



MINISTERIO DE
AGRICULTURA,
GANADERÍA
Y ALIMENTACIÓN



Programa de Consorcios de Investigación Agropecuaria CRIA

Agrocadena de Frijol

**Caracterización morfológica, molecular, industrial y culinaria
de ocho genotipos de frijol común (*Phaseolus vulgaris L*)
arbustivo y voluble adaptados al occidente de Guatemala.**

Investigadora Principal

Jessica Raquel Moscoso Alfaro

Investigadores asociados

Erick Ricardo Aguilar Castillo

Aura Elena Suchini Farfán

María Gabriela Tobar Piñón

Karen Adriana Agreda Hernández

Quetzaltenango, Febrero 2,020

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.

Caracterización morfológica, molecular, industrial y culinaria de ocho genotipos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) arbustivo y voluble adaptados al occidente de Guatemala.

¹Jessica Raquel Moscoso Alfaro

²Karen Adriana Agreda Hernández

³Aura Elena Suchini Farfán

³María Gabriela Tobar Piñón

⁴Erick Ricardo Aguilar Castillo

Resumen

La caracterización agromorfológica es una herramienta para identificar la pureza genética y física de un cultivar y para estudios evolutivos de la especie. La caracterización molecular ayuda a identificar la huella genética y la culinaria permite identificar genotipos que posean características importantes de calidad para su consumo. El objetivo de este estudio fue caracterizar variedades de frijol arbustivo y voluble adaptadas al altiplano de Guatemala. Estas se realizaron en ICTA Quetzaltenango, en el laboratorio Biotecnología de ICTA Bárcenas y en la Planta Agroindustrial del ICTA Chimaltenango. En el análisis de conglomerados de la caracterización agromorfológica se formaron tres grupos, uno por la variedad voluble ICTA Uatlán, el segundo por las variedades volubles ICTA Labor Ovalle, ICTA Quiché e ICTA Hunapú, el tercero por las cuatro variedades de frijol arbustivo. El estudio de diversidad genética demostró que existe diversidad moderada al evaluarse los ocho cultivares en conjunto, y existe baja diversidad dentro de cada cultivar en frijoles arbustivos, mientras que la diversidad dentro de los cultivares aumenta al evaluar únicamente los cultivares volubles. En las características culinarias, el porcentaje de cascara estuvo entre 8.5 a 10.57%; sobresale la absorción de agua de ICTA Texel, ICTA Superchiva e ICTA Hunapú arbustivo, con valores superiores a 80%, caso contrario con ICTA Labor Ovalle, ICTA Uatlán e ICTA Quiché, quienes presentan problema de absorción de agua y tiempo de cocción. Todos los genotipos caracterizados necesitaron tiempos superiores al recomendado de 45 minutos en tiempo de cocción.

Palabras clave: agromorfológica, diversidad genética, registro variedades, análisis conglomerado.

¹ Investigadora Principal

² Investigadora Asistente Disciplina de Validación

³ Investigadora Asistente Biotecnología

⁴ Investigador Asistente Tecnología de Alimentos

Morphological, molecular, industrial and culinary characterization of eight genotypes of bush and climbing dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) adapted to the highlands of Guatemala.

¹Jessica Raquel Moscoso Alfaro

²Karen Adriana Agreda Hernández

³Aura Elena Suchini Farfán

³María Gabriela Tobar Piñón

⁴Erick Ricardo Aguilar Castillo

Abstract

The agro-morphological characterization is a useful tool to identify the physical and genetic purity of a cultivar and for evolution studies of species. The molecular characterization helps to identify the fingerprints and the culinary characterization allows to identify genotypes that have important traits of seed quality for consumption. The objective of this study was to characterize the climbing and bush type bean varieties adapted to the highlands of Guatemala. This was made at ICTA Quetzaltenango, the Biotechnology lab of ICTA Bárcenas and the Agro industrial plant at ICTA Chimaltenango. The agro-morphological characterization, showed three different groups in the cluster analysis, the first one for the climbing bean variety ICTA Utatlán, the second group was formed by the climbing bean varieties ICTA Labor Ovalle, ICTA Quiché and ICTA Hunapú; and the third group was formed by the four bush type varieties evaluated. The genetic diversity study showed that there is moderate diversity when the eight cultivars were evaluated together, and low diversity within each cultivar for the bush beans, while diversity increases within cultivars when only the climbing beans are evaluated. In the culinary characterization, the percentage of husk was within 8.5 and 10.57. Varieties ICTA Texel, ICTA Superchiva and ICTA Hunapú have values higher to 80% of water absorption. On the contrary, ICTA Labor Ovalle, ICTA Utatlán and ICTA Quiché have low values of water absorption and cooking time. All the genotypes that were characterized needed higher cooking times to the 45 minutes that are usually recommended.

Keywords: agro-morphological, genetic diversity, variety registration, cluster analysis.

¹ Principal Researcher

² Research assistant Discipline of Technology Validation

³ Research assistant Discipline of Biotechnology

⁴ Research assistant Discipline of Food Science

Contenido

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	MARCO TEÓRICO	2
2.1	Importancia del cultivo de frijol	2
2.2	Morfología del frijol común	4
2.3	El frijol común en Guatemala	4
2.3.1.	Frijol voluble	4
2.3.2.	El sistema milpa	5
2.6	La diversidad del frijol común	5
2.7	El genoma del frijol común	6
2.7.1	Marcadores moleculares para el análisis de diversidad	7
2.7.2	Caracterización molecular con microsatélites (SSR) en frijol	7
2.8	Caracterización culinaria y calidad de grano	8
2.8.1	Endurecimiento del grano	8
3.	OBJETIVOS	9
3.1	General	9
3.2	Específicos	9
4.	MATERIALES Y MÉTODOS	9
4.1	Caracterización Agromorfológica	9
4.1.1	Localidad y época	9
4.1.2	Variedades	10
4.1.3	Tamaño de la unidad experimental	10
4.1.4	Variables de respuesta	10
4.1.5	Análisis de la información	10
4.1.6	Manejo de la parcela	10
4.2	Caracterización molecular de las variedades	11
4.2.1	Localidad y época	11
4.2.2	Material vegetal	12
4.2.3	Extracción y cuantificación de ADN	12
4.2.4	Amplificación mediante PCR	12
4.2.5	Electroforesis	12
4.2.6	Análisis de datos	13

4.3	Caracterización de la calidad industrial y culinaria	13
4.3.1	Localidad y Época	13
4.3.2	VARIABLES DE RESPUESTA	13
4.3.3	Manejo del experimento	14
	Peso del grano	14
	Porcentaje de cáscara	14
	Absorción de agua	14
	Tiempo de cocción	14
	Índice de tiempo de cocción	14
	Caracterización química	14
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
5.1	Caracterización agromorfológica	15
	Cuadro 2 Media de características morfológicas cuantitativas de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, 2018-2019	15
5.2	Caracterización molecular	26
5.2.1	Estructura de Población	32
5.2.2	Diversidad genética por poblaciones	34
5.2.3	Huellas genéticas	34
5.3	Caracterización industrial y culinaria	37
6.	CONCLUSIONES	40
7.	RECOMENDACIONES	40
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
9.	ANEXO	45

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Variedades de frijol voluble y arbustivo ICTA, Guatemala, 2018-2019. 10

Cuadro 2	Media de características morfológicas cuantitativas de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, 2018-2019.....	15
Cuadro 3	Características morfológicas cualitativas en estado de plántula de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019	16
Cuadro 4	Características morfológicas cualitativas al momento de floración de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019	17
Cuadro 4	Características morfológicas cualitativas al momento de floración de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019 (Continuación)	18
Cuadro 4	Características morfológicas cualitativas al momento de floración de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019 (Continuación)	19
Cuadro 5	Características morfológicas cualitativas al momento de madurez fisiológica y cosecha de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019.....	20
Cuadro 5	Características morfológicas cualitativas al momento de madurez fisiológica y cosecha de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019.....	21
Cuadro 5	Características morfológicas cualitativas al momento de madurez fisiológica y cosecha de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019 (continuación).....	22
Cuadro 5	Características morfológicas cualitativas al momento de madurez fisiológica y cosecha de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019 (continuación).....	23
Cuadro 6	Características fenológicas de ocho genotipos de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019	24
Cuadro 7	Estadísticas de diversidad en los 33 marcadores moleculares utilizados.	27
Cuadro 8	Estadísticas de diversidad en los ocho cultivares	28
Cuadro 9	Análisis molecular de varianza (AMOVA) para los cultivares	29
Cuadro 10	Índice de fijación de los ocho cultivares evaluados.....	31
Cuadro 11	Resultados de diversidad genética por subpoblación.....	34
Cuadro 12	Características físicas de los granos pertenecientes a las ocho variedades de frijol arbustivo y voluble al occidente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019.....	38
Cuadro 13	Valores de color basados en la escala L, a, b, realizado a las ocho variedades de frijol arbustivo y voluble adaptados al Occidente de Guatemala, ICTA, 2019	38
Cuadro 14	Contenido nutricional de ocho variedades de frijol arbustivo y voluble. ICTA, Guatemala, 2019.....	39
Cuadro 15	Resultados de evaluaciones sensoriales para las ocho variedades evaluadas	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Distribución de la producción de frijol negro a nivel nacional. (2015)	3
Figura 2 Análisis de conglomerados de ocho genotipos de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2019.....	25
Figura 3 Resultados de estructura de población K=3	32
Figura 4 ACP para la población.....	34
Figura 5 Análisis de conglomerados de la población	34
Figura 6 Huella genética de los ocho cultivares evaluados	36

1. INTRODUCCIÓN

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es un cultivo principalmente practicado por agricultores de pequeña escala en regiones de América Latina, África y Asia, donde predominan países en desarrollo, quienes producen aproximadamente el 77% de la producción mundial. Sin embargo, en países desarrollados en América del Norte, Europa y la región del Pacífico, el frijol es un cultivo de alta tecnología y un rubro de exportación, representando aproximadamente el 23% de la producción mundial (Pachico, 1989).

