A. (2003). Caracterización morfológica de germoplasma. Estudios de casos. Caso 2: Análisis de la variabilidad genética en frijol. In: Franco, T., y R. Hidalgo (eds). Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín Técnico 8. IPGRI. Roma, Italia. pp: 40-49.
- Martínez W, O. (1995) Análisis estadístico en biología molecular: Uso y aplicación en poblaciones vegetales. Memorias Simposio Internacional de Estadística en Agricultura y Medio Ambiente "Conferencia Satélite". CIAT,Cali, Colombia.p. 152-170.
- Metzger R, J. and Silbaugh B, A. (1970) Inheritance of resistance to trip rust and its association with brown glume colour in *Triticum aestivum* L. *Crop Sci.*, 10: 495-496.
- Miranda L, S; Rosas S, J. C; Aranda R, L. L; Ortiz P, R; Ponce B, M. y Rios L, H. (2006) Análisis molecular de la diversidad genética de frijol común manejada por campesinos en Cuba. *Agronomía Mesoamericana*. 17 (3): 369-382.
- Muñoz S, R. (2010) Rica fuente de proteínas. *CONABIO. Biodiversitas*, 89:7-11.
- Muñoz V, E. E; Rubio H, D; Bernal L, I; Garza G, R. y Jacinto H, C. (2009) Caracterización de genotipos nativos de frijol del estado de Hidalgo, con base a calidad del grano. *Agricultura Técnica en México*. 35 (4): 426-435.
- Nadal, M. S., Moreno, Y. Ma. T., y Cubero S. J. I. (2004) Las leguminosas grano en la agricultura moderna. Mundi-Prensa. España.
- Navarro S, F. J. (1983) Marco de referencia del área, En: Frijol en el Noroeste de México (Tecnología de producción). Lépiz I.R. y S.F.J. Navarro (Eds). SARH, INIA, CIAPAN, CAEVAC. Comisión Permanente para la Investigación y Experimentación Agrícola en Sinaloa. Primera Edición. Culiacán, Sinaloa. México.;p:1-28.
- Nabhan G, P; Weber C, W. and Berry J, W. (1985) Variation in composition of Hopi Indian beans. *Ecology of Food and Nutrition*.16:135-152.
- Navarro S, F. J. (1983) Marco de referencia del área. En: Frijol en el Noroeste de México (Tecnología de producción). Lépiz I.R. y S.F.J. Navarro (Eds). SARH, INIA, CIAPAN, CAEVAC. Comisión Permanente para la Investigación y Experimentación Agrícola en Sinaloa. Primera Edición. Culiacán, Sinaloa. México;p:1-28.
- Nuez F; Carrillo J, M. y De Ron A, M. (2000) Introducción. In: Los Marcadores Genéticos en la Mejora Vegetal. Nuez F., Carrillo J. M. (eds.). Sociedad Española de Genética y Universidad Politécnica de Valencia. Editorial U.P.V. Valencia, España. pp 23-89.

