



CRIA

Programa de consorcios de Investigación Ag



GOBIERNO *de*
GUATEMALA
DR. ALEJANDRO GIAMATTI

MINISTERIO DE
AGRICULTURA,
GANADERÍA
Y ALIMENTACIÓN



Agrocadena de Frijol
Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas ICTA

Caracterización morfológica, molecular, industrial y culinaria de doce genotipos de frijol común arbustivo adaptados al Oriente de Guatemala.

Investigadora Principal

Angela Miranda

Investigadores Asociados

José Figueroa

Gabriela Tobar

Aura Suchini

Erick Aguilar

Guatemala, Febrero de 2020

Este proyecto fue ejecutado gracias al apoyo financiero del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés). Las opiniones expresadas en esta publicación son las de sus autores o institución a la que pertenecen. La mención de empresas o productos comerciales no implica la aprobación o preferencia sobre otros de naturaleza similar que no se mencionan.

CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1 Frijol común	4
2.2 El frijol común en Guatemala	4
2.3 El genoma del frijol común	6
2.4 Fenología del frijol común	6
2.4.1 Fase vegetativa	6
2.4.2 Fase reproductiva	6
2.5 Descripción de Fenotipo	7
2.6 Clasificación de los caracteres descriptivos	8
2.6.1 Caracteres fijos	8
2.6.2 Caracteres variables	8
2.7 Marcadores moleculares para el análisis de diversidad	8
2.8 Caracterización molecular con microsatélites (SSR) en frijol	9
2.9 Caracterización culinaria y calidad de grano	9
2.9.1 Endurecimiento del grano	10
3. OBJETIVOS	11
3.1 General	11
3.2 Específicos	11
4. MATERIALES Y MÉTODOS	11
4.1 Genotipos	11
4.2 Caracterización morfológica de los genotipos	11
4.2.1 Localidad y época	11
4.2.2 Tamaño de la parcela	12
4.2.3 Tamaño de la muestra	12
4.2.4 Variables de respuesta	12
4.2.5 Toma de datos	12
4.2.6 Análisis de la información de la caracterización morfológica	12

4.2.7	Manejo del cultivo en campo	13
4.3	Caracterización molecular de los genotipos	13
4.3.1	Localidad y época	13
4.3.2	Material vegetal	13
4.3.3	Extracción y cuantificación de ADN	13
4.3.4	Amplificación mediante PCR	13
4.3.5	Electroforesis	14
4.3.6	Análisis de datos	14
4.4	Caracterización de la calidad industrial y culinaria	15
4.4.1	Localidad y época	15
4.4.2	Tamaño de la muestra	15
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
5.1	Caracterización Morfológica	16
5.1.1	Caracteres morfológicos cuantitativos	16
5.1.2	Caracteres morfológicos cualitativos	19
5.1.3	Características fenológicas de los genotipos	23
5.1.4	Análisis de conglomerados	23
5.2	Caracterización molecular (diversidad genética)	25
5.2.1	Estructura de Población	26
5.2.2	Diversidad genética por poblaciones	29
5.2.3	Huellas genéticas	29
5.2.4	Análisis de la caracterización molecular	31
5.3	Caracterización industrial y culinaria	32
5.3.1	Características físicas	32
5.3.2	Contenido nutricional	34
6.	CONCLUSIONES	35
7.	RECOMENDACIONES	35
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
9.	ANEXOS	39

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Genotipos de frijol caracterizados morfológica, molecular, industrial y culinariamente. ICTA, Guatemala, 2019.....	11
Cuadro 2 Caracteres morfológicos de tipo cuantitativo de 12 genotipos de frijol arbustivo. ICTA, Guatemala, 2019.....	17
Cuadro 3 Rango de características morfológicas cuantitativas realizadas con intervalos de confianza (95%). ICTA, Guatemala, 2019.....	17
Cuadro 4 Características morfológicas cualitativas en estado de plántula de los genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.....	19
Cuadro 5 Características morfológicas cualitativas al momento de floración de los genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.....	20
Cuadro 6 Características morfológicas cualitativas al momento de madurez fisiológica de los genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.....	21
Cuadro 7 Características morfológicas cualitativas al momento de la cosecha de los genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.....	22
Cuadro 8 Características fenológicas de los genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.....	23
Cuadro 9 Estadísticas de diversidad en los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.....	25
Cuadro 10 Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) para los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.....	26
Cuadro 11 Índices de fijación (Fst) de los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.....	27
Cuadro 12 Resultados de diversidad genética por subpoblación para los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.....	29
Cuadro 13 Características físicas de los granos pertenecientes a los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.....	32
Cuadro 14 Valores de color basados en la escala L, a, b realizado a los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.....	33
Cuadro 15 Contenido bromatológico de los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Fases de desarrollo de cultivo de frijol.....	7
<i>Figura 2.</i> Análisis de conglomerado realizado a los genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala.....	24
<i>Figura 3.</i> Resultados de estructura de población con K=4 en los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala.	26
<i>Figura 4.</i> Análisis de Componentes Principales para los 12 cultivares de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala.	28
<i>Figura 5.</i> Análisis de conglomerados para los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala.....	29
<i>Figura 6.</i> Huella genética de los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala.....	30

RESUMEN

El presente estudio consiste en la caracterización agromorfológica, molecular y culinaria de doce genotipos de frijol. Se desarrolló en Ipala, Chiquimula, para identificar caracteres morfológicos y fenológicos. El análisis de los datos se realizó a través de estadística descriptiva y un análisis de conglomerados y componentes principales. Morfológica y fenológicamente los genotipos se agruparon en seis grupos. ICTA Ligero e ICTA Petén presentan plantas de porte bajo (47-59 cm) de crecimiento arbustivo determinado, y semilla pequeña; ICTA Sayaxche, ICTA Patriarca e ICTA Zam son plantas de porte medio (72-82 cm) con guía corta, 35 a 40 días a floración; ICTA Ostua, ICTA Santa Gertrudis, ICTA Ixtepeque, ICTA Xinca, ICTA Barranqueña e ICTA Chortí presentan plantas de porte alto (84-105 cm) y grano de mediano a grande. Se encontró diferencia significativa para las variables de peso del grano, tiempo de cocción y porcentaje de cascara ICTA Sayaxche el de menor tamaño e ICTA Xinca, ICTA Patriarca e ICTA Ixtepeque los de mayor tamaño. Todos los genotipos presentaron porcentaje de cáscara inferior al 10%, absorción de agua menores al 80% y más de 45 minutos para el tiempo de cocción, considerándose genotipos de testa dura. El análisis de estructura de población clasificó las variedades de frijol de ICTA en cuatro grupos importantes, los cuales pueden ser utilizados para cruza bi-parentales en base a características agronómicas. Se encontró alta diversidad genética en la población, y baja diversidad genética entre individuos de una misma variedad.

Palabras clave: frijol, caracterización, agromorfológica, molecular, culinaria

ABSTRACT

This study consists of agromorphological, molecular and culinary characterization of twelve common bean genotypes. It was developed in Ipala, Chiquimula, to identify morphological and phenological traits. Data analysis was performed through descriptive statistics, as well as Cluster and Principal Component Analysis. The genotypes were grouped into six groups, ICTA Ligero and ICTA Petén have short plants (47-59 cm) and small seed; ICTA Sayaxche, ICTA Patriarca and ICTA Zam are medium sized plants (72-82 cm), 35 to 40 days to flowering; ICTA Ostua, ICTA Santa Gertrudis, ICTA Ixtepeque, ICTA Xinca and ICTA Barranqueña and ICTA Chortí are tall plants (84-105 cm), with medium to large grain. Significant difference was found for grain weight, cooking time and skin percentage; all genotypes had skin percentage lower than 10 %, 45 minutes for the cooking time and water absorption less than 80 %, considered as hard skin genotypes. The population structure analysis classified the ICTA bean varieties into four important groups, which can be used for bi-parental crosses based on agronomic characteristics. High genetic diversity was found in the population, and low genetic diversity among individuals of the same variety.

Keywords: bean, characterization, agromorphological, molecular, culinary

Caracterización morfológica, molecular, industrial y culinaria de doce genotipos de frijol común arbustivo adaptados al Oriente de Guatemala.

¹ Angela Miranda

² José Figueroa

³ Gabriela Tobar

⁴ Aura Suchini

⁵ Erick Aguilar

1. INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa más importante para el consumo humano alrededor del mundo (Broughton et al., 2003), y 46% de la producción mundial de leguminosas es frijol (Akibode & Maredia, 2012). La producción de frijol es más de 23 millones de toneladas en el mundo y casi un tercio de esta, es producida por pequeños propietarios de países en vías de desarrollo de África y América Latina (Broughton et al., 2003). De acuerdo con Beebe et al. (2000) el frijol común del acervo genético Mesoamericano constituye más del 60% de la producción en el mundo.

El programa de mejoramiento de frijol del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), ha concentrado sus esfuerzos en la búsqueda de soluciones a los principales problemas que afronta el productor, a través de la selección de genotipos con alto rendimiento, tolerancia a sequía, resistencia a plagas y enfermedades y alta calidad nutricional que superan a las variedades nativas utilizadas por los productores de frijol en la zona.

Contar con los descriptores varietales de las variedades es importante para registrar los lotes de producción de semilla en sus diferentes categorías (básica, registrada y certificada) ya sea para fines comerciales o de promoción, sin esta información no puede garantizarse la pureza genética de los materiales a través de los ciclos de manipulación de semillas. Para el programa de certificación de semillas del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación (MAGA) la descripción varietal fenotípica es un requisito para garantizar una inspección adecuada de los lotes de producción y permitir al productor de semillas realizar una purificación genética de la variedad.

Junto con la caracterización morfológica, la biotecnología es una herramienta científica aplicada que puede contribuir a identificar las características genómicas asociadas con los fenotipos. La caracterización molecular permite tener una identificación más exacta

¹ Investigadora Principal

² Investigador Asistente Programa de Frijol

³⁻⁴ Investigador Asistente Biotecnología

⁵ Investigador Asistente Tecnología de Alimentos

de las variedades que la caracterización fenotípica, pues no es influenciada por el ambiente, especialmente para el registro de nuevas variedades.

Dentro de las características culinarias los agricultores buscan variedades que posean granos suaves, de rápida cocción, uniformidad en el tamaño y color uniforme, **logrando esto se** garantiza una adopción efectiva de las nuevas variedades de frijol, también es de importancia que las variedades presenten características físicas, químicas y nutricionales de interés, ya que la industria demanda variedades que absorban grandes cantidades de agua, posean rápido cocimiento, caldo espeso y con buen sabor y textura (Bressani 1993)

Con la implementación de esta caracterización se generó la información necesaria para cumplir con todos los requisitos para la inscripción y producción de semilla de frijol en Guatemala, así mismo, asegurar la calidad de grano de los diferentes genotipos para lograr una fácil y rápida adopción por parte de los agricultores e industrias en Guatemala.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Frijol común

En todo el mundo el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa más importante para el consumo humano y para muchos países en Latinoamérica, es la fuente principal de proteína (Broughton et al., 2003). El frijol común se originó en México (Bitocchi et al., 2012) y se ha adaptado a diversos ambientes (Singh, Gepts & Debouck, 1991). Perteneció a la familia Fabaceae (Kelly, 2010). El frijol común tiene una raíz principal y muchas raíces secundarias con nódulos desarrollados de una asociación con la bacteria fijadora de nitrógeno *Rhizobium*. Se han descrito cuatro tipos de hábitos de crecimiento en frijol: arbustivo (I), arbustivo indeterminado (II), semi-trepador (III), y trepador intenso (IV). Las hojas son trifoliadas. Las flores tienen un cáliz tubular, cinco pétalos desiguales, diez estambres, y un estigma receptivo el cual puede ser blanco, lila, morado o bicolor. Las frutas son vainas y las semillas tienen dos cotiledones. Dentro de las vainas las semillas son ricas en proteína (Clavijo, 1980).

2.2 El frijol común en Guatemala

Guatemala tiene el nivel más alto de desnutrición crónica en Latinoamérica. El maíz es la base de todas las dietas y es la fuente principal de carbohidratos mientras que el frijol es la fuente principal de proteína. En Guatemala, el frijol común es el segundo cultivo más importante (Aldana, 2010), y los de grano negro son la clase más consumida en el país. La producción nacional en 2014 fue de 225,760 toneladas en un área de 243,040 ha. El promedio en rendimiento de semilla en el año 2013 fue de 928.57 kg·ha⁻¹ (MAGA, 2013). La producción fue distribuida dentro de 292,961 productores con un promedio de 0.82 has para

cada productor (IICA, 2014). Las principales áreas para la producción de frijol en Guatemala son en la región norte en el departamento de Petén y la región sudeste en los departamentos de Jutiapa, Chiquimula, y Santa Rosa donde se cultiva el frijol arbustivo (Aldana, 2010).

En el proceso evolutivo, el frijol se diferenció de la soya (*Glycine max* L. Merr.) y del cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) aproximadamente hace 18 millones de años y ocho millones de años, respectivamente (Kelly, 2010). Hubo una duplicación del genoma completo dentro de la línea de leguminosas que ocurrió antes de la división de frijol y soya, este evento de duplicación tomó lugar hace aproximadamente 55 millones de años (Schmutz et al., 2014). Las formas ancestrales silvestres del frijol son plantas encontradas en el altiplano de Mesoamérica y los Andes (Gepts & Debouck, 1991). La población ancestral silvestre se separó hace alrededor de 165,000 años para formar los acervos genéticos Mesoamericano y Andino (Schmutz et al., 2014).

Singh et al. (1991) desarrollaron un estudio detallado que identificó seis razas de frijol (tres por cada acervo genético) basado en asociaciones de marcadores moleculares (faseolina y alozimas) y marcadores morfológicos, rasgos fenotípicos, factores reproductivos, adaptación ecológica y distribución geográfica de genotipos relacionados de frijol. Las razas Mesoamericanas se encuentran en México, Centroamérica, Colombia, Venezuela y Brasil. La raza Durango está localizada en el altiplano semiárido de México y el sudoeste de Estados Unidos, y la raza Jalisco se encuentra en el altiplano de México y Guatemala. Las razas Andinas son Nueva Granada (localizada en los Andes Colombianos, Ecuador, Perú, en Argentina, Belice, Bolivia, Brasil, Chile, Panamá y El Caribe), Chile (se encuentra en los Andes secos de America del Sur), y Perú (localizada en el altiplano de Colombia a Argentina).

Después de esta determinación inicial de acervos genéticos y razas, varios estudios de diversidad genética en frijol fueron desarrollados utilizando marcadores moleculares, isozimas, faseolina y rasgos morfológicos (Sonnante, Stockton, Nodari, Velásquez & Gepts, 1994; Velasquez & Gepts, 1994; Galvan, Bornet, Balatti & Branchard, 2003; Kwak & Gepts, 2009; Bitocchi et al., 2012; Blair et al., 2013). Estos estudios generalmente confirman esta estructura de razas del frijol. Sin embargo, los marcadores moleculares han permitido una descripción más específica de esta diversidad.

Beebe et al. (2000) evaluaron la estructura de las razas Mesoamericanas utilizando los marcadores RAPD y propusieron una cuarta raza en el acervo genético Mesoamericano, la cual fue nombrada raza Guatemala. Las accesiones de esta raza fueron del altiplano de Chiapas en México y Guatemala. Se cree que la falta de migración llevó a la creación de esta raza con características distintivas, tales como la forma redonda del grano, grano pequeño y plantas con crecimiento vertical

Díaz y Blair (2006) desarrollaron un análisis de diversidad en genotipos del acervo genético Mesoamericano. Ellos cuestionaron la existencia de la raza Guatemala debido al número limitado de accesiones guatemaltecas que fueron clasificadas. Sin embargo, cuando Blair et al. (2013) analizaron la diversidad de otra población de frijoles Mesoamericanos y Andinos con un set de 736 SNPs, ellos encontraron que los dos acervos genéticos estaban altamente diferenciados y que la raza Guatemala estaba altamente diferenciada de las subrazas Mesoamericanas. Finalmente, un estudio de diversidad basado en genotipado por secuenciación confirmó la existencia de la raza Guatemala (Tobar-Piñón et al., 2017).