La producción, rendimiento y consumo de frijol en los países y regiones de mayor producción varía significativamente. De acuerdo a los datos de Singh (1999) el consumo de frijol es mayor en familias de bajos ingresos que viven en zonas rurales y urbanas. En Latinoamérica, el mayor consumo per cápita se registra en Brasil y México con más de trece kilogramos por año. (FAO, 2005)

Guatemala es el país que presenta la mayor desnutrición crónica dentro de todos los países en América Latina (Marini & Gragnolati, 2003), especialmente niños del área rural menores a cinco años de edad del altiplano del país (Osorno & McClean, 2013). En Guatemala, el consumo de frijol per cápita es de 9.4 kg/año (Osorno & McClean, 2013) y esto representa 11% del consumo de proteína per cápita (Akibode & Maredia, 2012), haciendo al frijol la fuente de proteína más importante en el país. La producción de frijol representa el 31% del área de producción de granos básicos en Guatemala (MAGA, 2016). Esto hace evidente la falta de una alimentación y nutrición adecuada de la población. Los esfuerzos prioritarios de los guatemaltecos deben ir encaminados a lograr un mejor nivel tecnológico, que aplicado a la producción de granos básicos, permita obtener mayores rendimientos con la utilización de recursos disponibles.

La generación de variedades de frijol, adaptadas a condiciones ambientales locales por medio de mejoramiento genético es una estrategia útil para enfrentar los nuevos retos y garantizar la seguridad alimentaria en zonas marginales al mejorar los rendimientos. Por esta razón el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), enfoca sus esfuerzos a generar, validar y promover variedades mejoradas de cultivos prioritarios para la seguridad alimentaria tales como el maíz, frijol, arroz, papa, entre otros. En el Centro Regional de Investigación del Altiplano Occidental, se evalúan genotipos mejorados de frijol, y luego sean registradas en el MAGA.

La información de variedades de frijol del ICTA y frijol nativo es insuficiente, ya que se basan en caracteres de interés agronómico comercial y en pocos caracteres cualitativos, como lo es color de algunas estructuras sobresalientes, razón por la cual se realizó una caracterización detallada de las variedades de frijol ICTA Labor Ovalle, ICTA Utatlán, ICTA Hunapú ^{voluble}, ICTA Quiché. De igual manera de las variedades de frijol arbustivo ICTA Hunapú, ICTA Texel, ICTA Altense e ICTA Superchiva. Es de suma importancia el contar

con una descripción detallada de las variedades, ya que además de ser un auxiliar valioso para identificar la pureza genética y física de las semillas de los cultivos durante las sucesivas multiplicaciones, esta también es necesaria en el establecimiento de parcelas de verificación genética, donde se compara su comportamiento con las especificaciones que aparecen en la respectiva descripción varietal. Por otra parte a partir del año 2010, se dio a conocer el Reglamento Técnico Centroamericano –RTCA- en el cual se solicita una descripción varietal detallada para el registro de nuevas variedades comerciales.

Para la caracterización agromorfológica, se utilizaron los descriptores del Centro Internacional de Agricultura Tropical (1993) y del Reglamento Técnico Centroamericano, en la Guía Ilustrada para la Descripción de las Características de Variedades del Frijol Común.

Junto a 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 de las variedades que la caracterización fenotípica, al no ser influenciada por el ambiente. El presente proyecto evaluó la diversidad genética y la estructura de la población de ocho cultivares adaptados al altiplano de Guatemala, así como el desarrollo de la huella genética de cada cultivar, esto facilitará la identificación de su pureza a través del tiempo así como la trazabilidad del mismo. Además, estos estudios serán una guía para la toma de decisiones en los planes de cruzamiento del programa de mejoramiento de frijol del ICTA.

Además se llevaron a cabo pruebas sensoriales y la caracterización culinaria de las variedades, para conocer sus cualidades al momento de la cocción. Entre estas, el tiempo de cocción, la absorción de agua y el porcentaje de cáscara. Características que también son importantes para la aceptación de la nueva variedad por parte de los consumidores.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Importancia del cultivo de frijol

La dieta de los guatemaltecos, especialmente en el área rural se basa en el consumo de maíz y frijol (este último ocupa el 31 % del área total cultivada con granos básicos) con

una ingesta diaria promedio para adultos de 423 g/día de maíz y 58 g/día de frijol. El consumo aparente anual per cápita para Guatemala se calcula en 15.2 Kg. El consumo de frijol, al igual que el de maíz, se ve afectado por las dificultades de adquisición, principalmente por las limitaciones económicas familiares, esto se refleja en los altos índices de desnutrición crónica; pues, aunque a nivel nacional se logre una alta producción, no se tiene capacidad adquisitiva en la mayoría de la población (Informe situación actual del frijol 2016, MAGA).

El cultivo de frijol en Guatemala, es para autoconsumo, constituyendo la principal fuente de proteínas en el área rural. Esta condición es la que determina las características actuales del sector, en donde de acuerdo a la Encuesta Agropecuaria del MAGA (2016), una alta proporción de la producción (53.42%), es realizada en unidades productivas menores de siete hectáreas (86.59% de las unidades productivas), que equivale al 66% del área cultivada, lo que significa una baja productividad por unidad de área.

Según el Informe Agro En Cifras (Minieco) dentro de los porcentajes de producción de los departamentos y municipios de Guatemala, el altiplano central y occidental aporta más del 13% de la producción nacional de frijol negro. Los departamentos de Quiché, Huehuetenango y Chimaltenango los más importantes (Figura 1).

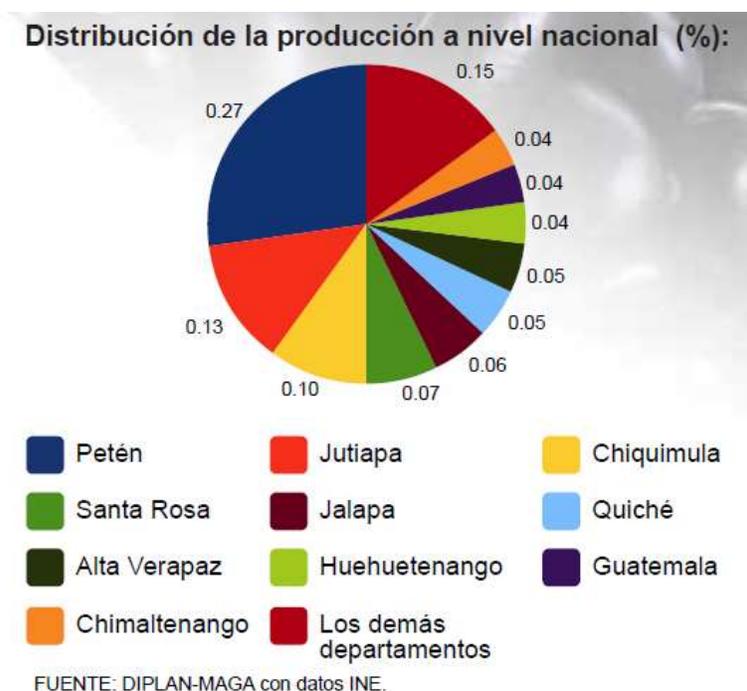


Figura 1 Distribución de la producción de frijol negro a nivel nacional. (2015)

2.2 Morfología del frijol común

A nivel mundial, el frijol es la leguminosa más importante para el consumo humano, 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 un extenso rango de 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: 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).

2.3 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 los frijoles son la fuente principal de proteína. En Guatemala, el frijol común es el segundo cultivo más importante (Aldana, 2010), y los frijoles negros 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 los frijoles arbustivos son cultivados (Aldana, 2010).

2.3.1. Frijol voluble

El frijol voluble con el hábito de crecimiento tipo IV puede llegar a medir tres metros en altura. Se encuentran en las tierras bajas de Latinoamérica (raza Mesoamérica), el altiplano húmedo de México y Guatemala (raza Jalisco), y en el altiplano Andino (raza Perú) (Singh et al., 1991). Los frijoles trepadores que crecen en el altiplano occidental de Guatemala se caracterizan por tener una madurez fisiológica tardía comparada con los trepadores de México (180 días) y por tener semillas con forma esférica (Beebe et al., 2000). Estos frijoles volubles, conocidos como “bolonillos”, pueden crecer a 3200 metros sobre el nivel del mar

(msnm) y presentan en su mayoría semillas de color negro, pero genotipos con semillas rojas y blancas también se encuentran. En esta región geográfica el frijol común también está en asocio con maíz y otros cultivos (Lepiz-Ildefonso et al., 2010).

2.3.2. El sistema milpa

El agro-ecosistema milpa fue desarrollado en Mesoamérica y consiste de un arreglo de maíz, frijol trepador y calabazas (Ebel et al., 2017). El maíz se utiliza como un tutor para el crecimiento del frijol, el frijol fija nitrógeno en el suelo y la calabaza cubre el suelo y secreta sustancias que son venenosas para los insectos. Los tres cultivos proveen además componentes para una dieta complementaria. El maíz es rico en carbohidratos, los frijoles proveen proteínas y las calabazas proveen lípidos. Se ha sugerido que la nutrición complementaria fue el conductor para desarrollar el sistema y para domesticar las especies hace alrededor de 5500-4300 años (Zizumbo-Villareal et al., 2012). El sistema milpa aún se utiliza hoy en día por agricultores en Mesoamérica (Ebel et al., 2017). Las familias que viven en el altiplano occidental de Guatemala usan el sistema para cultivar maíz y frijol trepador y estos cultivos representan la fuente de su dieta básica.

2.4. Descripción de Fenotipo

La descripción varietal se hace en el fenotipo, es decir se miden las características agromorfológicas de las plantas de una variedad y dependen del genotipo, y su expresión que recibe de los efectos ambientales. 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, las que no se pueden eliminar. Dentro del descriptor se tienen dos tipos de caracteres: fijos y descriptivos. (Muñoz, et. Al., 1993)

2.5. 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. 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 dificultan 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. (Muñoz, et al., 1993)

2.6 La diversidad del frijol común

El frijol se separó de la soya (*Glycine max* L. Merr.) y del cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.), hace 18 millones de años y 8 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, y este evento de duplicación tomó lugar hace ~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 cultivares relacionados de frijol. Las razas Mesoamericanas se encuentran en Mesoamérica e incluyen la raza Mesoamérica encontrada desde México a través de Centroamérica y en Colombia, Venezuela y Brasil. La raza Durango está localizada en el altiplano semiárido de México y el Sudoeste de Estados Unidos. La raza Jalisco se encuentra en el altiplano de México y Guatemala. Las razas Andinas son: Nueva Granada localizada en los Andes Colombianos, Ecuador y Perú; y en Argentina, Belice, Bolivia, Brasil, Chile, Panamá y El Caribe. La raza Chile que se encuentra en los Andes secos del Sur y la raza 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 con el uso de 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, utilizaron los marcadores RAPD y propusieron una cuarta raza en el acervo genético Mesoamericano, fue nombrada raza Guatemala. Las accesiones de esta raza fueron del altiplano de Chiapas (México) y Guatemala. Se cree que la falta de migración llevó a la creación de esta raza con características distintas.