- Pallottini L; García E; Kami J; Barcaccia G. y Gepts P. (2004) The genetic anatomy of a patented yellow bean. *Crop Science* 44: 968-977.
- Paredes S, J. A. y Álvarez G, J. F. (2008) *IV Diseño metodológico de la operación de un proyecto para la seguridad alimentaria en Puebla. En: Jiménez M., F. A. Seguridad alimentaria en Puebla: importancia, estrategias y experiencias. Colección "La Agricultura en Puebla"; Serie:"Seguridad Alimentaria" No. 1; Ed. Altres Costa-Amic; ISBN: 968-839-539-0; Puebla, México; pág. 301.*
- Payró E; Gepts P; Colunga P. and Zizumbo D. (2005) Spatial distribution of genetic diversity in wild populations of *Phaseolus vulgaris* L. from Guanajuato and Michoacán, Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52 : 589-599.
- Pitrat M. (1991) Linkage groups in *Cucumis melo* L. *J. Hered.*, 82: 406-411.
- Rafalski J, A; Hanafey M, K; Tingey S, V. and Williams J, G. K. (1994) Technology for molecular breeding: RAPD markers, microsatellites and machines. In: *Plant genome analysis. Gresshoff P. M. (ed.) CRC Press, Inc. Boca Raton. pp 19-27.*
- Robinson R, W; Providenti R. and Schroeder W, T. (1970) A marker gene for tobacco mosaic resistance. *TGC Rep.*, 20-55.
- Robles S, R. (1986) *Genética elemental y fitomejoramiento práctico. 1a. Edición. Limusa, México.*
- Rosales R; Hernández S; González M; Acosta J. A. and Mayek N. (2005) Genetic relationships and diversity revealed by aflp markers in Mexican common bean bred cultivars. *Crop Science* 45: 1951-1957.
- Rosales R; Acosta J, A; Durán R, P; Guillén H. y Pérez P. (2003) Diversidad genética del germoplasma mejorado de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en México. *Agricultura Técnica en México* 29(1):11-24.
- Sambrook J; Fritsch E, F. and Maniatis T. (1989) *Molecular Cloning: a laboratory manual. Segunda edición. N.Y., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1659 p.*
- SAS (2002) *SAS/STAT guide for personal computer, ver. 9 SAS Inst., Inc., Cary, N.C. USA.*
- Saury A, R. (1996) Tabasco: el petróleo y los cambios en los patrones productivos comunitarios. *Oilwatch México. Boletín No. 6. [En línea]. Disponible en: <http://www.laneta.apc.org/oilwatch/impactab.html>. [Accesado el día 25 de mayo de 2010]*
- Singh S, P; Gepts P. and Debouck D, G. (1991a) Races of common bean (*Phaseolus vulgaris* Fabaceae). *Economy Botany* 45 : 379-396.
- Singh S, P; Nodari R. and Gepts P. (1991b) Genetic diversity in cultivated common bean. I. Allozymes. *Crop Science* 31 : 19-23.

- Torres A, M; Weeden N, F. y Martín A. (1993) Linkage among isozyme, RFLP and RAPD markers in *Vicia faba*. *Theor. Appl. Genet.*, 85: 937-945.
- Vázquez J, F; Sánchez Y. y Carrillo J, M. (2000) Marcadores morfológicos y bioquímicos. In: *Los Marcadores Genéticos en la Mejora Vegetal*. Nuez F., Carrillo J. M. (Eds.). Sociedad Española de Genética y Universidad Politécnica de Valencia. Editorial U.P.V. Valencia, España. pp 23-89.
- Vidal B, A; Lagunas E, L. C; Valadez M, E. y Ortiz G, C. F. (2006) Variabilidad morfológica y molecular de cultivares criollos y mejorados de frijol común en Tabasco, México. *Rev. Fitotec. Méx.* 29 (4): 273-281.
- Voysest O. (2000) Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Legado de variedades de América Latina 1930-1999, ciat-Profriza, Cosude, Cali, Colombia.
- Weir B, S. (1996) *Genetic data análisis II*. Sinauer Associates, Inc. Publisher. Sunderland, Massachusetts, USA. 444p.
- White T, J; Arnheim N. y Erlich H. (1989) The polymerase chain reaction. *Trends in Genetics* 5:185-188.
- Williams J, G. K; Kubelik A, R; Livak K. J; Rafalski J, A. and Tingey S, V. (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res*, 18: 6531-6535.

IX. Anexos

Anexo 1. Material utilizado en invernadero, seleccionado de campo.