2.3 El genoma del frijol común

El frijol común es una especie diploide con once cromosomas ($2n=22$). El tamaño del genoma es de alrededor de 587 Megabases (Mb) (Schmutz et al., 2014), y 49.2% del genoma son secuencias repetitivas. El genotipo Andino G19833 conocido como “Chaucha Chuga” y el genotipo Mesoamericano BAT93 fueron usados para desarrollar los genomas de referencia del frijol común según Schmutz et al. (2014) y Vlasova et al. (2016). Los genes codificadores de proteínas que han sido reportados en ambas anotaciones de genomas y son 27,197 para el genotipo G19833 y 30,491 para el genotipo BAT93.

2.4 Fenología del frijol común

El desarrollo de la planta de frijol comprende de manera general las siguientes dos fases sucesivas:

2.4.1 Fase vegetativa

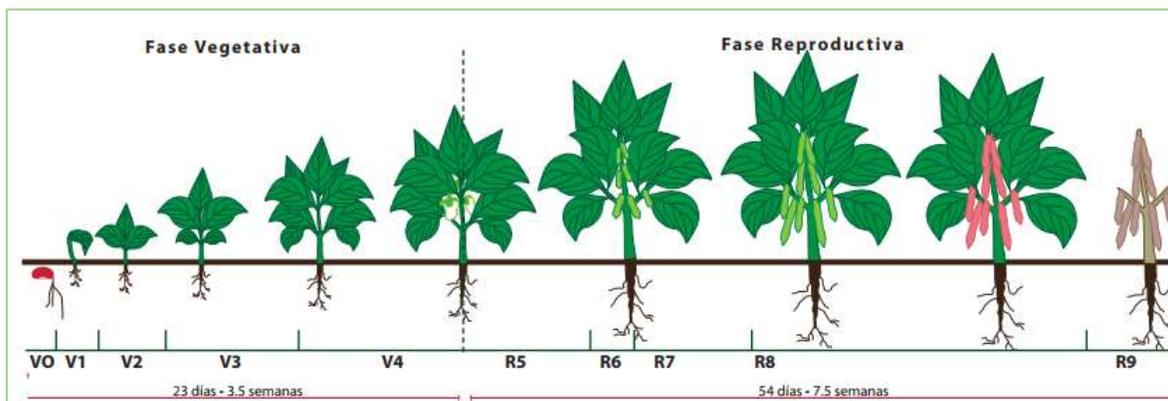
Inicia en el momento en que la semilla dispone de condiciones adecuadas para germinar y finaliza cuando inician los primeros botones florales (Figura 1).

2.4.2 Fase reproductiva

Inicia con la aparición de los primeros botones o racimos florales y finaliza cuando el grano alcanza el grado de madurez fisiológica necesario para la cosecha (14% - 16% de humedad en el grano). A pesar de ser esta fase eminentemente reproductiva, durante ella las variedades indeterminadas (Tipo II, III y IV) continúan produciendo estructuras vegetativas, aunque con menor intensidad.

A lo largo de las fases vegetativa y reproductiva, se han identificado 10 etapas bien definidas de desarrollo, las cuales conforman la escala del desarrollo del cultivo de frijol (Figuras 1 y 2), cada una de esas etapas se designan con un código formado por una letra y

un número; la letra V o R es la literal de una fase (vegetativa o reproductiva) a la cual pertenece la etapa, y el número (0 al 9) indica la posición de la etapa dentro el ciclo de vida de la planta (CIAT, 1986)



Fuente: Guía de identificación y manejo integrado de enfermedades de frijol, IICA,

Figura 1. Fases de desarrollo de cultivo de frijol.

2.5 Descripción de Fenotipo

La descripción varietal se hace en el fenotipo al observar las plantas de una variedad y depende del potencial genético (genotipo) de la planta y su expresión (fenotipo) que recibe los efectos ambientales presentes. Por lo tanto, se debe conocer el fenotipo para tratar de diferenciar las variaciones debidas a los efectos genéticos de aquella que ocurren por efectos ambientales, que no se pueden eliminar.

Para mantener la pureza varietal, interesa principalmente el componente genético o genotípico, ya que los efectos ambientales no se transmiten por semilla. Es necesario, por lo tanto, identificar las causas de las variaciones observadas entre las plantas, ya que aquellas que se deben a efectos ambientales no se pueden considerar las plantas diferentes como plantas fuera de tipo.

En cambio, las plantas observadas en el campo que no se ajustan a los caracteres que aparecen en la descripción varietal -incluyendo su variación aceptada- constituirán el grupo de plantas fuera de tipo o contaminantes, que deben eliminarse en los incrementos de semilla y considerarse en las tareas de inspección durante su producción y comercialización (Muñoz, et. al., 1993)

2.6 Clasificación de los caracteres descriptivos

De acuerdo con su grado de integración con el medio ambiente, los caracteres descriptivos se diferencian en fijos o variables.

2.6.1 Caracteres fijos

Dependen generalmente de uno o pocos genes que determinan una característica de distribución discreta, es decir, de fácil diferenciación entre las posibles alternativas fenotípicas (por ejemplo, color de la flor o color de grano). Estos o no pueden ser medidos numéricamente o se dificulta su medición en cuanto incluyen un grado de subjetividad en la evaluación (por ejemplo, color, forma, intensidad). En estos caracteres las modificaciones que experimentan por acción del ambiente son pocas.

2.6.2 Caracteres variables

La expresión de estos depende de la acción de muchos o pocos genes, pero afectados por modificadores; estos caracteres interactúan con el medio ambiente y, según el sistema de medida empleado, pueden dividirse en dos grupos: los variables cuantitativos (que se pueden medir mediante un sistema de numeración continua, se manifiestan genotípicamente con una distribución normal donde aparece un ámbito de la expresión fenotípica, por ejemplo, altura de la guía en frijoles de crecimiento indeterminado) y los variables cualitativos (no se pueden medir por un sistema de numeración continua. Presentan un tipo de distribución discreta y depende de la acción de muchos genes o de genes mayores afectados por modificadores, por ejemplo, el color del grano de frijol). (Muñoz, et. al., 1993)

2.7 Marcadores moleculares para el análisis de diversidad

Los marcadores moleculares pueden identificar diferencias genotípicas sin analizar el genoma completo, y pueden ser utilizados para identificar regiones del genoma asociados con rasgos fenotípicos específicos. Ellos pueden ser definidos como fragmentos de ADN que funcionan como “señales” e identifican información de interés. Además, los marcadores moleculares son útiles en muchos campos biológicos de estudio. Por estas razones, nuevas técnicas para su desarrollo han surgido (Agarwal, Shrivastava & Padh, 2008). Para evaluar la diversidad, los primeros marcadores moleculares con base de ADN utilizados fueron los RFLP. Sin embargo, los marcadores más comunes utilizados en este campo son los RAPDs, SSRs, SNPs, y recientemente los marcadores basados en elementos transposones (Poczai et al., 2013).

2.8 Caracterización molecular con microsatélites (SSR) en frijol

Dadas las ventajas que los marcadores microsatélites poseen por su naturaleza, muchos estudios se han hecho en genomas de mamíferos y plantas y su información ha sido muy útil para saturar mapas de ligamiento. El primer anclaje de microsatélites en un mapa de ligamiento de frijol común fue realizado por Yu, Park, Poysa y Gepts (2000). Los microsatélites que se identificaron en este trabajo han sido muy utilizados en estudios de diversidad genética y para seguir saturando el mapa de ligamiento del frijol. Gaitán-Solís, Duque, Edwards & Tohme (2002) realizaron un estudio de bibliotecas genómicas para identificar microsatélites en el genoma de frijol. Toda esta información fue utilizada por Blair et al. (2003) para saturar el mapa original de frijol con muchos más microsatélites, esta vez buscándolos en la base de datos genética (Genbank) y, desde entonces, los microsatélites son muy utilizados en estudios de diversidad genética (Díaz & Blair, 2006), discriminación entre razas de frijol y selección asistida con marcadores para una gran variedad de enfermedades del frijol (Miklas, 2008).

Muchos microsatélites han sido desarrollados a partir del genoma del frijol y algunos como BM160 y BM201 (Gaitán et al., 2002) son capaces de discriminar entre especies de *Phaseolus vulgaris* L., *Phaseolus coccineus* L. y *Phaseolus polyanthus* Greenman. Un análisis de diversidad completo y muy confiable se obtiene de amplificar por lo menos 30 microsatélites con diferentes técnicas de detección, por ejemplo, fluorescencia, que es más confiable que la detección con tinción en plata.

Los marcadores moleculares han demostrado ser una herramienta muy útil para predecir las características de una población muy temprano en su desarrollo. Además, los marcadores moleculares producen una huella genética única para cada genotipo que permite identificar la pureza del mismo a través del tiempo y facilita la trazabilidad. Este proceso requiere de someter material vegetal a los siguientes procedimientos: extracción de ADN, cuantificación de ADN, amplificación de marcadores moleculares por PCR, visualización de productos de PCR y diagnóstico molecular. Es importante adaptar las condiciones reportadas en estudios previos para cada uno de los ambientes nuevos donde se desarrollarán, especialmente cuando se tiene una población que no se ha estudiado antes. Al hacer esta adaptación se garantiza que se optimizará la eficiencia de la técnica general.

2.9 Caracterización culinaria y calidad de grano

La calidad del grano incluye varias características y atributos relacionados a la producción y tecnología postcosecha, como características físicas, químicas, tecnológicas y nutricionales. Los agricultores buscan variedades que posean granos suaves, de rápida cocción, uniformidad en la maduración del grano, de producción precoz, uniformidad en el

tamaño y color. Variedades que durante el almacenamiento sean resistentes al ataque de plagas, que mantengan el color y con baja formación de granos difíciles de cocer. La industria demanda variedades que absorban grandes cantidades de agua, posean rápido cocimiento, caldo espeso y con buen sabor y textura (Bressani, 1993)

2.9.1 Endurecimiento del grano

Granos con largos periodos de cocción son indeseables por los consumidores (Bressani 1993). El almacenamiento del frijol después de la cosecha en condiciones adversas: altas temperaturas, alta humedad provocan endurecimientos del grano y por lo tanto mayor tiempo de cocción y mayor gasto de energía lo que representa más gasto para los agricultores.

Existen diversos mecanismos asociados al endurecimiento del grano, se le atribuye a: oxidación o polimerización de los lípidos, formación de pectatos insolubles, lignificación de la lámina media celular. Para prevenir o disminuir los efectos del endurecimiento se ha propuesto: generar genotipos de bajo endurecimiento, almacenar en condiciones adecuadas, utilizar empaques de atmosferas modificada, pretratamientos (Reyes y Paredes 1993).

Dentro de los pretratamientos más utilizados es el remojo previo a cocción, Correa (2010) evaluó el tiempo de cocción de siete genotipos con y sin remojo, en promedio el tiempo de cocción de los granos que fueron remojados disminuyo 71.15%.

El tiempo de cocción está correlacionado negativamente con el tamaño del grano y correlacionado positivamente con el porcentaje de cáscara, ya que se ha demostrado que granos pequeños contienen mayor porcentaje de cáscara y esto incrementa el tiempo necesario para la cocción. Además, el brillo de la testa es otro factor que incrementa el tiempo de cocción, se ha observado que testas brillantes absorben menos agua y tienen mayores tiempos de cocción (Linares *et al.*, 1981). La importancia de la absorción de agua radica en promover la gelatinización del almidón del grano y la coagulación de las proteínas (Bressani 1993).

El tiempo de cocción es el factor principal que determina la aceptación de una variedad (Linares *et al.*, 1981). Además, el endurecimiento provoca que la calidad nutricional del grano decrezca ya que hace que el contenido de proteína disminuya (Martin *et al.*, 1995).

3. OBJETIVOS

3.1 General

- ✓ Caracterizar 12 genotipos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) arbustivo adaptados al oriente de Guatemala

3.2 Específicos

- ✓ Identificar características morfológicas y agronómicas de 12 genotipos de frijol utilizando un descriptor varietal con fines de registro varietal.
- ✓ Definir una huella genética para cada uno de los 12 genotipos de frijol arbustivo generados por ICTA y adaptados al oriente de Guatemala.
- ✓ Identificar características de calidad industrial y culinaria de los 12 genotipos de frijol arbustivo generados por e ICTA para el oriente del país.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Genotipos

Para la realización de este proyecto se caracterizaron 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala (Cuadro 1)

Cuadro 1

Genotipos de frijol caracterizados morfológica, molecular, industrial y culinariamente. ICTA, Guatemala, 2019

Genotipo	Código	Origen	Genealogía
ICTA Ostúa	JU 81-53	Guatemala	DOR 41/JU 78-12
ICTA Santa Gertrudis	DOR 446	ICTA-CIAT	DOR 364/G 18521//DOR 365/LM 30630
ICTA Ligero	-----	ICTA-CIAT	CHAPINA/DOR385
ICTA Petén	MDSX 14801-43-34	ICTA-CIAT	MDSX 14801-43-34
ICTA Sayaxché	MEN 2207-17	ICTA-CIAT	MEN 2207-17
ICTA Chortí	SMN 39	ICTA-CIAT	SCR 16/MAB 766//MIB 780/SMR 49
ICTA Patriarca	JU 2006-10	ICTA-CIAT	SBCF 16176-10
ICTA Xinca	JU 2013-3	ICTA-CIAT	SEN 3
ICTA Ixtepeque	JU 2013-2	ICTA	SER95/SEN 46-2
ICTA Barranqueña	JU 2006-1052-9	ICTA	ICTA LIGERO*2/SEA 18
ICTA Suprema	JU 2005-1004-9	ICTA	ICTA LIGERO/SEA 18
ICTA Zam ^{ML}	JU 322-9	ICTA-Zamorano	MH2-2/ICTA LIGERO

4.2 Caracterización morfológica de los genotipos

4.2.1 Localidad y época

El terreno donde se sembraron los 12 genotipos de frijol común para su caracterización está ubicado en la comunidad El Sauce del municipio de Ipala, Chiquimula, en una finca de un agricultor colaborador ubicada en la latitud de 14.6160 y longitud de -89.6196. La fase de caracterización en campo tuvo una duración de 4 meses comprendida de junio a septiembre de 2018.

4.2.2 Tamaño de la parcela

La parcela donde se estableció cada uno de los genotipos tuvo un área de 250 metros cuadrados con dimensiones de 10 metros de ancho por 25 de longitud. Los distanciamientos de siembra utilizados fueron de 0.8m entre surco y 0.3m entre planta y se colocaron tres semillas por postura, con una densidad de población dentro de la parcela de 1,042 plantas.

4.2.3 Tamaño de la muestra

Se utilizó un muestreo aleatorizado seleccionando 100 plantas dentro de la parcela. La postura seleccionada como unidad de muestra estuvo representada por una planta por lo que se eliminó dos plantas.

4.2.4 Variables de respuesta

Las variables respuestas medidas fueron 45 características varietales propias de la planta y ocho características agronómicas. Se utilizó como guía el documento elaborado por Muñoz G, Giraldo G y Fernández de Soto J (1993) llamado “Descriptores Varietales: Arroz, frijol, maíz, sorgo” publicado por el Centro Internacional de Agricultura Tropical.