Diaz 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 sub-razas Mesoamericanas. Finalmente un estudio de diversidad basado en genotipado por secuenciación confirmó la existencia de la raza Guatemala (Tobar-Piñón et al., 2017).

2.7 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 (Schmutz et al., 2014; Vlasova et al., 2016). Los genes codificadores de proteínas que han sido reportados en ambas anotaciones de genomas son 27,197 para el genotipo G19833 y 30,491 para el genotipo BAT93.

2.7.1 Marcadores moleculares para el análisis de diversidad

Los marcadores moleculares pueden identificar diferencias genóticas 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).

2.7.2 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.

2.8 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)

2.8.1 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 la 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 disminuyó 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, se recomienda que el tiempo de cocción sea menor a 45 minutos para variedades arbustivas (Linares *et al.*, 1981).

3. OBJETIVOS

3.1 General

Contribuir con la producción de frijol en el Altiplano Occidental de Guatemala por medio de las caracterizaciones de variedades y líneas avanzadas de frijol voluble y arbustivo.

3.2 Específicos

Caracterizar agromorfológicamente ocho genotipos de frijol común arbustivo y voluble adaptados al occidente de Guatemala.

Identificar la diversidad genética de ocho cultivares de frijol arbustivo y voluble adaptados al occidente de Guatemala.

Definir una huella genética para cada uno de los ocho genotipos de frijol arbustivo y voluble adaptados al occidente de Guatemala.

Caracterizar por su calidad industrial y culinaria ochos genotipos de frijol común arbustivo y voluble generados por ICTA, adaptados al occidente de Guatemala.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Caracterización Agromorfológica

4.1.1 Localidad y época

La caracterización se realizó en la Estación Experimental del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), Labor Ovalle, Olintepeque, Quetzaltenango, latitud norte es 14° 52' 12'', longitud oeste 91° 30' 50"; 2,380 msnm, La caracterización se realizó entre el 13 de mayo del 2018 al 10 de Octubre del 2018.

4.1.2 Variedades

Se caracterizaron cuatro variedades de frijol voluble y cuatro variedades de frijol arbustivo (Cuadro 1) adaptados al altiplano occidental de Guatemala.

Cuadro 1 Variedades de frijol voluble y arbustivo ICTA, Guatemala, 2018-2019.

		Genotipo	Crecimiento		
		ICTA Labor Ovalle	Voluble		
		ICTA Utatlán	Voluble		
		ICTA Hunapú ^{Voluble}	Voluble		
		ICTA Quiché	Voluble		
		ICTA Superchiva	Arbustivo		
Fuente: Elaboración		ICTA Hunapú	Arbustivo	propia, 2018.	
		ICTA Altense	Arbustivo	4.1.3	Tamaño
de la		ICTA Texel	Arbustivo	unidad	
					experimental

Cada parcela de caracterización fue de 220 m². Se seleccionaron al azar 100 plantas, quienes fueron caracterizaron desde la siembra a cosecha. Los genotipos de frijol voluble fueron sembrados bajo el sistema en espaldera (Tarros de bambú, alambre galvanizado, hilo plástica). Con un distanciamiento de siembra de un metro entre surcos y 0.40 m entre posturas, se sembraron tres semillas por postura, luego se raleó a dos plantas caracterizarlas. Para las parcelas de frijol arbustivo, el distanciamiento de siembra fue de 0.50 m entre surcos y 0.30 m entre posturas, tres semillas por postura.

4.1.4 Variables de respuesta

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

4.1.5 Análisis de la información

Los resultados obtenidos fueron analizados con estadística descriptiva y multivariada.

4.1.6 Manejo de la parcela

Preparación del terreno

Se dio un paso con arado de discos a 0.15 m de profundidad, esto para facilitar la germinación y emergencia de la semilla. Se dieron dos pasos con rastra de discos. Esto con la finalidad de desmenuzar las partes o porciones de tierra que han sido removidas por el arado y así hubiera un buen desarrollo radicular.

Siembra

La siembra de las variedades de frijol voluble fue el 13 de mayo del 2018, tres semillas por postura de frijol, el distanciamiento de siembra fue de siembra de 0.40 m entre posturas y 1 metro entre surcos y para las variedades de frijol arbustivo la fecha de siembra fue el 18 de junio del 2018, tres semillas por postura, el distanciamiento fue de 0.50 m entre surco y 0.30 m entre postura, la siembra se llevó a cabo a mediados de junio y se realizó de forma manual.

Control de malezas

A los 20 dds se aplicó Fomefasen a razón de 1,00 litro/ha.

Etapas fenológicas para toma de datos.

Se realizó la toma de las variables en las siguientes etapas: 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 este entre el 16% y 18% se tomó datos de vainas y semillas.

Criterio para los distintos colores.

Se utilizaron los descriptores que son considerados en la metodología para obtener semillas de calidad; arroz, frijol, maíz, sorgo del Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1993. Cali, (3) y se utilizó la tabla Munsell de colores.

Fertilización

La fertilización se realizó a los 12 dds, se aplicó 15-15-15 a razón de 151.8 kg/ha. Se realizaron muestreos constantes para el monitoreo de plagas y enfermedades con una regularidad de dos veces a la semana. Se hicieron aplicaciones de insecticida (Thiacloprid, Beta-Ciflutrina) a razón de 0.5 l/ha y fungicida (Azoxystrobin) a razón de 250 cm³/ha, de forma preventiva.

4.2 Caracterización molecular de las variedades

4.2.1 Localidad y época

La caracterización se realizó en el laboratorio y los invernaderos de Biotecnología de ICTA Bárcena, de Marzo a Agosto de 2019.

4.2.2 Material vegetal

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

4.2.3 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 Bioteccon Diagnostics detallado en la Tabla A.1.

Se cuantificó el ADN 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.

4.2.4 Amplificación mediante PCR

En todas las muestras se amplificaron 33 secuencias microsatélites representativas de todo el genoma del frijol (Tabla A.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 $25 \mu\text{L}$ finales que contuvieron 100 ng de ADN genómico, 1X buffer PCR, 2.5 mM de MgCl_2 , 400 μM de cada dNTP, 1 μM de cada partidor (forward y reverse) y 1 unidad de *Taq* polimerasa.

4.2.5 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 ($3 \mu\text{L}$). 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.

4.2.6 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, se utilizó 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 y el índice de Shannon, 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 los programas GenAlex (Peakall & Smouse, 2006, 2012) e InfoGen (Balzarini & Di Rienzo, 2004).

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

4.3 Caracterización de la calidad industrial y culinaria

4.3.1 Localidad y Época

El proyecto se ejecutó en el año 2018 y 2019 en la Planta Agroindustrial del ICTA, en el Sector “B”, La Alameda, Chimaltenango, Guatemala.

4.3.2 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.

4.3.3 Manejo del experimento

Se realizó siguiendo 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 fueron 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.

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.

Caracterización química

Se realizó por los métodos oficiales de Association of Official Analytical Chemist (AOAC).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Caracterización agromorfológica

Dentro de las características morfológicas cuantitativas para las ocho variedades de las variedades de frijol voluble y arbustivo caracterizado, se muestran el estado de plántula (Cuadro 2). En tal sentido, dentro de los volubles la variedad más alta fue ICTA Hunapú con 277.02 cm, es también la variedad con mayor largo de vainas (15.89). La variedad que obtuvo un mayor número de vainas por planta fue ICTA Labor Ovalle (34 vainas) y la variedad con mayor peso de grano fue ICTA Quiché (39.7 gramos). Para las variedades de frijol arbustivo, la variedad con mayor longitud de tallo fue ICTA Texel con 95.6 cm, el mayor número de vainas lo obtuvo la variedad ICTA Altense y el número de semillas por vaina estuvo en un rango de 5 a 6 granos.

Cuadro 2 Media de características morfológicas cuantitativas de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, 2018-2019

Características Morfológicas Cuantitativas	ICTA Uatatlán	ICTA Labor Ovalle	ICTA Quiché	ICTA Hunapú Vol	ICTA Altense Arb	ICTA Hunapú Arb	ICTA Superchiva Arb	ICTA Texel Arb
Longitud del Hipocotilo (LH) (cm)	11.01	10.22	10.93	6.08	6.12	6.11	6.36	6.14
Longitud del Epicotilo (LE) (cm)	1.5	1.15	1.08	1.13	0.91	0.81	0.82	0.77
Longitud de la Hoja Primaria (LHP) (cm)	2.38	2.8	2.47	2.94	2.73	2.64	2.48	2.74
Anchura de la Hoja Primaria (AHP) (cm)	2.64	2.51	2.39	2.93	2.64	2.43	2.26	2.41
Longitud del Tallo Principal (LTP) (cm)	217.97	262.53	250.8	277.02	84.5	59	85.7	95.6
Numero de Nudos (NN)	15	24	21	22	13	12	13	12
Longitud de la Hoja (LH)	9.1	9.44	9.94	10.26	9.24	6.25	7.38	8.6
Anchura de la Hoja (AH)	6.78	7.33	7.99	8.37	7.39	5.11	5.7	7.97
Largo de Vainas (LV) (cm)	12.57	11.43	14.44	15.89	12.4	11.17	8.83	10.93
Ancho de Vainas (AV) (cm)	0.98	1.08	1.19	1.16	1.05	1.13	1	1.06
Longitud del Ápice de la Vaina (LAV) (cm)	1.03	0.77	0.58	0.75	1.07	0.96	0.68	0.78
Numero de Vainas por Planta (NVP)	31	34	24	29	29	15	24	16
Numero de Semillas por Vaina (NSV)	7	7	8	8.1	6	5	5	6
Peso de 100 granos de semilla (P100S)	25.6	28.8	39.7	29.5	25.2	24.7	24.5	25.4

Fuente: Elaboración propia, 2018-2019.

Con relación a las características en el estado de planta (Cuadro 3), para el color del cotiledón las variedades arbustivas presentan una coloración café rojiza con pigmentación morada. Las variedades de frijol voluble, los cotiledones presentan una coloración verde con pigmento amarillo para ICTA Uatatlán y morada para ICTA Labor Ovalle, ICTA Quiché e ICTA

Hunapú voluble presentan una coloración café rojiza y café rojiza con pigmento morado respectivamente.