VARIEDAD	ORIGEN DE LA COLECTA		
	MUNICIPIO	LOCALIDAD	REGIÓN
V1	Acteopan	Sta. Ma. Atzitzintla	Valle de Atlixco y Matamoros
V3	Hueyapan	Sta. Ma. Atzitzintla	Valle de Atlixco y Matamoros
V5	Acteopan	Santa María Atzitzintla	Valle de Atlixco y Matamoros
V6			
V8	Acteopan	Atzintzintla	Valle de Atlixco y Matamoros
V13	Huehuetlán el Grande	Sn. Nicolas Huajuapán	Mixteca
V19	Huehuetlán el Grande	Sn. Nicolas Huajuapán	Mixteca
V28	Los Reyes de Juárez	Benito Juárez	Valle de Serdan
V30	Coatepec	Sn. Francisco Mixtla	Sierra Norte
		Tlacotepec de Benito	
V50	Tlacotepec de Benito Juárez	Juárez	Tehuacán y Sierra Negra
V52	Ixcaquixtla	Sn. Juan Ixcaquixtla	Mixteca
V54	Ixcaquixtla	Sn. Juan Ixcaquixtla	Mixteca
V59	Pantepec		Sierra Norte
V60	Chiconcuautla	Benito Juárez	Norte
V62			
V69	Soltepec		Valle de Serdan
V73			
V74	Calpan	Sn. Andrés Calpan	Angelópolis
V76	Calpan	Sn. Lucas Atzala	Angelópolis
V77	Sn Mateo Calputitlax		Nororient
V79	Calpan	Sn. Lucas Atzala	Angelópolis
		Sn. Buenaventura	
V80	Nealtican	Nealtican	Angelópolis
V90	Xochiapulco	Tlahuixticpactampa	Norte
V91	Xochiapulco	Tlahuixticpactampa	Norte
V93	Xiutetelco	Sn. Salvador	Nororient
V100	Calpan	Sn. Andrés Calpan	Angelópolis
V103	Sta. María Techachileo		
V105	Serdan		Valle de Serdan
			Valle de Atlixco y Matamoros
V114	Sn. Jerónimo Tecuanipan	Papaxtla	Matamoros
V116	Tlachichuca	Tlachichuca	Valle de Serdan
V118	Tlachichuca	Jose Ma. Morelos	Valle de Serdan
Bayo CP			
V-Cuije	Tulcingo del Valle		Mixteca
Negrito CP			
V-Peruano	Tulcingo del Valle		Mixteca

Anexo 2. Variedades nativas sembradas en campo (orden decreciente por número de vainas totales).

Variedad	RG (g)	NV	PV (g)	NVB	PVB (g)	NVM	PVM (g)
202	17.55	250	148.20	222	144.65	29	3.55
99	11.82	156	121.67	130	119.76	26	1.915
153	11.85	152	126.70	139	106.05	13	1.65
67	13.08	149	111.00	116	102.50	33	8.5
8	15.89	140	98.65	71	92.05	38	6.6
62	20.10	136	133.60	121	128.00	24	5.6
155	17.51	135	115.50	122	114.20	13	1.3
94	27.10	131	86.70	118	105.85	13	4.75
203	26.40	129	87.30	105	84.10	24	3.1
44	6.61	126	101.80	103	98.40	23	3.4
28	8.82	122	78.10	90	75.80	32	2.3
56	17.77	118	133.30	116	130.75	3	0.3
116	14.54	118	75.15	91	73.35	27	1.8
51	12.47	114	89.15	102	86.90	12	2.25
54	17.68	110	56.55	89	103.85	21	2.7
22	22.28	110	89.20	96	86.60	19	1.75
55	3.10	109	212.35	103	211.25	7	0.37
6	5.45	108	35.00	32	32.90	6	2.1
63	26.52	107	192.55	105	193.00	3	0.55
2	1.87	105	17.30	19	16.80	8	2.56
74	13.13	104	114.55	95	110.50	9	3.75
36	11.80	101	79.45	88	77.80	13	1.65
115	11.91	101	78.85	82	75.90	19	2.5
3	3.03	98	21.40	23	21.10	3	0.3
80	18.13	98	102.40	82	98.75	16	3.65
77	15.17	97	110.91	88	110.25	6	1.2
30	8.67	94	57.40	62	54.05	33	3.55
152	15.84	93	108.95	82	107.05	11	2.4
158	14.89	93	105.10	88	102.70	5	2.4
75	1.60	92	37.25	34	25.00	59	12.45
57	12.87	91	85.35	80	83.60	11	1.75
108	7.37	90	71.44	78	68.08	15	3.365
15	11.00	89	78.75	70	66.75	20	1.45
81	10.31	88	87.85	78	85.96	10	1.8
113	7.62	88	70.35	78	68.85	10	1.6
1	14.25	87	80.45	85	79.70	7	0.75
90	11.49	87	62.80	78	61.80	9	1
103	14.27	87	73.42	71	72.05	16	2
26	9.54	85	64.05	61	61.10	24	2.95
114	14.62	85	110.95	81	108.40	4	2.55
76	33.16	83	162.50	75	161.15	9	1.35
79	13.38	83	96.60	79	95.55	5	1
148	11.36	81	95.00	70	93.60	11	1.4
105	15.63	78	92.65	70	92.10	8	0.55
107	7.15	77	71.35	76	71.70	7	1.15

Continuación de Anexo 2. Variedades nativas sembradas en campo (orden decreciente por número de vainas totales).