4.2.5 Toma de datos

Se tomaron datos en estado de plántula a los 12 días después de la siembra (dds); en estado de floración cuando la totalidad de las plantas seleccionadas presentaron al menos una flor; en estado de madurez fisiológica cuando se observó un cambio de color en las vainas y al momento de la cosecha cuando la humedad del grano estuvo entre el 16% y 18% se midieron datos de vainas y semillas.

4.2.6 Análisis de la información de la caracterización morfológica

Los resultados obtenidos se analizaron con estadística descriptiva, se calcularon valores medios, desvíos estándares, rangos y coeficientes de variación para datos cuantitativos y cálculo de porcentaje de los caracteres predominantes para variables cualitativas.

4.2.7 Manejo del cultivo en campo

La preparación del terreno se dio un paso con arado y dos con rastra de discos, camellones equidistantes a 0.8 m para facilitar el drenaje natural del agua. La siembra se realizó de forma manual sembrando cada genotipo por separado; se realizó el control de malezas de forma mecánica por medio de machete, azadón y de forma química utilizando herbicidas de contacto o sistémicos. La fertilización se realizó a los 12 dds, se utilizó triple 15 a razón de 180 kilogramos por hectárea y fertilizante a base de UREA a razón de 135 kilogramos por hectárea. Se realizaron muestreos constantes para el monitoreo de plagas y enfermedades, dos veces a la semana.

4.3 Caracterización molecular de los genotipos

4.3.1 Localidad y época

La caracterización se realizó en el laboratorio y los invernaderos de Biotecnología de ICTA Central durante los meses de septiembre de 2018 a junio de 2019.

4.3.2 Material vegetal

Diez semillas de los genotipos de frijol fueron sembradas en arena en el invernadero para su germinación bajo condiciones controladas.

4.3.3 Extracción y cuantificación de ADN

Las primeras hojas trifoliales de tres plántulas fueron seleccionadas al azar (aproximadamente 200 mg), las cuales fueron maceradas con pistilos dentro de tubos de microcentrífuga de 1.5 ml o utilizando morteros con la solución de buffer de extracción. La solución obtenida se sometió al protocolo de extracción propuesto por medio del kit de Biotecon Diagnostics detallado en el Anexo 1.

Se cuantificó el ADN en un espectrofotómetro Bio-Rad SmartSpec3000 y en un fluorómetro Quantus con un factor de conversión $A_{260nm} 1.0 = 50.0 \mu\text{g/mL}$. La calidad del ADN se determinó a partir de la razón A_{260}/A_{280} . El ADN se diluyó a $20 \text{ ng}/\mu\text{L}$ para las siguientes amplificaciones.

4.3.4 Amplificación mediante PCR

En todas las muestras se amplificaron 33 secuencias microsatélites representativas de todo el genoma del frijol (Anexo 2). Estos marcadores se amplificaron por medio de PCR convencional en placas de 96 pozos en un termociclador Marca Applied Biosystems Modelo Veriti. El programa de amplificación consistió en una desnaturalización inicial a 94°C por 5 minutos; después de 30 a 34 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30 segundos, seguido de hibridación a rangos de temperatura (T_h) de 47 a 57°C según fuera necesaria para cada uno de los marcadores por 1 minuto, y una elongación a 72°C por 1 minuto; terminando con una

elongación final a 72°C por 5 minutos. La mezcla de reacción fue de 25 µL finales que contuvieron 100 ng de ADN genómico, 1X buffer PCR, 2.5 mM de MgCl₂, 400 µM de cada dNTP, 1 µM de cada partidor (forward y reverse) y 1 unidad de *Taq* polimerasa.

4.3.5 Electroforesis

Después de la amplificación, se realizó una electroforesis en gel de poliacrilamida al 8% en 1X TBE. Se corrieron en unidades de electroforesis vertical a una potencia constante de 80 voltios durante 3 horas 30 minutos. En todos los geles se incluyó una escalera de peso molecular de 50 pares de bases (pb) y se cargaron con productos de PCR (12 µL). Todas las soluciones fueron recicladas con un máximo de tres geles. Los geles producto de la electroforesis fueron teñidos con Nitrato de Plata para identificar las bandas. Finalmente se tomaron fotografías de los geles teñidos.

4.3.6 Análisis de datos

A partir de los patrones de bandas visualizados en los geles se codificó la información alélica en una matriz donde se colocó el tamaño de cada banda por cada marcador, en una hoja Excel, la cual fue utilizada para hacer el análisis de conglomerados utilizando InfoStat (Di Rienzo et al., 2014). Se creó una matriz de distancias genéticas con el método UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) de Sokal y Michener (1958). Se construyó así un dendrograma basado en los cálculos. Para el Análisis de Componentes Principales se utilizó la función `prcomp` de R. El gráfico fue creado utilizando la función `ggbiplot` (<http://github.com/vqv/ggbiplot>) en R.

En el análisis de estructura para determinar el número de subpoblaciones se utilizó el software STRUCTURE utilizando la opción “Admixture Model with Allele Frequencies Correlated among Populations”, con 10 corridas con un rango de K desde 1 a 10. Los períodos de quemado y de iteraciones se establecieron a 20000/10000 basado en la investigación de McClean et al. (2012). Para determinar el número más probable de subpoblaciones se utilizó la estadística ΔK (Evanno, Regnaut & Goudet, 2005). El software Distruct se utilizó para mostrar los resultados en un gráfico (Rosemberg, 2004).

El estudio de diversidad genética que incluyó las estadísticas H_e de Nei, el Contenido de Información Polimórfica (PIC) para cada genotipo y para cada subgrupo (Nei & Li, 1979), la matriz de índices de fijación (F_{st}), y el Análisis Molecular de Varianza (AMOVA), se realizaron en el programa GenAlex (Peakall y Smouse, 2006, 2012).

Las huellas genéticas se elaboraron en una hoja de cálculo de Excel utilizando la información de tamaño de fragmentos encontrados en los geles para cada uno de los 33 marcadores.

4.4 Caracterización de la calidad industrial y culinaria

4.4.1 Localidad y época

El proyecto se ejecutó en el año 2,018 y 2019 en la Planta Agroindustrial del ICTA, en el Sector “B”, La Alameda, Chimaltenango, Guatemala, C.A.

4.4.2 Tamaño de la muestra

100g de frijol seca en grano.

5.1.1. Variables de respuesta

- **Análisis físicos:** color, tamaño de grano, porcentaje de cáscara, capacidad de absorción de agua, tiempo de cocción, índice de tiempo de cocción.
- **Análisis químicos:** análisis proximal, hierro, zinc.

5.1.2. Análisis de la información

Los resultados obtenidos se analizaron con estadística descriptiva

5.1.3. Manejo del experimento

Se siguió la metodología propuesta Elías et. al., (1986) en el manual de Métodos para establecer calidad tecnológica y nutricional del frijol (*Phaseolus vulgaris*)

- Peso del grano:** por cada variedad se seleccionaron al azar tres muestras de 100 granos, estos fueron pesados en balanza con precisión de 0.1 mg. Granos con peso inferior a 0.193 g fueron considerados pequeños; grano con peso entre 0.193 g y 0.217 g fueron clasificados como medianos; grano con peso mayor a 0.217 g se clasificaron como grano grande.
- Porcentaje de cáscara:** de cada variedad se tomó tres muestras de veinticinco granos cada una, estas se remojaron en 50 mL de agua destilada a temperatura ambiente por un período de 16 horas. Posteriormente se eliminó el exceso de agua y se separó la testa del cotiledón de cada grano y estos fueron secados a 105°C hasta alcanzar peso constante.
- Absorción de agua:** de cada variedad se tomarán tres muestras de veinticinco granos, estos serán remojados en 75mL de agua destilada por ocho horas, cada hora se debe realizar tomar el peso de las muestras.
- Tiempo de cocción:** en beaker de 500 mL se llevó a ebullición 400 mL, en este punto se introdujeron al agua 100 granos, posteriormente se obtuvieron muestras a partir de los 20 minutos y cada cinco minutos se sacaron diez granos, los cuales fueron evaluados sensorialmente con los dedos para determinar el grado de cocción. Se tomó

como tiempo de cocción cuando el setenta por ciento de los granos estaban blandos y de textura suave.

- e. **Índice de tiempo de cocción:** veinticinco granos fueron colocados en 50 mL de agua destilada, por cuatro horas. Posteriormente los granos fueron puestos en agua en ebullición por veinte minutos, transcurrido este tiempo los granos fueron sacados del agua y se contabilizó el número de granos con alguna fisura en la cáscara.
- f. **Color:** esta variable fue medida con un Colorímetro, para ello se colocarán 25 gramos de frijol en el recipiente del colorímetro y los resultados fueron expresados en la escala Lab, Las siglas **Lab** se refieren al espacio de color tridimensional, en donde L o L* es luminosidad de negro a blanco, a* va de rojo a verde y b* es la gradiente del azul.
- g. **Caracterización química:** se realizó por los métodos oficiales de Association of Official Analytical Chemist (AOAC)

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Caracterización Morfológica

5.1.1 Caracteres morfológicos cuantitativos

Las características morfológicas cuantitativas y los estadísticos calculados (Cuadro 2) muestran que la variedad ICTA Chortí se caracteriza por ser el genotipo de mayor porte, ya que posee una mayor longitud de tallo en estado de plántula y en la etapa de desarrollo vegetativo, también este genotipo se caracteriza por tener el promedio de mayor longitud de vainas (12.27 cm) y longitud del ápice de las vainas (1.05 cm) comparado con el resto de los genotipos.

El promedio de números de vainas por planta de los genotipos se encuentra dentro del rango de 6 a 37 con un 95% de confianza, esta variable es la de mayores coeficientes de variación para los genotipos caracterizados con valores entre 30% a 40%.

Cuadro 2

Caracteres morfológicos de tipo cuantitativo de 12 genotipos de frijol arbustivo. ICTA, Guatemala, 2019.

Características Morfológicas Cuantitativas	ICTA Ostúa	ICTA Santa Gertrudis	ICTA Ligero	ICTA Petén	ICTA Sayaxché	ICTA Chortí	ICTA Patriarca	ICTA Xinca	ICTA Ixtepeque	ICTA Barranqueña	ICTA Suprema	ICTA Zam^{ML}
Estado de plántula												
Longitud del Hipocotilo (LHipo) (cm)	3.46	2.97	2.78	2.90	3.09	3.79	3.48	2.94	3.44	3.38	2.74	2.81
Longitud del Epicotilo (LEpi) (cm)	2.95	2.39	2.21	2.66	2.85	3.72	3.29	2.84	3.54	2.59	2.45	2.31
Longitud de la Hoja Primaria (LHP) (cm)	5.84	5.90	5.54	5.27	5.34	6.47	6.59	6.69	5.00	5.90	6.22	6.99
Anchura de la Hoja Primaria (AHP) (cm)	5.05	4.56	4.58	4.37	4.63	5.93	5.73	5.29	5.99	5.55	5.04	5.29
Momento de la floración												
Longitud del Tallo Principal (LTP) (cm)	86.89	98.30	49.73	56.05	75.29	100.44	77.91	89.24	88.93	99.15	87.70	77.78
Área de Cobertura (AC) (cm)	66.26	75.19	51.50	51.55	57.42	46.22	57.91	60.29	75.35	53.60	72.23	52.00
Numero de Nudos (NN)	10.90	11.81	10.11	11.38	11.53	10.13	11.95	11.76	10.80	11.61	12.82	11.85
Longitud de la Hoja (LH)	10.44	10.89	10.39	11.08	9.73	9.97	10.87	11.85	11.71	12.64	10.39	11.54
Anchura de la Hoja (AH)	7.97	8.81	6.74	7.50	7.80	8.55	7.29	8.09	7.89	8.16	6.47	8.17
Área Foliar (AF) (cm ²)	63.35	73.12	53.67	62.78	57.35	64.76	60.28	72.51	70.16	78.07	51.31	71.66
Momento de la cosecha												
Largo de Vainas (LV) (cm)	11.06	10.26	9.35	9.26	9.99	12.17	11.43	10.06	9.55	9.25	9.50	10.34
Ancho de Vainas (AV) (cm)	0.85	0.99	0.85	0.89	0.88	0.90	0.90	0.91	0.91	0.90	0.90	0.97
Longitud del Ápice de la Vaina (LAV) (cm)	0.69	0.88	0.76	0.76	0.68	1.05	0.87	0.69	0.68	0.73	0.76	0.87
Numero de Vainas por Planta (NVP)	18.59	21.87	20.65	17.50	21.01	16.69	20.75	23.17	18.90	25.09	22.76	26.50
Numero de Semillas por Vaina (NSV)	6.52	6.32	5.70	5.88	6.27	6.04	6.06	5.54	5.47	5.21	5.05	6.27
Peso de 100 granos de semilla (P100S)	16.50	18.50	19.60	18.60	16.80	24.40	26.60	25.50	24.90	21.40	23.80	22.70

En el Cuadro 3 se tiene los resultados de los intervalos de confianza realizados a los 16 caracteres morfológicos cuantitativos, estos se calcularon con un 95% de confianza.

Cuadro 3

Rango de características morfológicas cuantitativas realizadas con intervalos de confianza (95%). ICTA, Guatemala, 2019.

Característica morfológica cuantitativa	ICTA Ostúa	ICTA Santa Gertrudis	ICTA Ligero	ICTA Petén	ICTA Sayaxché	ICTA Chortí	ICTA Patriarca	ICTA Xinca	ICTA Ixtepeque	ICTA Barranqueña	ICTA Suprema	ICTA Zam ML
Estado de plántula												
LHipo (cm)	3.2-3.7	3.2-3.7	2.6-3.0	2.8-3.1	3.3-3.6	3.6-4.0	3.3-3.7	2.8-3.1	3.3-3.6	3.2-3.6	2.6-2.9	2.6-3.0

LEpi (cm)	2.8-3.1	2.8-3.1	2.1-2.3	2.5-2.8	3.4-3.7	3.6-3.9	3.2-3.4	2.7-3.0	3.4-3.7	2.5-2.7	2.4-2.6	2.2-2.5
LHP (cm)	5.7-6.0	5.7-6.0	5.4-5.7	5.1-5.4	4.6-5.4	6.3-6.6	6.4-6.8	6.5-6.9	4.6-5.4	5.7-6.1	6.0-6.4	6.8-7.2
AHP (cm)	4.9-5.2	4.9-5.2	4.5-4.7	4.2-4.5	5.8-6.2	5.8-6.1	5.6-5.9	5.1-5.4	5.8-6.2	4.9-5.2	4.9-5.2	5.2-5.4
Momento de la floración												
LTP (cm)	83.6-90.1	94.8-101.8	46.9-52.5	53.0-59.1	71.8-78.8	96.1-104.8	73.9-81.9	86.6-91.9	86.6-91.3	94.5-103.8	83.5-91.9	74.2-81.3
AC (cm)	63.8-68.7	73.1-77.2	49.4-53.6	49.5-53.6	55.2-59.6	45.0-47.5	55.9-60.0	58.5-62.1	73.4-77.3	52.4-54.8	69.1-75.4	50.9-53.1
NN (cm)	10.6-11.2	11.6-12.1	9.9-10.3	10.9-11.8	11.2-11.9	9.8-10.5	11.7-12.2	11.5-12.0	10.4-11.2	11.4-11.9	12.5-13.1	11.6-12.1
LH (cm)	10.2-10.7	10.6-11.2	10.1-10.7	10.9-11.3	9.5-9.9	9.7-10.3	10.5-11.2	11.5-12.2	11.4-12.0	12.4-12.9	10.1-10.7	11.2-11.8
AH (cm)	7.8-8.2	8.6-9.1	6.5-7.0	7.3-7.7	7.7-7.9	8.3-8.8	7.1-7.5	7.9-8.3	7.7-8.1	8.0-8.4	6.3-6.7	8.0-8.4
AF (cm²)	59.5-66.1	69.3-76.9	50.5-56.9	60.5-65.1	55.2-59.5	61.4-68.2	57.1-63.5	69.4-75.6	66.9-73.4	74.8-81.3	48.5-54.2	68.2-75.1
Momento de la cosecha												
LV (cm)	10.9-11.2	10.1-10.4	9.2-9.5	9.0-9.5	9.9-10.1	11.9-12.5	11.2-11.7	9.9-10.2	9.4-9.7	9.0-9.4	9.3-9.7	10.2-10.5
AV (mm)	83 - 87	97 - 101	84 - 87	87 - 91	86 - 89	88 - 92	89 - 92	89 - 92	89 - 92	87 - 92	89 - 92	94 - 99
LAV (mm)	66 - 71	86 - 90	74 - 79	73 - 79	66 - 71	101 - 110	84 - 89	67 - 71	66 - 71	71 - 75	74 - 78	85 - 89
NVP (unidad)	17 - 20	20 - 24	19 - 22	16 - 19	19 - 23	15 - 18	19 - 22	22 - 24	17 - 20	23 - 27	21 - 25	25 - 28
NSV (unidad)	6 - 7	6 - 7	5 - 6	5 - 6	6 - 7	5 - 6	5 - 6	5 - 6	5 - 6	4 - 5	4 - 5	6 - 7

Las variables se encuentran abreviadas solo colocando las letras iniciales de las palabras para cada variable como se encuentran en el Cuadro 2.