Para el color predominante del hipocotilo la variedad ICTA Uatatlán presenta el color verde con pigmento café (Cuadro 3), las variedades ICTA Labor Ovalle e ICTA Quiché presentan una coloración café rojizo, las variedades arbustivas café rojizo con pigmento verde (ICTA Superchiva e ICTA Altense), café rojizo (ICTA Hunapú arb) y café rojizo con pigmento morado (ICTA Texel) la nervadura de las hojas principales fue para ICTA Uatatlán de color verde y para el resto de variedades café rojizo.

Cuadro 3 Características morfológicas cualitativas en estado de plántula de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019

Variable	Color	Código Tabla Munsell	ICTA Uatatlán	ICTA Labor Ovalle	ICTA Quiché	ICTA Hunapú Vol	ICTA Altense	ICTA Hunapú	ICTA Superchiva	ICTA Texel
Color predominante del cotiledón	café rojizo	5R 3/4	0.00%	0.00%	100.00%	23.00%		0.00%	0.00%	0.00%
	Café Rojizo Pig morado	5R 3/4-5RP-3/4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	Café Rojizo Pig Verde	5R 3/4-2.5G 5/8	0.00%	0.00%	0.00%	77.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	Morado	5RP 3/4	0.00%	90.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	morado		0.00%	1.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	morado pig verde	5RP 3/4-2.5G 5/8	0.00%	9.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	Verde	2.5G 5/8	10.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	verde pig amarillo	2.5G 5/8-2.5Y 8/2	90.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Color predominante del hipocotilo	café rojizo	5R 3/4	0.00%	0.00%	100.00%	100.00%	0.00%	1.00%	0.00%	0.00%
	café rojizo pig Verde.	5R 3/4-2.5G 5/8	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%	0.00%	99.00%	0.00%
	café rojizo	5R 3/4	0.00%	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	99.00%	0.00%	0.00%
	Café Rojizo Pig morado	5R 3/4-5RP 3/4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.00%	100.00%
	verde con pigmento café	2.5G 5/8-5R 3/4	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Color predominante de las nervaduras de las hojas principales	café rojizo	5R 3/4	0.00 %	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	99.00%	99.00%	100.00%
	Morado	5RP 3/4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.00%	1.00%	0.00%
	Verde	2.5G 5/8	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%

Fuente: Elaboración propia, 2018-2019.

Con relación a la coloración de la flor (cuadro 4), todas las variedades presentan un color lila. En el limbo del estandarte, el cuello de ICTA Uatatlán presenta una coloración verde con pigmento rosado y el resto de variedades presenta una coloración verde con pigmento

morado. El color del tallo principal para la variedad ICTA Utatlán es verde, para las variedades ICTA Hunapú Vol, ICTA Quiché la coloración es verde con pigmento café rojizo, para las variedades arbustivas la coloración es verde con pigmento morado. La pubescencia es intermedia para las variedades volubles y Glabro para las variedades arbustivas.

Cuadro 4 Características morfológicas cualitativas al momento de floración de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019

Variable	Color	Código o Tabla Munsell	ICTA Utatlán	ICTA Labor Ovalle	ICTA Quiché	ICTA Hunapú Vol	ICTA Altense	ICTA Hunapú	ICTA Superchiva	ICTA Texel
Al momento de la floración										
Color predominante de las alas	Lila	5RP 6/4	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Color predominante del limbo del estandarte	Lila	5RP 4/2	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Patrón de distribución predominante del color del limbo del estandarte	Uniforme		100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Venaciones	Presente		100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Color predominante del cuello del estandarte	verde pigmentado rosado	7.5G Y 6/4-5 RP 8/4	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	verde pigmentado amarillo	7.5G Y 6/4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.00%	0.00%	0.00%
	verde pigmentado morado	-2.5Y 8/2 7.5G Y 6/8	0.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	99.00%	100.00%	100.00%
Patrón de distribución del color del cuello del estandarte	Uniforme	5 RP 3/2	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	No uniforme		0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%

Cuadro 5 (Continuación) Características morfológicas cualitativas al momento de floración de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019

Variable	Color	Código o Tabla Munsell	ICTA Utatlán	ICTA Labor Ovalle	ICTA Quiché	ICTA Humapú Vol	ICTA Altense	ICTA Humapú	ICTA Superchiva	ICTA Texel
Color predominante del cáliz	morado	5RP-3/4	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%
	verde	7.5GY 6/4	98.00%	100.00%	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	99.00%	0.00%
	verde pig Rosado	7.5GY 6/4- 5RP 8/4	2.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	verde pig morado	7.5GY 6/4- 5RP- 3/4	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%	100.00%	100.00%	1.00%	0.00%
Hábito predominante de crecimiento	arb inde guía corta		0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	18.00%	0.00%	0.00%	40.00%
	arb indet guía corta		0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	97.00%	0.00%
	arb indet guía+-larga		0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	2.00%	0.00%	1.00%	60.00%
	arbustivo determinado		0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	79.00%	100.00%	2.00%	0.00%
	arbustivo indeterminado		0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	trepador indeterminado		100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Color predominante del tallo principal	verde	7.5GY 6/4	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.00%	0.00%	0.00%
	verde pig café rojizo	7.5GY 6/4-5R 3/4	0.00%	0.00%	100.00%	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	verde pig morado	7.5GY 6/4- 5RP- 3/4	0.00%	100.00%	0.00%	0.00%	100.00%	99.00%	100.00%	100.00%

Fuente: Elaboración propia, 2018-2019.

Cuadro 6 (Continuación) Características morfológicas cualitativas al momento de floración de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019

Variable	Color	Código Tabla Munsell	ICTA Uatatlán	ICTA Labor Ovalle	ICTA Quiché	ICTA Hunapú Vol	ICTA Altense	ICTA Hunapú	ICTA Superchiva	ICTA Texel
Pubescencia del tallo	glabro		0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	91.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	Intermedio		93.00%	100.00%	100.00%	100.00%	9.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	Pubescente		7.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Tipo predominante de ramificación	Abierto		0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
Color predominante de la hoja	verde	7.5 GY 6/4	100.00%	0.00%	100.00%	100.00%	1.00%	1.00%	0.00%	100.00%
	verde oscuro	7.5 GY 4/6	0.00%	100.00%	0.00%	0.00%	99.00%	99.00%	100.00%	100.00%

Elaboración propia, 2018-2019.

En el cuadro 5 se observa que para el color de la vaina al momento de la madurez fisiológica ICTA Uatatlán e ICTA Altense presentan una coloración amarilla con pigmento morado, el resto presentan una coloración café rojizo con pigmento morado. En cuanto a la distribución de las vainas, las variedades ICTA Hunapú^{Arb} e ICTA Texel presentan una distribución baja, el resto de variedades tienen una distribución de vainas uniforme. En cuanto a la forma de la semilla las variedades ICTA Uatatlán, ICTA Quiché, ICTA Hunapú^{Vol}, ICTA Hunapú^{Arb} e ICTA Superchiva la semilla es elíptica, ICTA Labor Ovalle presenta la semilla ovoide, ICTA Texel e ICTA Altense presenta la semilla de forma alargada ovoidea.

Cuadro 7 Características morfológicas cualitativas al momento de madurez fisiológica y cosecha de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019

Variable	Color	ICTA Utatlán	ICTA Labor Ovalle	ICTA Quiché	ICTA Hunapú Vol	ICTA Altense	ICTA Hunapú	ICTA Superchiva	ICTA Texel
Color predominante de las vainas	amarillo pig	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	99.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	morado								
	café rojizo pig morado	0.00%	100.00%	100.00%	100.00%	0.00%	98.00%	100.00%	100.00%
Patrón predominante del color de la vainas	morado	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.00%	2.00%	0.00%	0.00%
	no uniforme	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Forma predominante del corte transversal	uniforme	0.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	circular	0.00%	65.00%	2.00%	7.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	elíptico	2.00%	35.00%	90.00%	34.00%	64.00%	9.00%	20.00%	9.00%
Distribución predominante de las vainas	piriforme	98.00%	0.00%	8.00%	59.00%	36.00%	91.00%	80.00%	91.00%
	altas	0.00%	0.00%	0.00%	4.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	bajas	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%	0.00%	100.00%
	distribuidas uniformemente	90.00%	100.00%	100.00%	90.00%	100.00%	0.00%	100.00%	0.00%
	en la parte media	10.00%	0.00%	0.00%	6.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%

Elaboración propia, 2018-2019.

Cuadro 8 (continuación). Características morfológicas cualitativas al momento de madurez fisiológica y cosecha de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019

Variable	Color	ICTA Labor Ovalle	ICTA Quiché	ICTA Hunapú Vol	ICTA Altense	ICTA Hunapú	ICTA Superchiva	ICTA Texel
Color predominante de las vainas	amarillo pig morado	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	99.00%	0.00%	0.00%
	café rojizo pig morado	0.00%	100.00%	100.00%	100.00%	0.00%	98.00%	100.00%
	morado	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.00%	2.00%	0.00%
Patrón predominante del color de la vainas	no uniforme	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	uniforme	0.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
Forma predominante del corte transversal	circular	0.00%	65.00%	2.00%	7.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	elíptico	2.00%	35.00%	90.00%	34.00%	64.00%	9.00%	20.00%
	piriforme	98.00%	0.00%	8.00%	59.00%	36.00%	91.00%	80.00%
Distribución predominante de las vainas	altas	0.00%	0.00%	0.00%	4.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	bajas	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%	0.00%
	distribuidas uniformemente en la parte media	90.00%	100.00%	100.00%	90.00%	100.00%	0.00%	100.00%
Patrón predominante del color de las vainas	no uniforme	10.00%	0.00%	0.00%	6.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	uniforme	32.00%	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%	0.00%	0.00%
Perfil predominante de la vaina	curvado	68.00%	100.00%	100.00%	100.00%	0.00%	100.00%	100.00%
	medianamente curvo	21.00%	35.00%	7.00%	28.00%	1.00%	0.00%	0.00%
	recto	78.00%	38.00%	49.00%	63.00%	29.00%	48.00%	31.00%
Tipo predominante del ápice de la vaina	curvado	1.00%	27.00%	44.00%	9.00%	70.00%	52.00%	69.00%
	inverso	75.00%	95.00%	28.00%	32.00%	42.00%	19.00%	38.00%
	medianamente curvo	2.00%	0.00%	0.00%	1.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	normal	14.00%	4.00%	49.00%	64.00%	57.00%	74.00%	60.00%
	recto	8.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	rombo	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.00%	2.00%	0.00%
		1.00%	1.00%	23.00%	3.00%	0.00%	5.00%	2.00%