Variedad	RG (g)	NV	PV (g)	NVB	PVB (g)	NVM	PVM (g)
37	10.67	75	72.50	63	70.65	12	1.85
32	8.10	74	59.65	65	59.25	9	0.6
149	9.26	74	88.95	65	87.95	9	1
25	10.89	73	42.70	57	57.30	16	2
17	7.81	72	51.35	48	48.20	24	3.15
147	6.95	70	72.70	60	71.40	10	1.3
96	6.82	69	57.60	62	56.75	7	0.85
118	7.49	69	71.25	54	49.60	16	21.65
117	10.48	68	51.45	62	50.85	6	0.6
21	8.80	66	53.75	57	52.10	9	1.65
23	8.43	65	33.30	54	32.30	11	1
112	12.59	62	73.35	57	72.90	6	0.45
31	6.83	61	42.75	50	42.05	11	0.7
150	5.98	58	13.55	38	10.95	20	2.6
33	8.62	57	52.95	55	52.15	2	0.8
70	11.33	57	69.97	53	69.95	7	0.65
7	9.14	52	52.45	47	70.50	11	1.05
5	4.64	52	42.65	42	41.50	10	1.15
69	6.79	50	39.21	33	36.75	18	3.505
60	4.96	46	33.40	45	33.30	1	0.1
34	9.62	46	52.40	41	51.75	5	0.65
19	5.33	45	30.20	32	28.80	13	2
4	5.86	45	144.90	92	73.00	48	71.9
97	7.93	45	29.30	41	28.90	4	0.4
78	13.07	44	88.50	80	85.20	24	3
58	2.53	41	39.10	34	37.60	7	1.5
111	6.97	39	32.30	34	33.05	5	0.75
20	3.12	39	22.25	28	21.70	5	0.55
14	7.11	38	57.30	63	52.95	35	4.35
199	8.02	35	37.55	29	34.55	6	1
106	4.05	31	28.70	30	28.45	3	0.25
11	5.35	27	39.05	39	42.80	6	0.75
9	2.23	26	12.45	12	11.85	5	0.6
13	14.95	25	87.65	98	87.18	8	0.5
52	3.89	25	26.15	20	25.35	5	0.8
10	2.53	22	25.05	27	24.05	10	0.635
201	1.85	19	12.40	15	12.00	4	0.4
12	3.50	17	8.15	19	7.45	7	3.05
59	20.53						
71	12.44						
Media	10.8	81.4	73.2	69.2	71.2	13.6	3.1

*RG= rendimiento de grano, NV= número total de vainas, PV= peso total de vainas, NVB= número de vainas buenas, PVB= peso de vainas buenas, NVM= número de vainas malas, PVM= peso de vainas malas.

Anexo 3. Marcadores RAPDs polimórficos utilizados en 27 variedades de frijol.

Var.	OPC19A	OPC19B	OPN13A	OPN13B	OPN13C	OPL11A	OPL11B	OPL11C	OPL11D	OPL11E	OPL11F	OPF06A	OPF06B	OPG17A	OPF10A	OPF10B	OPF10C	OPF10D	OPF10E	OPF10F	OPAE19A
V3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1
V8	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0
V13	0	0	.	.	.	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1
V19	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0
V28	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1
V30	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1
V52	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	.
V54	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
V62	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	.	.	1	0	0	0	0	1	0	0
V69	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	.	.	1	0	0	0	0	0	1	.
V73	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0
V74	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0
V76	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0
V77	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
V79	0	0	.	.	.	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0
V80	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1
V90	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1
V91	0	0	.	.	.	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	.
V93	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1
V100	0	0	.	.	.	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
V103	0	0	.	.	.	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0
V105	0	0	.	.	.	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	.
V114	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
V116	0	0	.	.	.	0	1	0	1	1	0	0	1	.	0	0	0	1	1	1	1
V118	0	0	.	.	.	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1
VBAY	0	0	.	.	.	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0
VPER	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0