5.1.2 Caracteres morfológicos cualitativos

En los Cuadros 4, 5, 6 y 7 se resume la información de los 32 caracteres morfológicos cualitativos, clasificados respecto a la fase fenológica en la cual se obtuvieron los datos. Con estas características se realizaron cuadros de contingencia para determinar el porcentaje del carácter predominante para cada una de las variables estudiadas.

Para los caracteres de color observados en los genotipos bajo estudio se utilizó la clasificación de colores propuesta por Muñoz, *et. al* (1993) y para identificar los códigos de colores se utilizó la tabla Munsell de colores para tejidos de plantas (Munsell Plant Tissue Color Charts).

Cuadro 4

Características morfológicas cualitativas en estado de plántula de los genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.

Variable	Color	Código tabla Munsell	ICTA Barranqueña	ICTA Chortí	ICTA Ixtepeque	ICTA Ligerero	ICTA Ostía	ICTA Patriarca	ICTA Peten	ICTA Santa Gertrudis	ICTA Sayaxché	ICTA Suprema	ICTA Xinca	ICTA Zam	
Color predominante del cotiledón	Morado	5RP 3/4	65%	24%	9%	0%	37%	0%	0%	99%	94%	0%	82%	0%	
		5RP 3/6	35%	76%	91%	100%	63%	100%	100%	1%	6%	100%	18%	100%	
Color predominante del hipocotilo	Verde	5GY 5/6	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
		2.5GY 7/10-5R 3/6	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	
		5GY 5/6 - 10R 4/4	34%	48%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
		5GY 5/6 - 10R 5/6	66%	52%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Color predominante de las nervaduras de las hojas principales	Verde con pigmento café	5GY 5/6 - 5R 3/6	0%	0%	0%	100%	100%	100%	100%	0%	100%	100%	100%	100%	
		10R 4/10	69%	0%	0%	0%	10%	0%	0%	0%	5%	0%	0%	0%	
		2.5R 6/8	0%	0%	0%	0%	0%	17%	0%	1%	0%	0%	0%	0%	
		5R 3/4	21%	78%	0%	39%	69%	29%	31%	46%	64%	31%	77%	24%	
		5R 3/6	0%	0%	100%	0%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
Color predominante de las nervaduras de las hojas principales	Café	5R 3/6	0%	0%	100%	0%	3%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
		Morado	5RP 3/8	10%	22%	0%	61%	18%	54%	69%	53%	31%	69%	23%	76%

En estado de plántulas la variable que más presentó variación es la del color predominante de las nervaduras de las hojas primarias, variando de color morado (5RP 3/8) a color café (con tonalidades de 2.5 R 6/8, 5R 3/4 a 3/6 y 10R 4/10). En los cotiledones todos los genotipos presentaron color morado (5RP 3/4 – 3/6).

Cuadro 5

Características morfológicas cualitativas al momento de floración de los genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.

Variable	Color	Código tabla munsell	ICTA Barranqueña	ICTA Chortí	ICTA Ixtepeque	ICTA Ligero	ICTA Ostúa	ICTA Patriarca	ICTA Peten	ICTA Santa Gertrudis	ICTA Sayaxché	ICTA Suprema	ICTA Xinca	ICTA Zam	
Color predominante de las alas	Lila	5RP 7/6	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	
Color predominante del limbo del estandarte	Lila	5RP 7/6	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	
Patrón de distribución predominante del limbo del estandarte	Uniforme		100%	87%	94%	90%	92%	88%	96%	95%	90%	100%	95%	99%	
	No uniforme		0%	13%	6%	10%	8%	12%	4%	5%	10%	0%	5%	1%	
Venaciones	Sin venaciones		100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	
Color predominante del cuello del estandarte	Verde	2.5GY 7/6	69%	20%	16%	18%	18%	43%	24%	0%	18%	65%	34%	1%	
	Verde con pigmento café	2.5GY 7/6 - 5R 3/6	31%	78%	0%	82%	0%	57%	74%	12%	78%	35%	66%	12%	
	Verde con pigmento morado	2.5GY 7/6 - 5RP 4/4	0%	0%	84%	0%	80%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
	Café	5R 3/6	0%	2%	0%	0%	2%	0%	2%	88%	4%	0%	0%	87%	
Patrón de distribución predominante del color del cuello del estandarte	Uniforme		98%	11%	90%	13%	100%	85%	92%	96%	26%	95%	91%	91%	
	No uniforme		2%	89%	10%	87%	0%	15%	8%	4%	74%	5%	9%	9%	
Color predominante del cáliz	Verde	2.5GY 7/6	0%	4%	3%	3%	2%	3%	21%	0%	16%	0%	13%	3%	
	Verde con pigmento morado	2.5GY 7/6 - 5RP 4/4	100%	78%	97%	96%	80%	83%	79%	0%	46%	100%	85%	0%	
	Verde con mucho pigmento morado	2.5GY 7/6 - 5RP 4/4+	0%	18%	0%	1%	14%	0%	0%	20%	0%	0%	2%	0%	
	Café	5R 3/6	0%	0%	0%	0%	4%	0%	0%	80%	38%	0%	0%	97%	
	Morado	5RP 4/4	0%	0%	0%	0%	0%	14%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
Habito predominante del crecimiento del tallo	Arbustivo determinado		23%	0%	14%	90%	7%	17%	72%	10%	7%	18%	0%	12%	
	Arbustivo indeterminado, con guía corta		46%	31%	72%	10%	46%	68%	26%	65%	83%	62%	76%	77%	
	Arbustivo indeterminado, con guía más o menos larga		31%	69%	14%	0%	47%	15%	2%	25%	10%	20%	24%	11%	
Color predominante de tallo principal	Verde	2.5 GY 7/6	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	84%	0%	
		2.5GY 7/6	0%	0%	96%	0%	0%	0%	0%	95%	0%	0%	0%	0%	0%
		5GY 5/8	94%	100%	4%	88%	78%	73%	2%	0%	98%	100%	0%	74%	
	Verde con pigmento café	5GY 5/8 - 5R 4/6	6%	0%	0%	12%	22%	27%	3%	0%	2%	0%	0%	0%	26%
2.5GY 5/8 - 5R 4/8		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	16%	0%	
Pubescencia predominante del tallo principal	Pubescente		0%	0%	1%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
	Glabro		100%	100%	99%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	
Tipo predominante de ramificación	Compacto		84%	100%	88%	93%	100%	97%	100%	100%	99%	74%	95%	100%	
	Abierto		16%	0%	12%	7%	0%	3%	0%	0%	1%	26%	5%	0%	
Acame	No Acamadas		81%	91%	71%	93%	83%	97%	87%	90%	92%	88%	71%	90%	
	Acamadas		19%	9%	29%	7%	17%	3%	13%	10%	8%	12%	29%	10%	
Color predominante de la hoja	Verde	2.5GY 5/6	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	4%	0%	0%	
		5GY 4/4	39%	0%	0%	4%	0%	1%	0%	0%	0%	0%	0%	95%	
		5GY 4/8	61%	4%	0%	1%	59%	10%	0%	0%	0%	0%	0%	5%	
		5GY 5/4	0%	63%	0%	78%	0%	89%	10%	0%	80%	2%	0%	0%	
		5GY 5/6	0%	33%	100%	17%	41%	0%	90%	0%	20%	1%	100%	0%	
		5GY 7/10	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	93%	0%	0%

En el Cuadro 5 se presentan todas las características cualitativas tomadas al momento de la floración de los genotipos de frijol, se puede notar que en las características de color de flor existe poca variación, esto debido a que los genotipos evaluados por ser de color de grano negro producen flores con características similares. El tipo de crecimiento en las plantas varía de crecimiento determinado (tipo I) a determinado con guías cortas y más o menos largas (tipo IIa y IIb), ICTA Ligero se destaca por ser de tipo arbustivo determinado.

El porcentaje de acame en los genotipos se encuentran por debajo del 13% a excepción de los genotipos ICTA Barranqueña, ICTA Ixtepeque, ICTA Xinca e ICTA Ostúa en donde el acame alcanza porcentajes de 17% hasta 29%.

Cuadro 6

Características morfológicas cualitativas al momento de madurez fisiológica de los genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.

Variable	Color	Código tabla munsell	ICTA Barranqueña	ICTA Chorquí	ICTA Ixtepeque	ICTA Ligero	ICTA Ostúa	ICTA Patriarca	ICTA Peten	ICTA Santa Gertrudis	ICTA Sayaxché	ICTA Suprema	ICTA Xinca	ICTA Zam
Color predominante de las vainas	Verde	2.5GY 8/4	1%	0%	0%	92%	0%	0%	0%	0%	0%	20%	0%	0%
		2.5GY 8/8	10%	0%	0%	8%	0%	2%	0%	0%	0%	2%	0%	0%
	Verde con pigmento morado	2.5GY 8/8-5RP 3/10	79%	0%	0%	0%	0%	11%	0%	0%	0%	3%	0%	0%
		2.5GY 8/2-5RP 4/10	1%	0%	4%	0%	0%	71%	72%	13%	90%	0%	0%	0%
Patrón predominante del color de las vainas		2.5GY 8/4-5RP 3/10	9%	100%	96%	0%	100%	16%	28%	87%	10%	75%	100%	100%
		Uniforme	94%	92%	100%	100%	92%	92%	88%	92%	95%	94%	84%	74%
Forma predominante del corte transversal de la vaina seccionando la semilla		No Uniforme	6%	8%	0%	0%	8%	8%	12%	8%	5%	6%	16%	26%
		Elíptico	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Distribución predominante de las vainas en las plantas		Altas	0%	0%	18%	0%	6%	0%	0%	14%	0%	1%	95%	36%
		Distribuidas uniformemente	98%	100%	82%	89%	94%	100%	100%	86%	100%	99%	3%	64%
		En la parte media	2%	0%	0%	11%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	2%	0%

Una característica notoria en los genotipos al momento de madurez fisiológica es la distribución de las vainas en las plantas, en donde la mayoría de las vainas se encuentran distribuidas uniformemente a excepción del genotipo ICTA Xinca que la distribución de las vainas es en la parte alta de la planta.

Cuadro 7

Características morfológicas cualitativas al momento de la cosecha de los genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.

Variable	Color	Código tabla munsell	ICTA Barranqueña	ICTA Chortí	ICTA Ixtepeque	ICTA Ligerero	ICTA Ostúa	ICTA Patriarca	ICTA Peten	ICTA Santa Gertrudis	ICTA Sayaxché	ICTA Suprema	ICTA Xinca	ICTA Zam
Color predominante de las vainas	Amarillas	2.5Y 7/6	1%	0%	1%	5%	0%	3%	1%	0%	0%	8%	0%	0%
		2.5Y 8/4	99%	83%	90%	95%	80%	95%	96%	0%	81%	91%	87%	22%
		2.5Y 8/6	0%	9%	4%	0%	0%	0%	3%	13%	0%	1%	0%	9%
	Amarillas con pigmento morado	2.5Y 8/6 - 5RP 3/2	0%	0%	0%	0%	1%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	29%
		2.5Y 8/4 - 5RP 6/2	0%	8%	5%	0%	19%	2%	0%	87%	19%	0%	13%	40%
Patrón de distribución predominante de vainas	Uniforme		95%	95%	94%	100%	69%	98%	99%	24%	72%	94%	85%	31%
	No Uniforme		5%	5%	6%	0%	31%	2%	1%	76%	28%	6%	15%	69%
Perfil predominante de la vaina	Recto		0%	60%	0%	0%	0%	8%	0%	0%	0%	0%	4%	3%
	Medianamente curvo		71%	32%	100%	100%	88%	89%	48%	100%	100%	100%	88%	89%
	Curvado		27%	5%	0%	0%	10%	3%	38%	0%	0%	0%	6%	3%
	Recurvado		2%	3%	0%	0%	2%	0%	14%	0%	0%	0%	2%	5%
Tipo predominante del ápice de la vaina	Romo		0%	0%	0%	0%	0%	0%	2%	0%	0%	0%	0%	0%
	Puntiagudo		100%	100%	100%	100%	100%	100%	98%	100%	100%	100%	100%	100%
Grado predominante de curvatura del ápice de la vaina	Recto		9%	10%	0%	0%	0%	94%	37%	0%	0%	100%	9%	1%
	Medianamente curvo		89%	83%	100%	100%	100%	6%	57%	100%	100%	0%	89%	76%
	Curvado		2%	7%	0%	0%	0%	0%	6%	0%	0%	0%	2%	23%
Dirección predominante de la curvatura del ápice de la vaina	Normal		96%	95%	100%	100%	97%	100%	56%	100%	100%	100%	100%	100%
	Inverso		4%	5%	0%	0%	3%	0%	44%	0%	0%	0%	0%	0%
Consistencia de la vaina	Pergaminosa		100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Color primario de la semilla	Negro		100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Aspecto predominante de la testa	Opaco		98%	100%	100%	67%	100%	98%	95%	100%	24%	100%	79%	0%
	Intermedio		2%	0%	0%	33%	0%	2%	5%	0%	76%	0%	21%	5%
	Brillante		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	95%
Presencia o ausencia de venaciones en la semilla	Ausente		100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Presencia de color alrededor del hilo	Coloreado		0%	0%	0%	0%	0%	16%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	Sin colorear		100%	100%	100%	100%	100%	84%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Forma predominante de la semilla	Redonda		0%	0%	0%	0%	0%	0%	1%	0%	0%	0%	0%	0%
	Ovoide		82%	10%	100%	100%	16%	73%	96%	100%	100%	64%	100%	79%
	Elíptica		3%	2%	0%	0%	0%	1%	1%	0%	0%	17%	0%	1%
	Pequeña, casi cuadrada		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	20%
	Alargada, ovoidea		15%	81%	0%	0%	0%	24%	0%	0%	0%	19%	0%	0%
	Arriñonada, recta en el lado del hilo		0%	7%	0%	0%	0%	2%	2%	0%	0%	0%	0%	0%
	Arriñonada, curva en el lado opuesto al hilo		0%	0%	0%	0%	84%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Al momento de la cosecha los genotipos ICTA Santa Gertrudis e ICTA Zam son los únicos en presentar coloración amarilla con pigmento morado en las vainas de las plantas.