Cuadro 9 (continuación). Características morfológicas cualitativas al momento de madurez fisiológica y cosecha de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019

Variable	Color	ICTA	ICTA	ICTA	ICTA	ICTA	ICTA	ICTA	ICTA
		Utatlán	Labor Ovalle	Quiché	Humapú Vol	Altense	Humapú	Superc hiva	Texel
Grado predominante de curvatura del ápice de la vaina	curvado	75.00%	96.00%	27.00%	33.00%	42.00%	20.00%	38.00%	57.00%
	medianamente curvo	19.00%	4.00%	72.00%	67.00%	58.00%	80.00%	62.00%	43.00%
	recto	6.00%	0.00%	1.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Dirección predominante de la curvatura del ápice de la vaina	Normal	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
Consistencia de la vaina	carcosa	0.00%	100.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
	coriácea	90.00%	0.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
	pergamínosa	10.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
Color primario de la semilla	Negro	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
Patrón de distribución del color de la semilla	Uniforme	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
Color secundario de la semilla	Negro	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%
Aspecto predominante de la testa	brillante	98.00%	22.00%	0.00%	82.00%	0.00%	0.00%	82.00%	0.00%
	intermedio	2.00%	67.00%	100.00%	18.00%	100.00%	6.00%	18.00%	0.00%
	opaco	0.00%	11.00%	0.00%	0.00%	0.00%	94.00%	0.00%	100.00%

Fuente: Elaboración propia 2018-2019.

Cuadro 10 (continuación). Características morfológicas cualitativas al momento de madurez fisiológica y cosecha de ocho variedades de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019

Variable	Color	ICTA	ICTA	ICTA	ICTA	ICTA	ICTA	ICTA	ICTA
		Utatlán	Labor Ovalle	Quiché	Hunapú Vol	Altense	Hunapú	Superc hiva	Texel
Presencia de color alrededor del hilo	coloreado	0.00%	98.00%	100.00%	16.00%	1.00%	3.00%	100.00%	100.00%
	sin colorear	100.00%	2.00%	0.00%	84.00%	99.00%	97.00%	0.00%	0.00%
Forma predominante de la semilla	alar ovoidea	10.00%	0.00%	0.00%	0.00%	100.00%	0.00%	16.00%	94.00%
	arriño recta en hilo	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	4.00%
	elíptica	86.00%	39.00%	98.00%	80.00%	0.00%	100.00%	83.00%	0.00%
	ovoide	4.00%	61.00%	2.00%	20.00%	0.00%	0.00%	0.00%	2.00%
	peque casi cuadrado	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%	1.00%	0.00%
Ausencia o presencia de venaciones	ausente	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%	100.00%

Fuente: Elaboración propia 2018-2019.

Con relación a la fenología de las variedades caracterizadas (cuadro 6), de las ocho variedades, el genotipo arbustivo ICTA Texel, se identifica como precoz, con 110 días a cosecha, mientras que para las variedades volubles, ICTA Utatlán con 143 días a cosecha, la que se califica como precoz.

Cuadro 11 Características fenológicas de ocho genotipos de frijol voluble y arbustivo. ICTA, Guatemala, 2018-2019

Variable	ICTA Utatlán	ICTA Labor Ovalle	ICTA Quiché	ICTA Hunapú Vol	ICTA Altense	ICTA Hunapú	ICTA Superchiva	ICTA Texel
Días a emergencia	7	6	9	7	9	9	9	8
Días a antesis	74	79	104	96	64	57	58	47
Duración de la floración	34	36	42	34	36	33	33	21
Días a madurez fisiológica.	125	118	150	136	115	90	90	77
Duración de la madurez fisiológica	20	24	28	27	29	32	36	29
Días a la cosecha	143	153	182	166	140	122	125	110

Fuente: Elaboración propia 2018-2019.

En el análisis de conglomerado (Figura 2), se formaron tres grupos de interés, el primero conformado por una sola variedad ICTA Utatlán, que presenta la mayor variabilidad en cuanto a sus características fenológicas, cualitativas y cuantitativas, esta se caracteriza por su precocidad y ciclo de cultivo. El segundo grupo está formado por tres variedades: ICTA Labor Ovalle, ICTA Quiché e ICTA Hunapú voluble, tendiendo mayor similitud entre sí las dos últimas variedades. El tercer conglomerado está formado por cuatro variedades, cuya característica sobresaliente su desarrollo como variedades arbustivas, siendo ellos: ICTA Texel, ICTA Superchiva, ICTA Hunapú Arbustiva e ICTA Altense, se observa una mayor similitud de características agromorfológicas en las primeras tres variedades, la variedad ICTA Altense presenta una mayor variabilidad entre las variedades arbustivas.

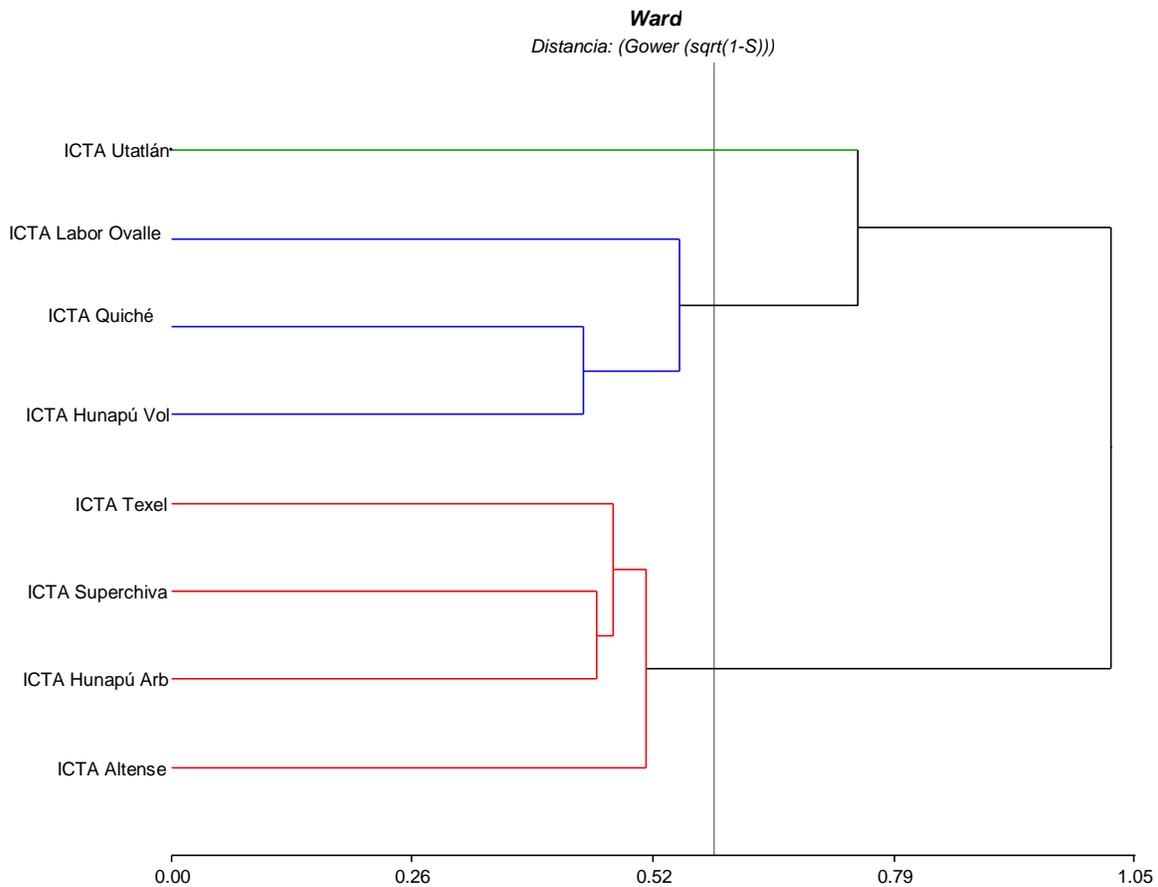


Figura 2. Análisis de conglomerados de ocho genotipos de frijol voluble y arbustivo para el altiplano. ICTA, Guatemala, 2019

La caracterización agromorfológica es una herramienta que sirve para identificar las características morfológicas y agronómicas que distinguen una variedad de otra. Para Cerón y otros (2001), Stoilova y otros (2005), Kumar y otros (2009) los caracteres que contribuyen a la distinción entre accesiones son el peso y longitud de semilla, los días a floración, madurez fisiológica y cosecha, la arquitectura de la planta, longitud y altura de la vaina, hábito de crecimiento, número de semillas por vaina y número de vainas por planta.

En cuanto a las variedades arbustivas caracterizadas, el peso de la semilla estuvo en un rango entre 24.5 a 25.4, la variedad con menor peso de 100 semillas fue ICTA Superchiva arbustivo y la variedad con mayor peso de 100 semillas fue ICTA Texel. Para las variedades volubles la variedad con menos peso de 100 semillas fue ICTA Utatlán con 25.6 gramos y la variedad con mayor peso fue ICTA Quiché con 39.7 gramos, hay mayor variabilidad en las variedades volubles en cuanto al peso de 100 semillas que en la variedades arbustivas.

Para las variables días a floración, madurez fisiológica y cosecha las variedades arbustivas estuvieron en un rango entre 47,77 y 110 hasta 64, 115 y 140 respectivamente. Para las variedades volubles el rango estuvo de días a floración, madurez fisiológica y cosecha estuvo entre 79,125 y 143 hasta 104, 150 y 182 respectivamente. Para el número de semillas por vaina el rango de las variedades arbustivas estuvo entre 5 a 6 semillas y para las variedades volubles el rango estuvo entre 7 a 8. El rango de número de vainas por planta estuvo entre 15 a 29 para las variedades arbustivas y para las variedades volubles el rango estuvo entre 29 a 34 vainas por planta.