Así también, al observar la característica de color primario de la semilla se nota que su totalidad los genotipos presentan granos de color negro, lo cual hace que la característica de color secundario de la semilla sea inexistente. La testa de la semilla de los genotipos en su mayoría es de tonalidad opaca a excepción del genotipo ICTA Zam el cual posee tonalidad brillante.

5.1.3 Características fenológicas de los genotipos

Se evaluaron en campo seis características fenológicas del cultivo, se tomó como base el descriptor varietal de frijol propuesto por CIAT (1,993). De las características fenológicas del cultivo los días a emergencia no mostró diferencias para los genotipos evaluados (5 días), el periodo de inicio de la floración tuvo una variación que va de 29 (ICTA Barranqueña) a 40 días (ICTA Ostua), el punto de madurez fisiológica se obtuvo de los 57 (ICTA Ligerito) a 62 días (ICTA Ostua e ICTA Santa Gertrudis) y los días a cosechas se obtuvo el rango que va desde los 67 (ICTA Barranqueña) hasta los 73 días (ICTA Ostua e ICTA Santa Gertrudis).

De acuerdo con la metodología propuesta por por Muñoz, *et. al* (1993) la toma de datos de las etapas fenológicas de los genotipos se realizó cuando se contabilizó el 50% más uno de la característica bajo estudio.

Cuadro 8

Características fenológicas de los genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.

Genotipo	Días a emergencia	Días a Floración	Duración de la floración	Días a madurez fisiológica	Duración de la madurez fisiológica	Días a cosecha
ICTA Barranqueña	5	29	23	59	9	67
ICTA Suprema	5	30	21	59	8	68
ICTA Peten	5	35	18	59	9	68
ICTA Patriarca	5	35	20	59	9	68
ICTA Ligerito	5	31	19	57	12	68
ICTA Chorti	5	32	20	59	10	68
ICTA Xinca	5	34	22	59	10	69
ICTA Ixtepeque	5	34	19	59	10	69
ICTA Sayaxche	5	41	14	62	10	72
ICTA Zam	5	35	20	59	13	72
ICTA Santa Gertrudis	5	38	17	62	11	73
ICTA Ostua	5	40	16	62	11	73

*Los datos en la tabla fueron tomados cuando el 50% de la población mostró la característica observada, por lo que el dato tomado puede tener una variación de ± 3 días.

5.1.4 Análisis de conglomerados

Con este análisis se permitió implementar un proceso para agrupar los genotipos descritos por el conjunto de valores de las variables propuestas por el descriptor. Este análisis pertenece al tipo de análisis multivariado de datos el cual es utilizado como método exploratorio de datos con la finalidad de conocer la estructura las observaciones realizadas en este estudio. Se utilizaron métodos jerárquicos para realizar el análisis de conglomerados para poder agrupar a los genotipos de frijol evaluados.

En este análisis de conglomerados se utilizó un método jerárquico de encadenamiento completo con una medida de distancia Euclídea. Para analizar las variables cualitativas juntamente con las variables cuantitativas se utilizó la estrategia de convertir en variables binarias cada una de las variables cualitativas para aplicar componentes principales para resumir la información de los datos binarios, con esta estrategia se logró analizar a todas las variables como cuantitativas.

Los resultados del análisis de conglomerados (Figura 2) agrupó a los genotipos en seis grupos diferentes. Los genotipos dentro del mismo grupo presentan características morfológicas y fenológicas similares entre ellos.

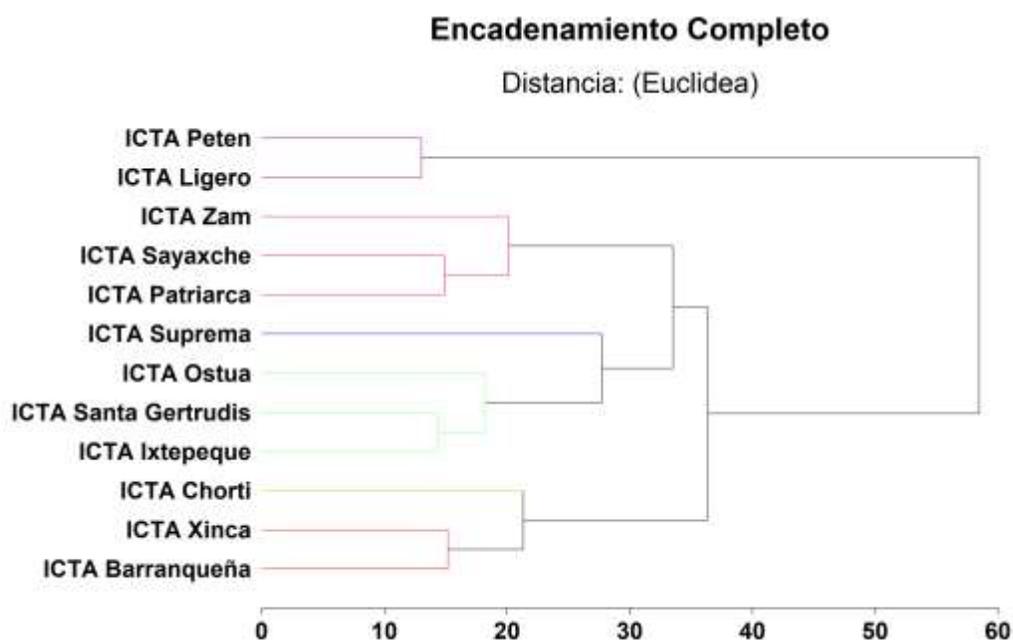


Figura 2. Análisis de conglomerado realizado a los genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala.

El grupo formado por ICTA Ligerero e ICTA Peten se caracterizan por ser plantas compactas y grano pequeño. Los genotipos ICTA Patriarca e ICTA Chorti se caracterizan por ser plantas de porte grande y poseer un tamaño y peso de grano superior al resto. El grupo formado por los genotipos ICTA Zam, ICTA Santa Gertrudis, ICTA Sayaxche e ICTA Ostua se caracteriza por tener genotipos con ciclo de cultivo tardío.

5.2 Caracterización molecular (diversidad genética)

Un total de 12 genotipos de frijol fueron analizados con 33 marcadores moleculares tipo SSR (single sequence repeat) o microsatélite, los cuales estuvieron distribuidos a través de todo el genoma del cultivo (3 marcadores por cromosoma). Todas las muestras se evaluaron por triplicado.

Para el análisis de diversidad genética, 26 marcadores fueron polimórficos, lo que indica que se encontró más de un alelo para cada marcador en las muestras de frijol. En las 36 muestras se encontró un total de 78 alelos para los 33 marcadores con un número de alelos efectivos de 59.51 y un PIC de 0.31. La diversidad genética promedio fue de 0.36. Las estadísticas de diversidad y el promedio de alelos para cada genotipo (Cuadro 9) muestra que las variedades ICTA Ligero, ICTA Chortí e ICTA Sayaxché son completamente homogéneas, ya que no presentan diversidad entre ellas mismas, lo que indica un alto grado de homocigosis, típico de las plantas autóгамas. Contrariamente, ICTA Patriarca e ICTA Ostúa, a pesar de tener alto grado de homocigosis, presentan un porcentaje alto de segregación. ICTA Xinca e ICTA Barranqueña tienen un grado intermedio de diversidad intra-accesión. Los resultados de la diversidad (Cuadro 10) encontrada dentro de cada accesión indica que, en términos generales, la diversidad entre accesiones es mayor a la diversidad dentro de cada accesión.

Cuadro 9

Estadísticas de diversidad en los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.

Genotipo	Loci polimórficos (0.95 ¹)	Diversidad genética (<i>He</i>)	Heter. insesgada de Nei	No. promedio de alelos	No. efectivo de alelos	No. Total de alelos
ICTA Xinca	0.15	0.07	0.08	1.15	1.12	38
ICTA Ixtepeque	0.03	0.01	0.02	1.03	1.02	34
ICTA Ligero	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	33
ICTA Petén	0.09	0.04	0.05	1.09	1.07	36
ICTA Chortí	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	33
ICTA Patriarca	0.46	0.20	0.24	1.46	1.36	48
ICTA Zam	0.12	0.05	0.07	1.12	1.10	37
ICTA Sayaxché	0.00	0.00	0.00	1.00	1.00	33
ICTA Ostua	0.24	0.11	0.13	1.24	1.19	41
ICTA S.G. ²	0.09	0.04	0.05	1.09	1.07	36
ICTA Suprema	0.03	0.01	0.02	1.03	1.02	34
ICTA Barranqueña	0.12	0.05	0.07	1.12	1.10	37

¹.95 de confiabilidad; ²S.G.= Santa Gertrudis.

Cuadro 10

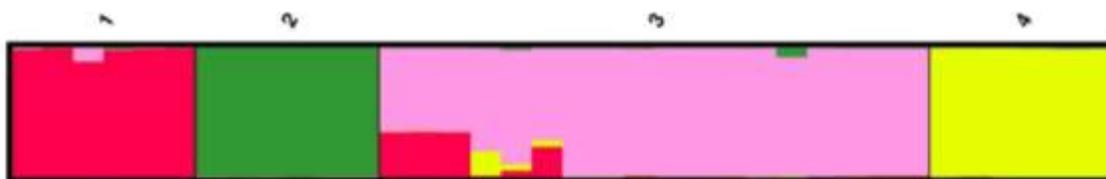
Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) para los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor-p	Variación estándar	% Variación
Entre accesiones	313.72	11	28.52	<0.0001	8.13	68.11
Dentro de accesiones	91.33	24	3.81	<0.0001	3.81	31.89
Total	405.06	35	11.57		11.93	100.00

En cuanto a la diferenciación entre genotipos, ICTA Chortí comparado con ICTA Petén, e ICTA Ostúa comparado con ICTA Suprema, son los genotipos más alejados uno de otro. Mientras que los más relacionados son ICTA Ixtepeque con ICTA Xinca, e ICTA Ligero con ICTA Petén, basados en los valores F_{ST} que se muestran en el cuadro 11.

5.2.1 Estructura de Población

El análisis de estructura de población también se realizó con la información de los 33 marcadores moleculares. Se identificaron cuatro subpoblaciones como el nivel jerárquico más importante ($K=4$) utilizando la estadística ΔK desarrollada por Evanno et al. (2005). El primer subgrupo lo conforman ICTA Xinca e ICTA Ixtepeque; el segundo subgrupo lo conforman ICTA Petén e ICTA Ligero; el tercer subgrupo está conformado por ICTA Patriarca, ICTA Chortí, ICTA Zam, ICTA Sayaxché, ICTA Ostúa e ICTA Santa Gertrudis; y el cuarto subgrupo lo conforman ICTA Suprema e ICTA Barranqueña. La subpoblación tres muestra mezcla reducida con las otras tres subpoblaciones, especialmente con la subpoblación uno. La Figura 3 muestra cómo se distribuyen los genotipos en las cuatro diferentes subpoblaciones y la mezcla existente. Esta clasificación es valiosa debido a que genotipos de diferentes grupos son genéticamente muy diferentes, esto es de suma importancia momento de planificar bloques de cruzamientos.



1= ICTA Xinca e ICTA Ixtepeque. 2= ICTA Petén e ICTA Ligero. 3= ICTA Patriarca, ICTA Chortí, ICTA Zam, ICTA Sayaxché, ICTA Ostúa e ICTA Santa Gertrudis. 4= ICTA Suprema e ICTA Barranqueña

Figura 3. Resultados de estructura de población con $K=4$ en los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala.

El análisis de componentes principales (ACP) fue consistente con el análisis de estructura de población, el primer componente explicó el 20.2% de variación y separó las subpoblaciones 2 y 4 de las subpoblaciones 1 y 3, establecidas en el análisis de estructura. El segundo componente explicó el 19.1% y separó los cuatro grupos previamente establecidos (Figura 4). La mezcla de las subpoblaciones 3 y 1 también se puede observar en la figura 4.

El análisis filogenético se hizo basado en un dendograma con distancia Euclidea y el método de Ward. Este análisis también fue consistente con el análisis de estructura y el análisis de componentes principales (Figura 5). Sin embargo, ICTA Chortí se agrupa con ICTA Xinca e ICTA Ixtepeque. Esta diferencia puede estar basada en el método utilizado para generar el árbol o la cercanía de ambos subgrupos, ya que en el análisis de componentes principales muestra a ICTA Chortí cercana a la subpoblación 1 y en el análisis de estructura de población ICTA Chortí a pesar de pertenecer a la subpoblación 3 presenta mezcla con el subgrupo 1.

Cuadro 11

Índices de fijación (F_{st}) de los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.

	ICTA Xinca	ICTA Ixtepeque	ICTA Ligero	ICTA Petén	ICTA Chortí	ICTA Patriarca	ICTA Zam	ICTA Sayaxché	ICTA Ostua	ICTA S.G.	ICTA Suprema	ICTA Barranq.
ICTA Xinca	0.00											
ICTA Ixtepeque	0.12	0.00										
ICTA Ligero	0.57	0.38	0.00									
ICTA Petén	0.63	0.62	0.18	0.00								
ICTA Chortí	0.36	0.34	0.55	0.75	0.00							
ICTA Patriarca	0.36	0.33	0.55	0.62	0.25	0.00						
ICTA Zam	0.57	0.48	0.41	0.52	0.35	0.41	0.00					
ICTA Sayaxché	0.43	0.37	0.55	0.57	0.45	0.28	0.39	0.00				
ICTA Ostua	0.44	0.53	0.57	0.39	0.46	0.35	0.35	0.21	0.00			
ICTA S.G. ¹	0.37	0.29	0.33	0.52	0.33	0.26	0.23	0.22	0.21	0.00		
ICTA Suprema	0.46	0.36	0.53	0.64	0.51	0.49	0.71	0.68	0.75	0.60	0.00	
ICTA Barranq. ²	0.51	0.50	0.44	0.48	0.49	0.44	0.59	0.54	0.71	0.53	0.32	0.00

¹S.G.= Santa Gertrudis; ²Barranq.= Barranqueña.

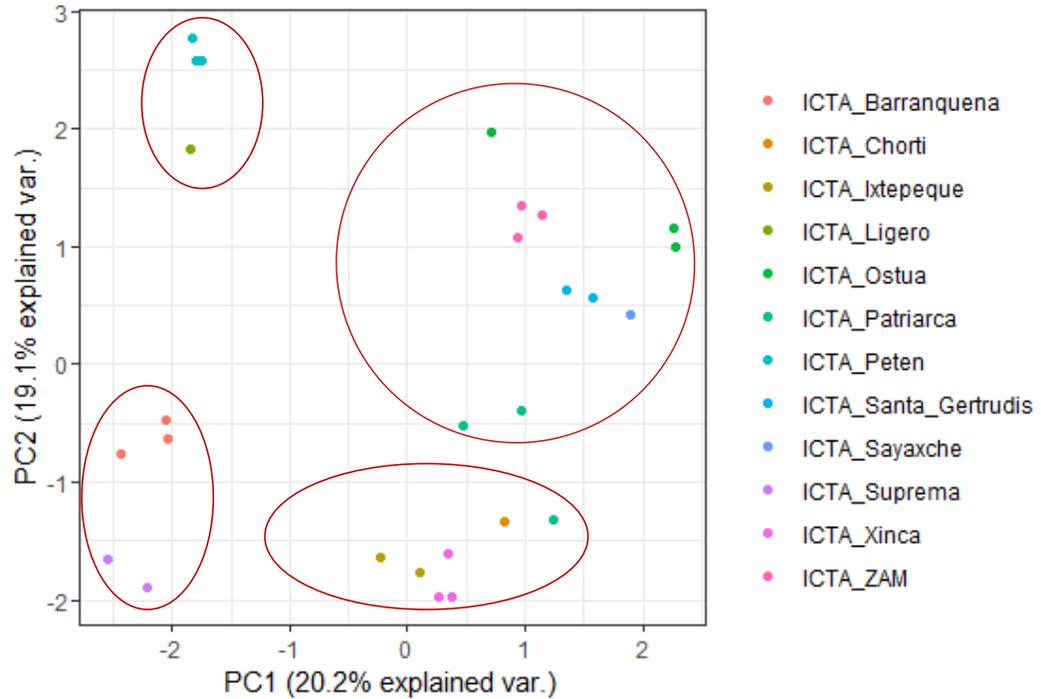


Figura 4. Análisis de Componentes Principales para los 12 cultivares de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala.

El análisis filogenético se hizo basado en un dendograma con distancia Euclídea y el método de Ward. Este análisis también fue consistente con el análisis de estructura y el análisis de componentes principales (Figura 5) con la diferencia de que ICTA Chortí se agrupa con ICTA Xinca e ICTA Ixtepeque. Esta diferencia puede estar basada en el método utilizado para generar el árbol o la cercanía de ambos subgrupos, ya que en el análisis de componentes principales muestra a ICTA

Chortí cercana a la subpoblación 1 y en el análisis de estructura de población ICTA Chortí a pesar de pertenecer a la subpoblación 3 presenta mezcla con el subgrupo 1.

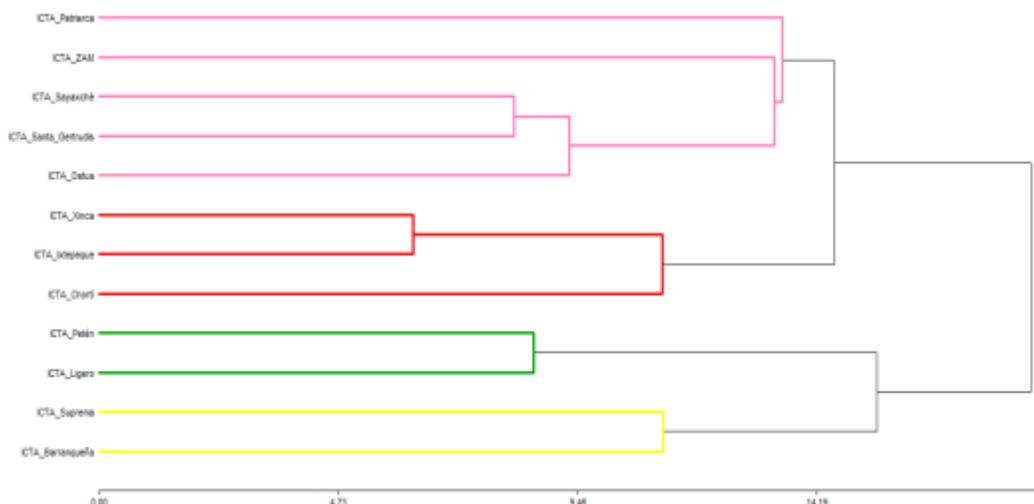


Figura 5. Análisis de conglomerados para los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala.

5.2.2 Diversidad genética por poblaciones

Una vez establecidas las cuatro subpoblaciones se realizó nuevamente un análisis de diversidad basado en los cuatro subgrupos (Cuadro 12). La mayor diversidad y contenido de información polimórfica se observa en las subpoblaciones 3 y 4. Mientras que las subpoblaciones 1 y 2 presentaron baja diversidad genética, indicando que los genotipos pertenecientes a esos grupos se encuentran altamente emparentados.

Cuadro 12

Resultados de diversidad genética por subpoblación para los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.

Población	No. Muestras	No. Alelos	No. Alelos efectivos	Valores PIC ¹	Diversidad genética	Diversidad genética imparcial
1	6	1.24	1.17	0.07	0.10	0.10
2	6	1.24	1.20	0.08	0.10	0.11
3	18	1.97	1.59	0.24	0.28	0.28
4	6	1.36	1.31	0.13	0.16	0.18

¹PIC= Contenido de Información Polimórfica.

5.2.3 Huellas genéticas

Basado en la información de electroforesis de los 33 marcadores se desarrolló una huella genética para cada genotipo, determinada por los alelos encontrados utilizando las distancias establecidas por los pares de bases de cada fragmento. Las huellas se muestran en la Figura 6.

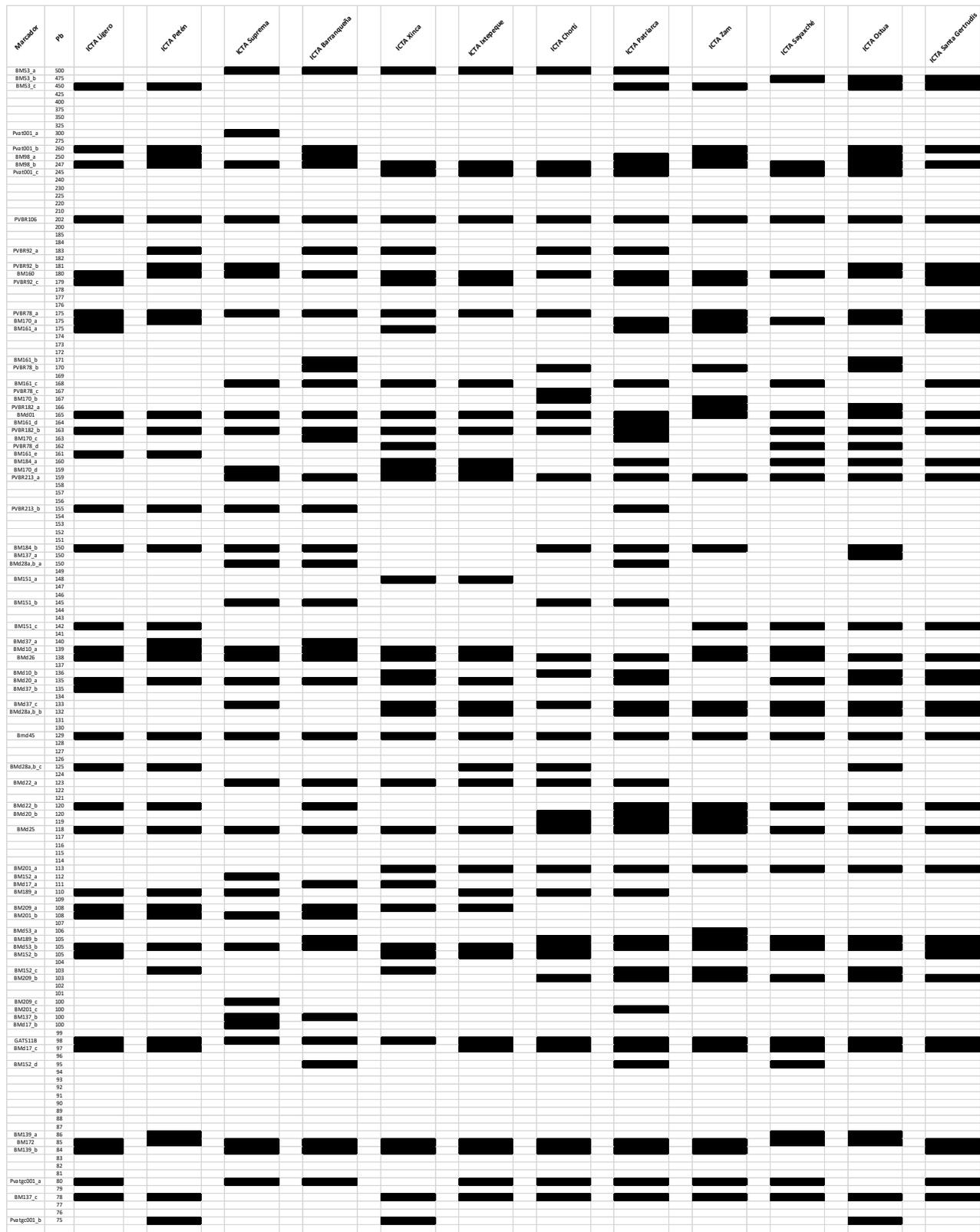


Figura 6. Huella genética de los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala.

5.2.4 Análisis de la caracterización molecular

La diversidad genética es interpretada como la heterocigosidad esperada en un locus cuando el individuo es cruzado aleatoriamente, por esta razón el valor máximo de la diversidad genética es 0.5 (Nei & Li, 1979). Cuando se evalúan poblaciones grandes se espera encontrar una diversidad alta, sin embargo, cuando es un grupo de individuos pertenecientes a una sola especie y una sola región tienden a ser genéticamente similares (Sosa, Batista Hernández, Bouza Carrelo & González Pérez, 2002). En este estudio la diversidad encontrada fue de 0.36 lo que indica que a pesar de que los genotipos pertenecen a una población reducida aún se encuentra una diversidad moderada. El contenido de información polimórfica mostró que los marcadores brindaron también información moderada ya que varios de ellos fueron monomórficos y no aportaron al análisis.

Como era de esperarse la diversidad dentro de cada genotipo fue escasa, y en algunos casos inexistentes (ICTA Liger e ICTA Chortí). Sin embargo, se debe considerar que las muestras de ICTA Patriarca e ICTA Xinca a pesar de no presentar heterocigosis en el análisis, sí presentaron niveles intermedios de diversidad, lo que indica presencia de impurezas en las líneas.

Los genotipos ICTA Liger e ICTA Petén son genéticamente muy similares por lo que no se recomienda utilizarlos en conjunto para los planes de cruzamiento a menos que se deseen líneas isogénicas cercanas con diferencia de un solo gen, por ejemplo, el traslado del gen de resistencia al virus del mosaico dorado que solamente se encuentra en ICTA Liger. Así mismo para las líneas ICTA Xinca e ICTA Ixtepeque, en caso sea considerada la liberación de alguna de ellas más no las dos juntas ya que son genéticamente similares.

La estructura de la población mostró cuatro subgrupos. Estos subgrupos están dados mayoritariamente debido a la genealogía y origen de las líneas, tal es el caso de ICTA Suprema e ICTA Barranqueña las cuales son producto de cruza entre los mismos parentales. ICTA Xinca e ICTA Ixtepeque provienen de una misma población. ICTA Liger e ICTA Petén son morfológicamente similares. Además, se observa mezcla de subgrupos, ICTA Chortí tiene introgresión del subgrupo 1 (ICTA Xinca e ICTA Ixtepeque). Esto explica la mayor diversidad encontrada en el subgrupo 3. Un plan de cruzamiento entre subgrupos de la población es lo más recomendable ya que son genotipos genéticamente diferentes.

La generación de huellas genéticas será útil para el programa de frijol de ICTA ya que permitirá la evaluación periódica de la pureza de las variedades liberadas o que están por liberarse ya que el factor genético no se ve modificado por factores ambientales.

5.3 Caracterización industrial y culinaria

5.3.1 Características físicas

Según la clasificación realizada por Elías *et al.*, (1986) las variedades ICTA Santa Gertrudis, Petén, Ostúa y Sayaxché presentaron los granos de menor tamaño y se encuentran clasificados como pequeños (< 0.193 g/ 100 granos), ICTA Ligero y Barranqueña presentaron granos de tamaño medio, el resto de las variedades, poseen grano grande (> 0.217 g/ 100 granos).

El porcentaje de cascara estuvo en el rango de 5.93% a 8.93%, ICTA Petén presentó porcentaje de cáscara superior a ocho por ciento lo que lo clasifica como un valor intermedio, el resto de las variedades, presentaron valores menores a ocho por ciento, debido a ello se clasifican como variedades con bajo contenido de cáscara, según Elías *et al.*, (1986) valores superiores a 10% son considerados altos y disminuyen la aceptación del consumidor, por lo que esta característica hace que los genotipos caracterizados puedan tener buena aceptación por parte de los consumidores.

La absorción de agua está correlacionada con el rendimiento de las variedades y además con el tiempo de cocción (Castellanos *et al.*, 1993), todas las variedades presentaron valores menores al 80% de absorción de agua, por lo que se consideran variedades de testa dura (Elías *et al.*, 1986), además todas las variedades presentaron problema moderado en la capacidad de absorción de agua (Guzmán,1995). Existen estudios donde se reportan porcentajes de absorción de agua de 94.18 (Oliveira *et al.*, 2012), la importancia de la absorción de agua radica en promover la gelatinización del almidón del grano y la coagulación de las proteínas (Bressani, 1993).

Cuadro 13

Características físicas de los granos pertenecientes a los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.

Variedad	Peso de 100 granos (g)	% Cáscara	%Absorción de agua	Tiempo de Cocción	Índice de Tiempo
Sen 3	24.30	6.10	48.20	76.6	49.3
ICTA Patriarca	23.93	6.70	51.91	61.6	24.0
S95/ S46-2	23.63	5.93	50.47	71.6	10.6
ICTA Suprema	22.63	7.33	50.62	78.3	14.6
ICTA Chortí	22.60	7.97	47.57	60.0	21.3
ICTA Zam	21.23	7.90	48.12	90.0	26.6
ICTA Ligero	20.30	6.07	44.23	66.6	22.6
ICTA Barranqueña	19.83	7.30	46.70	90.0	12.0
ICTA Santa Gertrudis	17.97	7.97	48.72	93.6	28.0
ICTA Petén	17.40	8.93	41.92	71.6	46.6

ICTA Ostúa	16.53	7.67	49.61	80.0	42.6
ICTA Sayaxché	15.77	6.97	45.63	71.6	10.6

En la variable de tiempo de cocción, todos los genotipos caracterizados necesitaron tiempos superiores al recomendado de 45 minutos (Elías et al., 1986), sin embargo, no superaron los 150 minutos que se tienen como máximo. Correa *et al.*, (2010) reportó variedades con tiempo de cocción de 13.3 minutos, por lo que esta es una característica por mejorar en los materiales genéticos del ICTA.

Todas las variedades fueron de color negro, valores del color fueron significativamente diferentes ($p < 0.0001$). Valores de 'L' fueron observados en el rango de 13.45 a 19.29. Los valores para 'a' variaron de 0.09 a 2.91, 'b' estuvo en el rango de 1.40 a 4.0. ICTA Zam e ICTA Barranqueña presentaron mayores valores para L, a y b, lo que indica que son variedades con mayor luminosidad o brillo. Se encontró correlación positiva ($r = 0.75$) entre las variables de tiempo de cocción y los valores de 'a', existen reportes que indican que el brillo de la testa puede ser un factor que acelera el endurecimiento de los granos (Elías *et al.*, 1986).

Cuadro 14

Valores de color basados en la escala L, a, b realizado a los 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.

Variedad	Color		
	L	a	b
Sen 3	13.45	0.52	4.00
ICTA Patriarca	15.47	0.13	2.10
S95/ S46-2	15.36	0.09	2.21
ICTA Suprema	16.77	1.02	2.12
ICTA Chortí	14.44	0.13	2.31
ICTA Zam	19.29	2.91	3.91
ICTA Ligerero	16.59	0.54	2.06
ICTA Barranqueña	19.26	2.26	3.03
ICTA Santa Gertrudis	15.54	0.81	2.93
ICTA Petén	14.66	0.57	1.40
ICTA Ostua	16.35	0.88	3.29
ICTA Sayaxché	15.18	0.05	2.22

5.3.2 Contenido nutricional

El contenido de humedad en los granos varió de 11.24% a 12.19%, el extracto etéreo fue menor a uno por ciento en todas las variedades. La proteína en frijol común se encuentra entre 14 a 33%, las variedades caracterizadas estuvieron en ese rango, sin embargo, ICTA Chortí e ICTA Ligero fueron las dos variedades con mayor contenido proteínico. La fibra cruda estuvo entre 2.72% a 6.81%, siendo estos valores para las variedades ICTA Petén y Zam, respectivamente.

El mínimo del contenido de hierro fue de 58.95 mg/Kg y el máximo fue de 80.75, mientras que el promedio en las variedades caracterizadas fue de 64.74 mg/Kg. El zinc presentó valores entre 27.95 mg/Kg a 36.2 mg/Kg. La variedad con mayor contenido de hierro y zinc fue ICTA Chortí.