En los cuadros 2 al 5 podemos observar las características cuantitativas, cualitativas según la etapa fenológica y las características fenológicas de cada una de las variedades y en la figura 2 se realizó un análisis de conglomerados, donde se puede observar que se formaron tres grupos, uno conformado por la variedad ICTA Utatlán, el segundo por las variedades ICTA Labor Ovalle, ICTA Quiché e ICTA Hunapú voluble y el tercero lo conforman las variedades arbustivas ICTA Hunapú arb, ICTA Altense, ICTA Superchiva e ICTA Texel. Se observa que la mayor variabilidad de características la presenta la variedad ICTA Utatlán, alejándose del resto, las otras tres variedades presentan una mayor similitud de características.

Las variedades que presentan una mayor similitud en sus características son las variedades arbustivas, siendo las más similares ICTA Superchiva e ICTA Hunapú, la variedad que presenta una mayor diferencia es ICTA Altense.

5.2 Caracterización molecular

Un total de ocho cultivares 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 (tres marcadores por cromosoma). Todas las muestras se evaluaron por triplicado.

Para el análisis de diversidad genética, 28 marcadores fueron polimórficos, lo que indica que se encontró más de un alelo para cada marcador en las muestras de frijol. El número máximo de alelos encontrados para un marcador fue de nueve (BM137) y el menor fue de uno (cinco marcadores monomórficos). En las 36 muestras se encontró un total de 105 alelos para los 33 marcadores con un número de alelos efectivos de 76.23 y un índice de información de Shannon de 0.809. La diversidad genética promedio fue de 0.454. Las estadísticas de diversidad, eficiencia y contenido de información polimórfica de cada marcador utilizado se muestran en el Cuadro 7, mientras que las estadísticas de diversidad y el promedio de alelos para cada cultivar se presentan en el Cuadro 8. Se observa que las variedades ICTA Superchiva, ICTA Hunapú arbustivo e ICTA Altense son completamente homogéneas ya que no presentan diversidad dentro de ellas mismas lo que indica un alto

grado de homocigosis, típico de las plantas autógamas. Contrariamente, los frijoles volubles ICTA Quiché, ICTA Utatlán e ICTA Labor Ovalle, presentan un porcentaje alto de polimorfismos y diversidad dentro de ellas. ICTA Texel e ICTA Hunapú voluble tienen un grado intermedio de diversidad intra-accesión. El Cuadro 9 reporta los resultados de la diversidad encontrada dentro de cada accesión. En términos generales, la diversidad entre accesiones es mayor a la diversidad dentro de cada accesión.

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 0.46 lo que indica que a pesar de que los cultivares pertenecen a una población reducida aún se encuentra una diversidad genética alta. La cantidad de alelos por cada marcador evaluado mostró que los marcadores brindaron también información moderada ya que cinco de ellos fueron monomórficos y no aportaron al análisis. Al comparar este estudio de diversidad con el estudio de diversidad realizado para las variedades de ICTA adaptadas al oriente de Guatemala donde se utilizaron los mismos marcadores moleculares (Miranda et al., 2019), es interesante observar que las variedades del occidente son más diversas y se encuentran menos emparentadas entre ellas comparadas con las variedades del oriente. También se encontraron menos marcadores monomórficos y mayor cantidad de alelos por marcador en las variedades del occidente. Esto es un indicador de que las accesiones de frijol del occidente de Guatemala son una fuente rica en alelos que pueden ser utilizados en planes de cruzamiento.

Cuadro 12 Estadísticas de diversidad en los 33 marcadores moleculares utilizados

Marcador molecular	No. Muestras	No. Alelos	No. Alelos efectivos	Índice de información de Shannon	Diversidad genética	Diversidad genética imparcial
BMd45	24	1	1.000	0.000	0.000	0.000
BM98	24	1	1.000	0.000	0.000	0.000
BMd01	24	5	2.323	1.153	0.569	0.582
BMd53	24	1	1.000	0.000	0.000	0.000
BMd17	24	4	2.504	1.054	0.601	0.613
BMd20	24	4	2.743	1.137	0.635	0.649
BM201	24	4	2.939	1.176	0.660	0.674
BMd25	24	2	1.280	0.377	0.219	0.223
PVBR213	24	2	1.600	0.562	0.375	0.383
BMd22	24	2	2.000	0.693	0.500	0.511
PVBR78	24	3	2.969	1.093	0.663	0.677
PVat001	24	8	6.261	1.936	0.840	0.858
BMd28a,b	24	4	2.909	1.213	0.656	0.670
BM209	24	3	2.667	1.040	0.625	0.638
BM151	24	3	2.462	0.974	0.594	0.606
PVBR106	24	4	2.341	0.976	0.573	0.585
PVBR182	24	4	3.388	1.293	0.705	0.720
BM160	24	4	1.704	0.815	0.413	0.422
BM137	24	9	7.529	2.095	0.867	0.886
PVatgc001	24	3	2.323	0.918	0.569	0.582
BMd26	24	3	1.291	0.456	0.226	0.230
BM172	24	2	1.986	0.690	0.497	0.507
BM161	24	4	2.341	0.976	0.573	0.585
BM53	24	3	2.969	1.093	0.663	0.677
BM189	24	2	1.600	0.562	0.375	0.383
GATS11B	24	1	1.000	0.000	0.000	0.000
BM184	24	5	2.087	1.055	0.521	0.532
BMd37	24	3	1.684	0.736	0.406	0.415
PVBR92	24	3	1.185	0.345	0.156	0.160
BMd10	24	1	1.000	0.000	0.000	0.000
BM170	24	3	2.462	0.990	0.594	0.606
BM139	24	2	1.986	0.690	0.497	0.507
BM152	24	2	1.704	0.604	0.413	0.422
Estadísticas generales	24	105	76.238	0.809	0.454	0.464

Cuadro 13 Estadísticas de diversidad en los ocho cultivares

Genotipo	Loci polimórficos (0.95)	Diversidad genética	Heter. insesgada de Nei	No. promedio de alelos	No. efectivo de alelos	Número total de alelos
ICTA Superchiva	0	0	0	1	1	33
ICTA Hunapú arbustivo	0	0	0	1	1	33
ICTA Altense	0.03	0.01	0.02	1.03	1.02	34
ICTA Texel	0.15	0.07	0.08	1.15	1.12	38
ICTA Quiché	0.21	0.11	0.13	1.27	1.23	42
ICTA Uatlán	0.45	0.22	0.27	1.55	1.48	51
ICTA Labor Ovalle	0.21	0.11	0.13	1.27	1.23	42
ICTA Hunapú voluble	0.06	0.04	0.04	1.12	1.1	37
Total	0.85	0.45	0.46	3.18	2.31	105

¹ 0.95 de confiabilidad.

Cuadro 14 Análisis molecular de varianza (AMOVA) para los cultivares

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Valor-p	Variación estándar	% Variación
Entre accesiones	237.38	7	33.91	<0.0001	8.76	55.28
Dentro de accesiones	113.33	16	7.08	<0.0001	7.08	44.72
Total	350.71	23	15.25		15.84	100

Como era de esperarse la diversidad dentro de cada cultivar fue escasa, y en algunos casos inexistente (ICTA Superchiva e ICTA Hunapú voluble), debido a su naturaleza de autopolinización. Sin embargo, se debe considerar que los individuos evaluados de ICTA Quiché, ICTA Labor Ovalle y especialmente ICTA Uatlán presentaron niveles intermedios de diversidad y marcadores polimórficos, lo que indica presencia de impurezas o contaminación en las líneas. Según Rendón-Anaya et al. (2017) el porcentaje de polinización cruzada en el frijol común puede variar de 1 al 70% dependiendo de muchos factores externos que pueden incluir el hábito de crecimiento. Esto explicaría la razón por la que se encontró en general mayor diversidad genética y mayor parentesco en los frijoles volubles. La diversidad total encontrada se explica por la diversidad entre los cultivares evaluados (55%) y la diversidad dentro de cada cultivar (45%), estos valores indican que aún no se ha llegado al grado de homocigosis que debe tener una variedad ya que se espera que la mayor diversidad sea explicada por la diferencia entre cultivares y muy poca por la diversidad dentro de cada cultivar. Una mayor polinización cruzada en los frijoles volubles puede explicar la diversidad alta encontrada dentro de estos genotipos.

En cuanto a la diferenciación entre cultivares, se observó que las variedades de tipo arbustivo tienen una gran diferenciación cromosómica en base a los marcadores evaluados. ICTA Superchiva no comparte regiones genómicas con ICTA Hunapú Arbustivo y muy pocas regiones con el resto de variedades. Caso contrario, los frijoles con hábito de crecimiento trepador, comparten más regiones genómicas entre ellos. ICTA Labor Ovalle e

ICTA Uatlán son los cultivares más cercanos entre ellos en todo el grupo evaluado. Estos resultados están basados en la matriz de valores de índices de fijación (F_{st}) que se muestran en el Cuadro 10.

Ya que según el análisis de fijación, no existen genotipos muy cercanos genéticamente, éstos se pueden utilizar como parentales para planes de cruzamiento en los programas de mejoramiento de frijol, si es que estos presentan características deseables en campo que se quieran trasladar a otros genotipos con diferentes características agrónomicamente importantes. Se recomienda que los cruzamientos sean entre individuos pertenecientes a diferentes subgrupos para asegurar una mayor diversidad y diferenciación genética entre ellos.

Cuadro 15 Índice de fijación de los ocho cultivares evaluados

	ICTA Superchiva	ICTA Hunapú arbustivo	ICTA Altense	ICTA Texel	ICTA Quiché	ICTA Uatlán	ICTA Labor Ovalle	ICTA Hunapú voluble
ICTA Superchiva	0.000	0.001 ¹	0.005	0.003	0.003	0.001	0.001	0.002
ICTA Hunapú arbustivo	1.000	0.000	0.004	0.001	0.003	0.001	0.002	0.002
ICTA Altense	0.983	0.947	0.000	0.002	0.001	0.004	0.003	0.001
ICTA Texel	0.905	0.918	0.888	0.000	0.002	0.003	0.004	0.003
ICTA Quiché	0.906	0.881	0.839	0.813	0.000	0.002	0.002	0.004
ICTA Uatlán	0.807	0.775	0.761	0.735	0.561	0.000	0.002	0.002
ICTA Labor Ovalle	0.902	0.881	0.863	0.823	0.600	0.520	0.000	0.001
ICTA Hunapú voluble	0.964	0.963	0.945	0.909	0.782	0.652	0.741	0.000

¹Valores debajo de la diagonal indican los índices de fijación (valores cercanos a 0 indican pocas diferencias genéticas entre cultivares, mientras que valores cercanos a 1 indican aislamiento genético entre cultivares). Valores arriba de la diagonal indican el valor P para cada comparación.