Cuadro 15

Contenido nutricional de 12 genotipos de frijol arbustivo adaptados al oriente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.

Variedad	Agua %	M.S.T %	E.E %	F.C. %	Proteína %	Ceniza %	E.L.N %	Fe (mg/Kg)	Zn (mg/Kg)
Sen 3	11.83	88.17	0.89	5.11	25.39	4.94	63.67	67.4	30.85
ICTA Petén	11.81	88.19	0.79	2.72	26.60	5.19	64.70	58.95	30.08
ICTA Sayaxché	11.81	88.19	1.06	6.43	23.65	5.08	63.77	60.70	31.60
ICTA Santa Gertrudis	11.90	88.10	0.85	6.66	24.21	4.99	63.29	67.20	34.25
ICTA Chortí	11.91	88.09	0.93	5.35	28.84	5.08	59.79	80.75	36.20
ICTA Zam	11.40	88.60	0.89	6.81	24.03	4.85	63.43	59.30	34.10
ICTA Ostúa	11.27	88.73	0.95	6.15	26.54	5.03	61.34	60.30	32.35
Ser/Sen 46-2	11.88	88.12	0.93	4.93	24.12	4.95	65.06	65.90	30.20
ICTA Suprema	11.79	88.21	0.66	5.94	23.93	5.10	64.36		
ICTA Barranqueña	11.24	88.76	0.75	3.35	25.78	5.83	64.30		
ICTA Patriarca	12.19	87.81	0.93	6.21	24.61	5.44	62.81	67.95	31.05
ICTA Ligero	11.99	88.01	0.83	4.07	29.71	4.56	60.83		

M.S.T. = Materia Seca Total; E.E = Extracto etéreo; F.C. = Fibra Cruda; E.L.N = Extracto Libre de Nitrógeno.

6. CONCLUSIONES

Según las características morfológicas y fenológicas, los 12 genotipos de frijol arbustivo se agruparon en seis grupos por similitudes.

El tamaño del tallo principal, largo de vainas, número de vainas por planta, hábito de crecimiento, color predominante de la vaina a cosecha y forma predominante de la semilla son las características que permiten diferenciar a un genotipo de otro.

El estudio de diversidad genética demostró que existe diversidad moderada al evaluar los 12 genotipos en conjunto, además existe muy baja diversidad dentro de cada genotipo. La población se dividió en cuatro subpoblaciones basadas en las similitudes genéticas de los genotipos de cada subpoblación.

La caracterización industrial y culinaria determinó que cinco genotipos presentaron grano pequeño, dos con grano intermedio y cinco con grano grande. Todas las variedades presentaron bajo contenido de cáscara y altos tiempos de cocción.

7. RECOMENDACIONES

Se recomienda comparar estos resultados de diversidad con accesiones de las diferentes razas genéticas de frijol, para identificar las razas a las que pertenecen.

Realizar mejoramiento entre genotipos de diferentes subgrupos genéticos para obtener características contrastantes entre parentales y mayor diversidad genética.

En caso de tener disponible información fenotípica de interés para estas líneas, se recomienda hacer un análisis de QTL (Quantitative trait loci) para asociar los fenotipos con los marcadores utilizados y poder identificar marcadores útiles para selección asistida con marcadores (MAS).

Realizar por triplicado los análisis químicos, para obtener mayor confiabilidad.

Replicar la caracterización agro-morfológica de los genotipos cada cinco años para validar los datos obtenidos en esta investigación.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agarwal, M., Shrivastava, N., & Padh, H. (2008). Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant cell reports*, 27(4), 617-631.
- Akibode, C. S., & Maredia, M. K. (2012). *Global and regional trends in production, trade and consumption of food legume crops*. Disponible en:

- <https://impact.cgiar.org/sites/default/files/images/Legumetrendsv2.pdf> (acceso el 11 de junio 2019).
- Aldana, L. F. (2010). Manual de producción comercial y de semilla de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA). Guatemala. p. 37.
- Beebe, S., Skroch, P. W., Tohme, J., Duque, M. C., Pedraza, F., & Nienhuis, J. (2000). Structure of genetic diversity among common bean landraces of Middle American origin based on correspondence analysis of RAPD. *Crop science*, 40(1), 264-273.
- Bitocchi, E., Nanni, L., Bellucci, E., Rossi, M., Giardini, A., Zeuli, P. S., ... & Papa, R. (2012). Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(14), E788-E796.
- Blair, M. W., Cortés, A. J., Penmetsa, R. V., Farmer, A., Carrasquilla-Garcia, N., & Cook, D. R. (2013). A high-throughput SNP marker system for parental polymorphism screening, and diversity analysis in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical and applied genetics*, 126(2), 535-548.
- Blair, M. W., Pedraza, F., Buendia, H. F., Gaitán-Solís, E., Beebe, S. E., Gepts, P., & Tohme, J. (2003). Development of a genome-wide anchored microsatellite map for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 107(8), 1362-1374.
- Bressani, R. 1993. Grain quality of common beans. *Food Reviews international*. (9) 2, 237-297.
- Broughton, W. J., Hernandez, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., & Vanderleyden, J. (2003). Beans (*Phaseolus* spp.)—model food legumes. *Plant and soil*, 252(1), 55-128.
- Clavijo, P. (1980). *Resumen general de las principales características agronómicas de diferentes granos en Colombia*. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (IICA). Colombia. p. 49.
- CIAT, 1986. Etapas de desarrollo de la planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Fernando Fernández de C., Paul Gepts, Marcelino López. Cali, Colombia. 34 p.
- Correa, M. M; de Carvalho, L. J; Nutti, M. R; de Carvalho, J. V; Neto, A. H y Ribeiro, E. G. (2010). Water absorption, hard shell and cooking time of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *African Journal of Food Science and Technology*, 1(1), 013-020.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M., & Robledo C. W. (2014) InfoStat. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Díaz, L. M., & Blair, M. W. (2006). Race structure within the Mesoamerican gene pool of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as determined by microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 114(1), 143-154.
- Elías, L.G.; A. García, Soto; Bressani, R. 1986. Métodos para establecer calidad tecnológica y nutricional del frijol (*Phaseolus vulgaris*). Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá. p 41.
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, 14(8), 2611-2620.

- Gaitán-Solís, E., Duque, M. C., Edwards, K. J., & Tohme, J. (2002). Microsatellite repeats in common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Crop science*, 42(6), 2128-2136.
- Galvan, M. Z., Bornet, B., Balatti, P. A., & Branchard, M. (2003). Inter simple sequence repeat (ISSR) markers as a tool for the assessment of both genetic diversity and gene pool origin in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica*, 132(3), 297-301.
- Gepts, P., & Debouck, D. (1991). Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Common beans: research for crop improvement*. (Eds): Wallingford, Commonwealth Agricultural Bureau. p. 7-53.
- Grisi, M. C. M., Blair, M. W., Gepts, P., Brondani, C., Pereira, P. A. A., & Brondani, R. P. V. (2007). Genetic mapping of a new set of microsatellite markers in a reference common bean (*Phaseolus vulgaris*) population BAT93 x Jalo EEP558. *Genetic Molecular Resources*, 6(3), 691-706.
- Kelly, J. D. (2010). The story of bean breeding. *White paper prepared for BeanCAP & PBG Works on the topic of dry bean production and breeding research in the US Michigan State University*, 1-29.
- Kwak, M., & Gepts, P. (2009). Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). *Theoretical and Applied Genetics*, 118(5), 979-992.
- Linares, S; De Bosque, C; Elias, L; y Bressani, R. (1979). Características tecnológicas y nutricionales de 20 genotipos de frijol común (*Phaseolus vulgaris*). Turrialba. 31(1) 1-10
- McClellan, P. E., Terpstra, J., McConnell, M., White, C., Lee, R., & Mamidi, S. (2012). Population structure and genetic differentiation among the USDA common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) core collection. *Genetic resources and crop evolution*, 59(4), 499-515.
- Miklas, P. (2005). DNA markers (SCARS) linked with disease resistance traits in bean (*Phaseolus vulgaris*). USDA-ARS. (Acceso 11 junio 2019). Disponible en: <https://www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/3848/PDF/Scartable3.pdf>
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación de Guatemala (MAGA). (2013). Precios del frijol negro: Producción de frijol negro. Guatemala, Guatemala. p. 14.
- Muñoz, G; Giraldo G; Fernández de Soto, J. 1993. Descriptores varietales: arroz, frijol, maíz, sorgo. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical. 174 p.
- Nei, M., & Li, W. H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(10), 5269-5273.
- Osorno, J. M., & McClellan, P. (2013). Genetic Improvement of Middle-American Climbing Beans in Guatemala (SO1. A1). Feed the Future, Legume Innovation Lab. Michigan State University, Michigan.
- Peakall, R. O. D., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, 6(1), 288-295.

- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28, 2537-2539.
- Poczai, P., Varga, I., Laos, M., Cseh, A., Bell, N., Valkonen, J. P., & Hyvönen, J. (2013). Advances in plant gene-targeted and functional markers: a review. *Plant Methods*, 9(1), 6.
- Schmutz, J., McClean, P. E., Mamidi, S., Wu, G. A., Cannon, S. B., Grimwood, J., ... & Torres-Torres, M. (2014). A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nature genetics*, 46(7), 707.
- Singh, S. P., Gepts, P., & Debouck, D. G. (1991). Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Economic Botany*, 45(3), 379-396.
- Sokal, R. R. (1958). A statistical method for evaluating systematic relationship. *University of Kansas Science Bulletin*, 28, 1409-1438.
- Sonnante, G., Stockton, T., Nodari, R. O., Velásquez, V. B., & Gepts, P. (1994). Evolution of genetic diversity during the domestication of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 89(5), 629-635.
- Sosa, P. A., Batista Hernández, F., Bouza Carrelo, N., & González Pérez, M. Á. (2002). La conservación genética de las especies vegetales amenazadas. Universidad de las Palmas de Gran Canaria. p. 134-160.
- Tobar- Piñón M. G., Mogghadam S. M., Lee R. K., Villatoro J. C., Osorno J. M., McClean P. E. (2017). Genetic Diversity of the Guatemalan Climbing Bean Collections. Bean Improvement Cooperative Conference. East Lansing MI, USA. Oct. 29th to Oct. 31st.
- Vlasova, A., Capella-Gutiérrez, S., Rendón-Anaya, M., Hernández-Oñate, M., Minoche, A. E., Erb, I., ... & Westergaard, G. (2016). Genome and transcriptome analysis of the Mesoamerican common bean and the role of gene duplications in establishing tissue and temporal specialization of genes. *Genome biology*, 17(1), 32.
- Yu, K., Park, S. J., Poysa, V., & Gepts, P. (2000). Integration of simple sequence repeat (SSR) markers into a molecular linkage map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Heredity*, 91(6), 429-434.

9. ANEXOS

Anexo 1. Protocolo para la extracción de ADN por medio del kit de Biotecon Diagnostics. ICTA, Guatemala, 2019.

PASO	ACCIÓN	VOLUMEN	TIEMPO/rpm TIEMPO/ TEMPERATURA
1	Poner 200 mg de muestra homogenizada en un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL. Agregar el Buffer de Extracción (bote 1, tapón rojo).	1 mL	
2	Vortex.		30 segundos
3	Incubar (NOTA: mezclar 2 a 3 veces durante la incubación invirtiendo el tubo. Si la matriz absorbe el Buffer de Extracción, agregar Buffer de Extracción adicional).		80°C durante 30 minutos
4	Centrifugar.		10 minutos a 12,000 rpm
5	Agregar el Buffer de Unión (bote 2, tapón verde) a un nuevo tubo de microcentrífuga de 2 mL.	400 µL	
6	Transferir el sobrenadante obtenido en el paso 3 a un nuevo tubo de microcentrífuga de 2 mL con Buffer de Unión. Mezclar suavemente, pero a fondo pipeteando hacia arriba y hacia abajo.	600 µL	
7	Agregar la solución de trabajo de Proteinasa K (100 mg/5 mL de H ₂ O _{dd}).	80 µL	
8	Mezclar suavemente pero a fondo pipeteando hacia arriba y hacia abajo.		
9	Incubar.		72°C durante 10 minutos
10	Agregar isopropanol y mezclar bien pipeteando hacia arriba y hacia abajo.	200 µL	
11	Pipetear la mezcla dentro de la parte superior del reservorio del ensamblaje combinado de TUBO-FILTRO-TUBO COLECTOR.	650 µL	
12	Centrifugar.		1 minuto a 5,000 rpm
13	Descartar el líquido y el TUBO COLECTOR. Poner el TUBO FILTRO en un nuevo TUBO COLECTOR.		
14	Agregar la mezcla remanente al mismo TUBO FILTRO y centrifugar.		1 minuto a 5,000 rpm
15	Descartar el líquido y el TUBO COLECTOR. Poner el TUBO FILTRO en un nuevo TUBO COLECTOR.		
16	Agregar la solución de trabajo del Buffer de Lavado (bote 3, tapón azul) al reservorio superior.	450 µL	
17	Centrifugar.		1 minuto a 5,000 rpm
18	Descartar el líquido y reusar el TUBO COLECTOR.		
19	Agregar solución de trabajo del Buffer de Lavado (bote 3, tapón azul) al reservorio superior.	450 µL	
20	Centrifugar.		1 minuto a 5,000 rpm
21	Descartar el líquido y reusar el TUBO COLECTOR.		
22	Centrifugar para remover residuos del Buffer de Lavado.		10 segundos a 13,000 rpm
23	Insertar el TUBO FILTRO en un tubo de reacción limpio de 1.5 mL.		
24	Calentar el Buffer de Elución (bote 4, tapón sin color).		70°C
25	Agregar el Buffer de Elución precalentado.	100 µL	
26	Incubar.		15-25°C durante 5 minutos
27	Centrifugar.		1 minuto a 5,000 rpm
28	El tubo de microcentrífuga ahora contiene el ADN eluido.		

Anexo 2.1. Listado de marcadores moleculares utilizados en el análisis molecular. ICTA, Guatemala, 2019.