5.2.1 Estructura de Población

El análisis de estructura de población también se realizó utilizando la información de los 33 marcadores moleculares. Se identificaron tres subpoblaciones como el nivel jerárquico más importante ($K=3$) utilizando la estadística ΔK desarrollada por Evanno et al. (2005). Cuando la población evaluada se separa en dos grupos, los frijoles se separan por hábito de crecimiento (arbustivos y volubles). Cuando la población se separa en tres grupos, los frijoles arbustivos se separan en dos grupos, el primer subgrupo lo conforman ICTA Superchiva e ICTA Texel; y el segundo subgrupo lo conforman ICTA Hunapú arbustivo e ICTA Altense; el tercer subgrupo está conformado por todos los frijoles con hábito de crecimiento trepador. Ninguno de los subgrupos presenta mezcla de genotipos de otros subgrupos (Figura 3).

$K = 3$

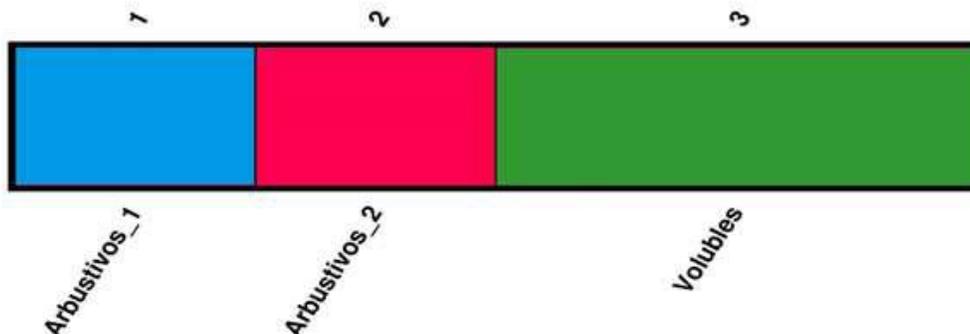


Figura 3 Resultados de estructura de población $K=3$, de ocho genotipos de frijol voluble y arbustivo para el altiplano. ICTA, Guatemala, 2019

1= ICTA Superchiva e ICTA Texel. 2= ICTA Hunapú arbustivo e ICTA Altense. 3= ICTA Quiché, ICTA Uatlán, ICTA Labor Ovalle, ICTA Hunapú voluble.

El análisis de componentes principales (ACP) fue consistente con el análisis de estructura de población, el primer componente explicó el 31.7% de variación y separó los frijoles volubles de los frijoles arbustivos. El segundo componente explicó el 18.0% de variación y separó los frijoles arbustivos en dos subgrupos, tal como se indica en el análisis de estructura (Figura 4). En la figura también se puede observar que todos los individuos evaluados de cada una de las variedades ICTA Superchiva, ICTA Hunapú arbustivo e ICTA

Hunapú voluble son genéticamente iguales entre ellos tal como lo indica el análisis de diversidad.

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), donde la primera línea de corte separa los frijoles arbustivos de los frijoles volubles. Y la segunda línea de corte separa los frijoles arbustivos en dos grupos diferentes. Esto coincide con el análisis de conglomerado de la caracterización morfológica (Figura 2).

En términos generales, la estructura de la población mostró tres subgrupos. La primera separación en dos subgrupos está dada por el hábito de crecimiento de los cultivares (volubles y arbustivos). La separación de los frijoles arbustivos en dos subgrupos puede estar dada por similitudes a nivel genómico dentro de las variedades de cada subgrupo. La diferenciación de los frijoles volubles, los cuales conforman la raza Guatemala (Beebe et al., 2000; Blair et al., 2009; Chacón et al., 2005; Tobar-Piñón et al., 2017) también se evidencia en este estudio.

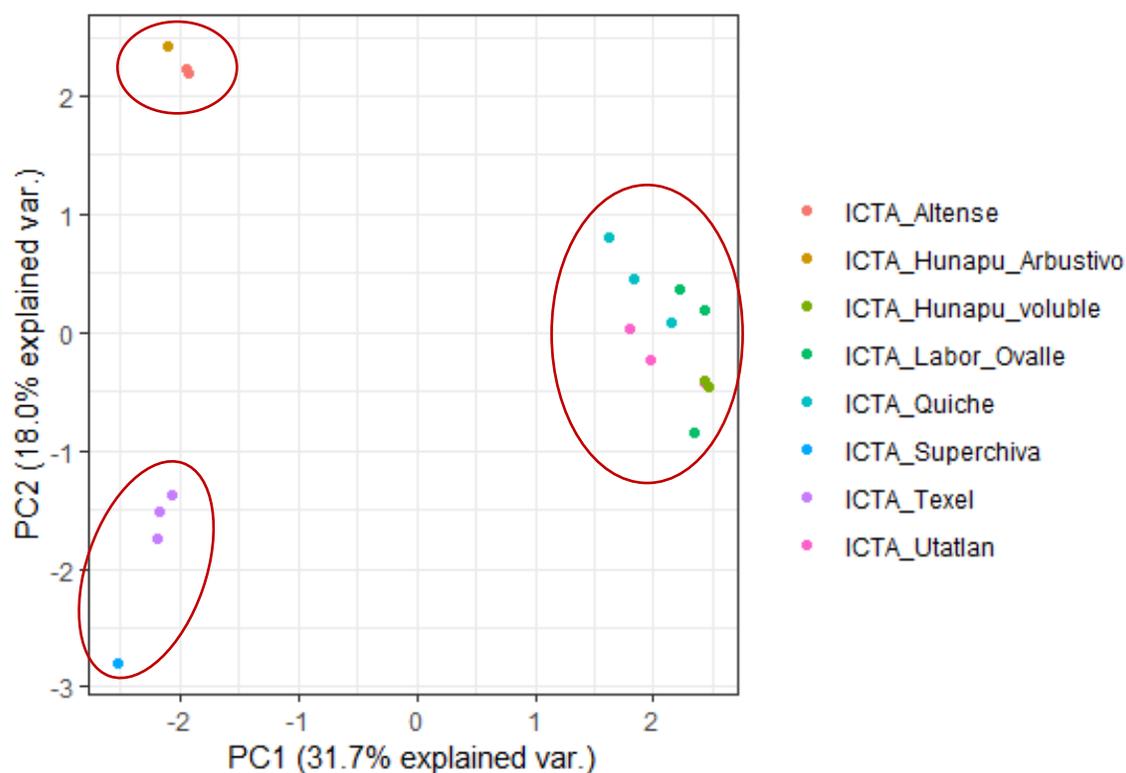


Figura 4 ACP para la población de ocho genotipos de frijol voluble y arbustivo para el altiplano. ICTA, Guatemala, 2019

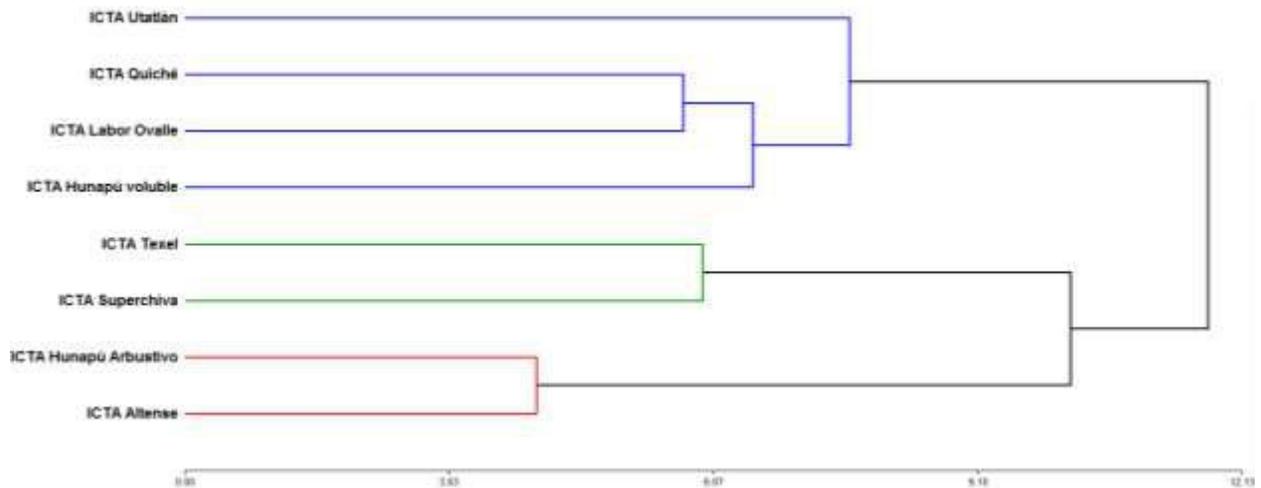


Figura 5. Análisis de conglomerados de la población de ocho genotipos de frijol voluble y arbustivo para el altiplano. ICTA, Guatemala, 2019

5.2.2 Diversidad genética por poblaciones

Una vez establecidas las tres subpoblaciones se realizó nuevamente un análisis de diversidad basado en los tres subgrupos (Cuadro 5). La mayor diversidad y contenido de polimorfismos se observa en la subpoblación 3 (frijoles volubles). Mientras que las subpoblaciones 1 y 2 (frijoles arbustivos) presentaron menor diversidad genética.

Cuadro 16 Resultados de diversidad genética por subpoblación

Población	No. Muestras	No. Alelos	No. Alelos efectivos	Indice de Shannon	Diversidad genética	Diversidad genética imparcial
1	6	1.485	1.485	0.336	0.242	0.264
2	6	1.576	1.495	0.362	0.253	0.275
3	12	2.333	1.788	0.561	0.325	0.339

5.2.3 Huellas genéticas

Basado en la información de electroforesis de los 33 marcadores se desarrolló una huella genética para cada cultivar, determinada por los alelos encontrados utilizando las distancias establecidas por los pares de bases de cada fragmento. Las huellas se muestran en la Figura 4.