SSR ¹	Pv ²	Cebador (Forward)	Cebador (Reverse)	T. Hibr. (°C) ³	T. banda ⁴ (pb)	Referencia
BMd10	1	GCTCACGTACGAGTTGAATCTCAG	ATCTGAGAGCAGCGACATGGTAG	47	139	Blair et al. 2003
BM53	1	AACTAACCTCATAACGACATGAAA	AATGCTTGCACTAGGGAGTT	55	287	Gaitan-Solis et al. 2002
BMd45	1	GGTTGGGAAGCCTCATAACAG	ATCTTCGACCCACCTTGCT	47	129	Blair et al. 2003
BMd17	2	GTTAGATCCCGCCCAATAGTC	AGATAGGAAGGGCGTGGTTT	47	116	Blair et al. 2003
BM139	2	TTAGCAATACCGCCATGAGAG	ACTGTAGCTCAAACAGGGCAC	50	115	Gaitan-Solis et al. 2002
BM152	2	AAGAGGAGGTCGAAACCTTAAATCG	CCGGGACTTGCCAGAAGAAC	50	127	Gaitan-Solis et al. 2002
BM172	3	CTGTAGCTCAAACAGGGCACT	GCAATACCGCCATGAGAGAT	50	107	Gaitan-Solis et al. 2002
BM98	3	GCATCACAAAGGACTGAGAGC	CCCAAGCAAAGAGTCGATTT	55	247	Gaitan-Solis et al. 2002
BMd01	3	CAAATCGCAACACCTCACAA	GTCGGAGCCATCATCTGTTT	47	165	Blair et al. 2003
PVatgc001	4	TGCCACCACAGCTTTCTCCTC	TATGAGAGAAGCGTTTGGCAGC	49	126	Yu et al. 2000
BMd26	4	CTTGCCCTTGCTTCCTTCT	TCCATTCCAACCAAGTTTC	47	141	Blair et al. 2003
BM161	4	TGCAAAGGGTTGAAAGTTGAGAG	TTCCAATGCACCAGACATTCC	52	185	Gaitan-Solis et al. 2002
BMd53	5	TGCTGACCAAGGAAATTCAG	GGAGGAGGCTTAAGCACAAA	47	105	Blair et al. 2003
BMd20	5	GTTGCCACCGGTGATAATCT	GTGAGGCAAGAAGCCTTCAA	47	123	Blair et al. 2003
BMd28a,b	5	TGCATCAACTTTAGGAGCTTG	TCTTGTCTTATCAGCAGGTGGA	47	151	Blair et al. 2003
BMd37	6	GGCACGAGCAACAATCCTT	CCATCATAGAGGGCAACCAC	47	134	Blair et al. 2003
BM170	6	AGCCAGGTGCAAGACCTTAG	AGATAGGGAGCTGGTGGTAGC	50	179	Gaitan-Solis et al. 2002
BM137	6	CCGTATCCGAGCACCGTAAC	CGCTTACTCACTGTACGCACG	55	155	Gaitan-Solis et al. 2002
BM160	7	CGTGCTTGCGAATAGCTTTG	CGCGGTTCTGATCGTGACTTC	52	211	Gaitan-Solis et al. 2002
BM201	7	TGGTGCTACAGACTTGATGG	TGTCACCTCTCTCCTCCAAT	50	102	Gaitan-Solis et al. 2002
BM209	7	CAACCAATGAATGCTGACAATG	CAATTTCTTGATTGAAAGGCAAT	56	129	Gaitan-Solis et al. 2002
BMd25	8	GCAGATCGCCTACTCACAAA	CGTTGACGAGAAGCATCAAG	47	118	Gaitan-Solis et al. 2002
BM189	8	CTCCACTCTCACCTCACT	GCGCCAAGTGAACTAAGTAGA	50	114	Gaitan-Solis et al. 2002
BM151	8	CACAACAAGAAAGACCTCCT	TTATGTATTAGACCACATTACTTCC	50	153	Gaitan-Solis et al. 2002

¹SSR= Single sequence repeat; ²Pv= Cromosoma; ³T. Hibr.= Temperatura de hibridización; ⁴T. banda= Tamaño de banda.

Anexo 2.2. Listado de marcadores moleculares utilizados en el análisis molecular. ICTA, Guatemala, 2019. (continuación).

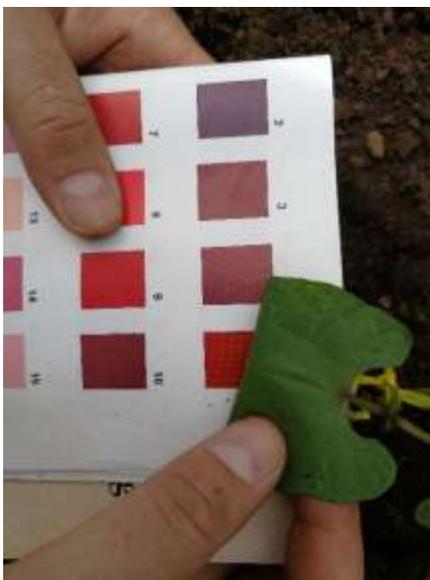
SSR ¹	Pv ²	Cebador (Forward)	Cebador (Reverse)	T. Hibr. (°C) ³	T. banda ⁴ (pb)	Referencia
PVBR78	9	AATTCGTGTCCTCTGTCTGTG	ACGACGGAGAGAGAGGTTGA	58	167	Grisi et al. 2007
PVBR106	9	CAACAAACAAGGCTGAAAAACA	AAAAAGAGAGGAGAGAGAAGAGAGC	56	209	Grisi et al. 2007
PVBR213	9	ACAATGTAGACAGCGCAGCA	GCTCTTTCTCCTCCCATCCT	53	163	Grisi et al. 2007
PVBR92	10	AATATTGGGGCAACATTCA	GCCATCAACAGAACCGATCA	46	173	Grisi et al. 2007
PVBR182	10	CGCGCACGTAGGTACTACAA	CAACAACACCACCCTGAGAC	53	164	Grisi et al. 2007
GATS11B	10	CCCACACATTGGTGCTAGTG	AGCGCAATGCTACTCGAAAT	52	160	Gaitan-Solis et al. 2002
PVat001	11	GGGAGGGTAGGGAAGCAGTG	GCGAACCACGTTTCATGAATGA	47	239	Yu et al. 2000
BMd22	11	GGTCACTTCCGGAGCATTC	CGGAAATGGAAGTCACAGT	47	121	Blair et al. 2003
BM184	11	AGTGCTCTATCAAGATGTGTG	ACATAATCAATGGGTCACTG	52	160	Gaitan-Solis et al. 2002

¹SSR= Single sequence repeat; ²Pv= Cromosoma; ³T. Hibr.= Temperatura de hibridización; ⁴T. banda= Tamaño de banda.

Anexo 3. Resumen de las características morfológicas cuantitativas de los 12 genotipos de frijol caracterizados. ICTA, Guatemala, 2019.

Características Morfológicas Cuantitativas	ICTA OSTUA				ICTA SANTA GERTRUDIS				ICTA LIGERO				ICTA PETEN				ICTA SAYAXCHE				ICTA CHORTI			
	Media	D.E.	Varianza	%C.V.	Media	D.E.	Varianza	%C.V.	Media	D.E.	Varianza	%C.V.	Media	D.E.	Varianza	%C.V.	Media	D.E.	Varianza	%C.V.	Media	D.E.	Varianza	%C.V.
Longitud del Hipocotilo (LH)	3.46	1.22	1.49	35	2.97	0.76	0.58	26	2.78	0.97	0.93	35	2.9	0.76	0.57	26	3.09	0.98	0.96	32	3.79	0.85	0.73	22
Longitud del Epicotilo (LE)	2.95	0.73	0.53	25	2.39	0.68	0.46	28	2.21	0.6	0.36	27	2.66	0.64	0.4	24	2.85	0.51	0.26	18	3.72	0.69	0.48	19
Longitud de la Hoja Primaria (LHP)	5.84	0.94	0.89	16	5.9	0.75	0.56	13	5.54	0.77	0.59	14	5.27	0.85	0.72	16	5.34	0.87	0.75	16	6.47	0.91	0.83	14
Anchura de la Hoja Primaria (AHP)	5.05	0.66	0.44	13	4.56	0.61	0.37	13	4.58	0.65	0.42	14	4.37	0.62	0.39	14	4.63	0.64	0.41	14	5.93	0.76	0.58	13
Longitud del Tallo Principal (LTP)	86.89	16.39	268.70	19	98.30	17.59	309.57	18	49.73	14.12	199.41	28	56.05	15.27	233.06	27	75.29	17.55	308.09	23	100.44	21.95	481.66	22
Área de Cobertura (AC)	66.26	12.45	155	19	75.19	10.32	106.52	14	51.5	10.66	113.55	21	51.55	10.28	105.58	20	57.42	11.05	122.08	19	46.22	6.23	38.84	13
Numero de Nudos (NN)	10.9	1.33	1.77	12	11.81	1.29	1.67	11	10.11	1.2	1.43	12	11.38	2.18	4.76	19	11.53	1.75	3.06	15	10.13	1.78	3.16	18
Longitud de la Hoja (LH)	10.44	1.44	2.07	14	10.89	1.5	2.24	14	10.39	1.52	2.3	15	11.08	1.08	1.18	10	9.73	1.11	1.23	11	9.97	1.61	2.6	16
Anchura de la Hoja (AH)	7.97	1.06	1.12	13	8.81	1.22	1.49	14	6.74	1.15	1.33	17	7.5	0.81	0.65	11	7.8	0.73	0.53	9	8.55	1.16	1.35	14
Área Foliar (AF)	63.35	15.6	243.41	25	73.12	19.14	366.26	26	53.67	16.15	260.87	30	62.78	11.59	134.24	18	57.35	10.89	118.5	19	64.76	17.12	293.13	26
Largo de Vainas (LV)	11.06	0.95	0.9	9	10.26	0.86	0.74	8	9.35	0.86	0.75	9	9.26	1.22	1.48	13	9.99	0.63	0.39	6	12.17	1.48	2.2	12
Ancho de Vainas (AV)	0.85	0.09	0.01	11	0.99	0.1	0.01	10	0.85	0.08	0.01	10	0.89	0.09	0.01	10	0.88	0.07	0.01	8	0.90	0.1	0.01	11
Longitud del Ápice de la Vaina (LAV)	0.69	0.14	0.02	20	0.88	0.11	0.01	13	0.76	0.12	0.01	15	0.76	0.13	0.02	17	0.68	0.11	0.01	16	1.05	0.21	0.05	20
Numero de Vainas por Planta (NVP)	18.59	6.32	40	34	21.87	8.03	64.5	37	20.65	6.41	41.06	31	17.5	5.88	34.54	34	21.01	7.73	59.75	37	16.69	5.94	35.33	36
Numero de Semillas por Vaina (NSV)	6.52	0.95	0.9	15	6.32	0.98	0.97	16	5.7	0.69	0.47	12	5.88	0.89	0.79	15	6.27	1.28	1.63	20	6.04	1.22	1.49	20
Peso de 100 granos de semilla	16.5				18.5				19.6				18.6				16.8				24.40			

Características Morfológicas Cuantitativas	ICTA PATRIARCA				ICTA XINCA (SEN 3)				ICTA IXTEPEQUE (SER92/SEN46-2)				ICTA BARRANQUEÑA				ICTA SUPREMA				ICTA ZAM			
	Media	D.E.	Varianza	%C.V.	Media	D.E.	Varianza	%C.V.	Media	D.E.	Varianza	%C.V.	Media	D.E.	Varianza	%C.V.	Media	D.E.	Varianza	%C.V.	Media	D.E.	Varianza	%C.V.
Longitud del Hipocotilo (LH)	3.48	1	1.01	29	2.94	0.75	0.56	25	3.44	0.75	0.56	22	3.38	0.83	0.68	24	2.74	0.93	0.86	34	2.81	0.89	0.79	32
Longitud del Epicotilo (LE)	3.29	0.66	0.43	20	2.84	0.58	0.33	20	3.54	0.76	0.58	21	2.59	0.7	0.49	27	2.45	0.49	0.24	20	2.31	0.72	0.52	31
Longitud de la Hoja Primaria (LHP)	6.59	0.82	0.67	12	6.69	1.08	1.16	16	5	1.83	3.35	37	5.9	0.92	0.84	16	6.22	1.03	1.06	17	6.99	0.88	0.77	13
Anchura de la Hoja Primaria (AHP)	5.73	0.78	0.6	14	5.29	0.77	0.59	15	5.99	0.96	0.92	16	5.55	0.73	0.53	14	5.04	0.66	0.44	13	5.29	0.53	0.28	10
Longitud del Tallo Principal (LTP)	77.91	20.23	409.29	26	89.24	13.49	182.06	15	88.93	11.75	138.05	13	99.15	23.33	544.09	24	87.70	21.17	448.11	24	77.78	17.91	320.62	23
Área de Cobertura (AC)	57.91	10.36	107.29	18	60.29	9.26	85.66	15	75.35	9.64	92.96	13	53.6	6.1	37.25	11	72.23	15.83	250.56	22	52	5.47	29.92	11
Numero de Nudos (NN)	11.95	1.47	2.15	12	11.76	1.3	1.68	11	10.8	1.93	3.74	18	11.61	1.32	1.74	11	12.82	1.53	2.35	12	11.85	1.45	2.09	12
Longitud de la Hoja (LH)	10.87	1.67	2.8	15	11.85	1.54	2.37	13	11.71	1.54	2.38	13	12.64	1.38	1.9	11	10.39	1.45	2.11	14	11.54	1.53	2.35	13
Anchura de la Hoja (AH)	7.29	1.08	1.17	15	8.09	0.94	0.89	12	7.89	0.97	0.94	12	8.16	0.96	0.93	12	6.47	1	1.01	16	8.17	1.04	1.08	13
Área Foliar (AF)	60.28	16.3	265.58	27	72.51	15.73	247.32	22	70.16	16.22	262.98	23	78.07	16.42	269.64	21	51.31	14.38	206.92	28	71.66	17.55	308.05	24
Largo de Vainas (LV)	11.43	1.22	1.49	11	10.06	0.81	0.65	8	9.55	0.64	0.42	7	9.25	0.82	0.67	9	9.5	0.8	0.64	8	10.34	0.75	0.57	7
Ancho de Vainas (AV)	0.9	0.08	0.01	9	0.91	0.09	0.01	9	0.91	0.07	0.01	8	0.9	0.12	0.02	14	0.9	0.07	0	8	0.97	0.13	0.02	13
Longitud del Ápice de la Vaina (LAV)	0.87	0.13	0.02	15	0.69	0.11	0.01	16	0.68	0.11	0.01	17	0.73	0.12	0.01	16	0.757	0.099	0.01	13	0.87	0.12	0.01	13
Numero de Vainas por Planta (NVP)	20.75	6.53	42.69	31	23.17	5.79	33.48	25	18.9	5.82	33.85	31	25.09	7.92	62.71	32	22.76	9.63	92.79	42	26.5	9.5	90.17	36
Numero de Semillas por Vaina (NSV)	6.06	0.91	0.82	15	5.54	0.67	0.45	12	5.47	0.97	0.94	18	5.21	0.86	0.73	16	5.05	0.78	0.61	16	6.27	0.95	0.91	15
Peso de 100 granos de semilla	26.6				25.5				24.9				21.4				23.8	0	0	0	22.7			



Anexo 4. Toma de datos de color de nervadura de hojas primarias. Ipala, Chiquimula. 2018.



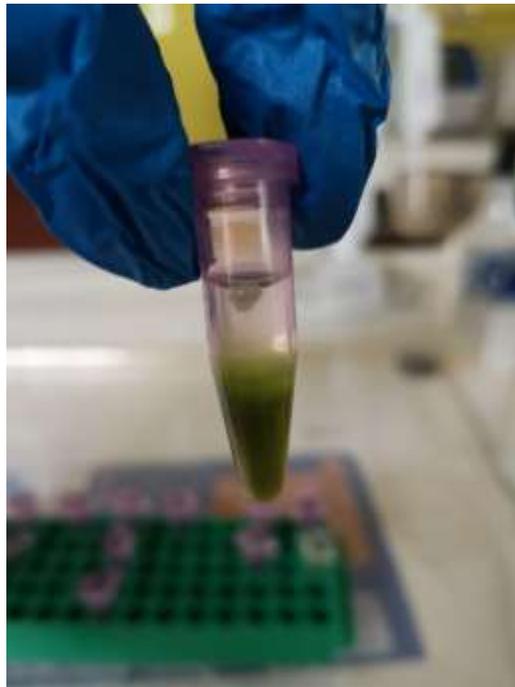
Anexo 5. Color de flor de variedades de frijol. Ipala, Chiquimula. 2018.



Anexo 6. Color de vainas de variedades de frijol. Ipala, Chiquimula. 2018



Anexo 7. Material vegetal para extracción de muestras de ADN para la caracterización molecular. Bárcena, Villa Nueva. 2019.



Anexo 8. ADN de genotipos caracterizados molecularmente. Bárcena, Villa Nueva. 2019.



CRIA

Programa de consorcios de Investigación Ag



**GOBIERNO de
GUATEMALA**
DR. ALEJANDRO GIAMMATTEI

MINISTERIO DE
AGRICULTURA,
GANADERÍA
Y ALIMENTACIÓN