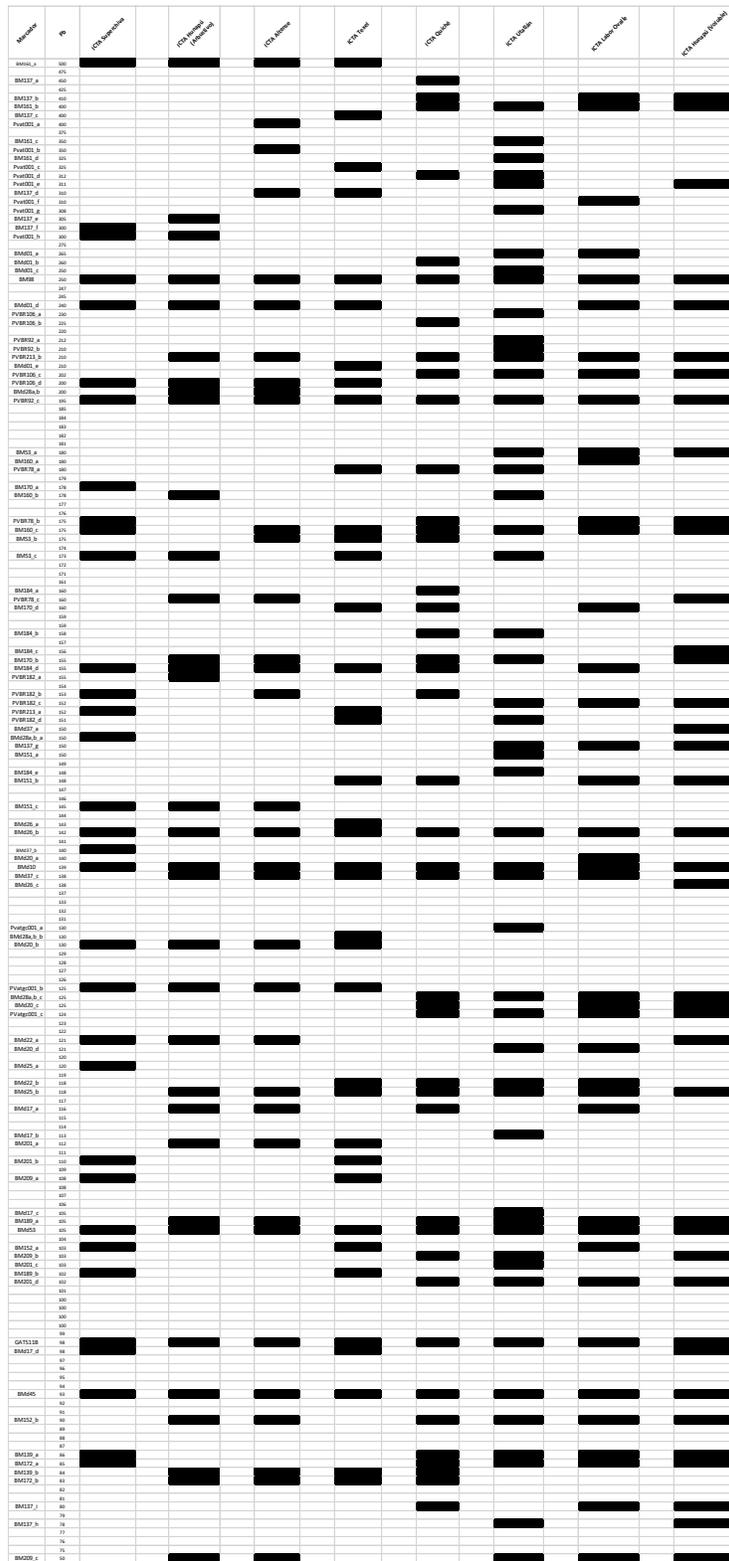


Figura 6 Huella genética de los ocho cultivares evaluados de frijol voluble y arbustivo para el altiplano. ICTA, Guatemala, 2019

5.3 Caracterización industrial y culinaria

Según la clasificación realizada por Elías *et al.*, (1986) la variedad ICTA Super Chiva es la única con grano pequeño (< 0.193 g/ 100 granos); ICTA Texel presentó tamaño medio y el resto de variedades, poseen grano grande (> 0.217 g/ 100 granos).

El porcentaje de cascara estuvo en el rango de 8.5% a 10.57%, ICTA Texel presentó porcentaje de cáscara superior a diez por ciento, esto lo clasifica como un valor alto. Porcentajes superiores a 10% son considerados altos y disminuyen la aceptación del consumidor (Elías *et al.*, 1986), el resto de variedades se clasificaron como intermedias.

La absorción de agua está correlacionada con el rendimiento en el procesamiento y además con el tiempo de cocción (Castellanos *et al.*, 1993), ICTA Texel, Super Chiva y Hunapú arbustivo presentaron valores superiores a 80% de absorción de agua, por lo que se consideran variedades de testa suave o que tuvieron un adecuado manejo post cosecha (Elías *et al.*, 1986), existen estudios donde se reportan porcentajes de absorción de agua de 94.18 (Oliveira *et al.*, 2012). Las variedades: ICTA Labor Ovalle, ICTA Utatlán e ICTA Quiche (Cuadro 12), presentan problema de absorción de agua según Guzmán (1995). La importancia de la absorción de agua radica en promover la gelatinización del almidón del grano y coagulación de las proteínas, cambios que facilitan la cocción. (Bressani, 1993).

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.

Cuadro 17 Características físicas de los granos pertenecientes a las ocho variedades de frijol arbustivo y voluble al occidente de Guatemala. ICTA, Guatemala, 2019

Variedad	Peso de 100 granos (g)	% Cáscara	% Absorción de agua	Tiempo de Cocción	Índice de Tiempo
ICTA Super Chiva	18.27	8.70	92.3	55	25
ICTA Texel	20.27	10.57	100.0	47	52
ICTA Hunapú arbustivo	21.60	8.50	84.1	50	28
ICTA Altense	24.14	9.35	76.9	52	12
ICTA Hunapú voluble	37.53	9.23	74.0	55	52
ICTA Quiche	35.00	9.87	35.4	65	32
ICTA Utatlán	27.50	8.66	22.1	80	04
ICTA Labor Ovalle	30.72	8.75	19.7	90	0.1

Fuente: elaboración propia.

Todas las variedades fueron de color negro (Cuadro 13), valores de ‘L’ fueron observados en el rango de 11.28 a 18.79. Los valores para ‘a’ variaron de -0.51 a 1.57, ‘b’ estuvo en el rango de 1.90 a 5.25. ICTA Utatlán presentó, según Elías *et al.*, (1986), el mayor valor en L, a y b, esto indica que es un grano con bastante brillo y negro intenso.

Cuadro 18 Valores de color basados en la escala L, a, b, realizado a las ocho variedades de frijol arbustivo y voluble adaptados al Occidente de Guatemala, ICTA, 2019

Variedad	Color		
	L	a	b
ICTA Quiché	16.19	-0.38	1.99
ICTA Utatlán	18.79	1.57	5.25
ICTA Hunapú arbustivo	15.71	-0.28	1.90
ICTA Texel	15.98	-0.03	2.47
ICTA Hunapú voluble	15.74	-0.15	3.01
ICTA Super chiva	18.58	-0.24	2.95
ICTA Altense arbustivo	12.20	-0.36	2.64
ICTA Labor Ovalle	11.28	-0.51	2.84

Fuente: elaboración propia.

El contenido de humedad en los granos varió de 11.14% a 13.15% (Cuadro 14), Hunapú arbustivo y voluble fueron las variedades con mayor contenido de extracto etéreo, el menor lo presentó Labor Ovalle. La proteína en frijol común se encuentra entre 14 a 33%, las variedades caracterizadas estuvieron en este rango, sin embargo, ICTA Texel, ICTA Super Chiva e ICTA Quiché, fueron las variedades con mayor contenido proteínico. Se encontraron que la fibra cruda estuvo entre 3.89% a 7.48%, valores para las variedades ICTA Texel e ICTA Altense, respectivamente.

El mínimo del contenido de hierro fue de 6.85 mg/kg y el máximo fue de 8.50 mg/kg (Cuadro 14), mientras que el promedio en las variedades caracterizadas fue de 7.58 mg/kg. El zinc presentó valores entre 3.97 mg/kg a 5.46 mg/kg.

Cuadro 19 Contenido nutricional de ocho variedades de frijol arbustivo y voluble. ICTA, Guatemala, 2019

Variedad	Agua %	M.S.T %	E.E %	F.C. %	Proteína %	Ceniza %	E.L.N %	Fe (mg/Kg)	Zn (mg/Kg)
ICTA Altense arbustivo	13.15	86.85	1.16	7.48	26.60	4.42	60.34	8.50	4.56
ICTA Quiché	11.97	88.03	0.74	5.24	29.32	4.28	60.42	6.85	5.14
ICTA Labor Ovalle	11.96	88.04	0.73	7.48	23.52	4.30	63.97	7.55	4.97
ICTA Super Chiva	11.14	88.86	1.10	6.61	29.56	4.35	58.38	8.00	4.75
ICTA Umatlán	12.38	87.62	1.32	5.07	22.22	3.90	67.48	7.65	4.81
ICTA Hunapú arbustivo	11.64	88.36	1.32	6.41	24.10	0.27	67.90	7.05	5.46
ICTA Hunapú voluble	11.85	88.15	0.93	6.41	27.27	4.50	60.89	7.65	5.23
ICTA Texel arbustivo	11.44	88.56	0.82	3.89	30.11	4.60	60.58	7.45	3.97

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

En la evaluación sensorial se encontró diferencia significativa para los frijoles arbustivos para los atributos de sabor ($p < 0.0004$), cáscara ($p < 0.01$) y aceptación ($p < 0.0026$); en las variedades volubles se encontró diferencia significativa para los atributos de sabor ($p < 0.0060$) y aceptación ($p < 0.027$) (Cuadro 15). En las variedades arbustivas los panelistas ponderaron con mayor aceptación a la variedad Hunapu en los atributos de sabor y aceptación, mientras que en el porcentaje de cáscara las variedades Hunapú y Super chiva fueron las más aceptadas. Para las variedades volubles los panelistas mostraron mayor aceptación en los atributos de sabor y aceptación general por las variedades Hunapú y Quiche.

Cuadro 20 Resultados de evaluaciones sensoriales para las ocho variedades evaluadas, ICTA, Guatemala, 2019

Variedad	Arbustivos			Volubles			
	Sabor	Cáscara	Aceptación	Variedad	Sabor	Cáscara	Aceptación
Hunapú	4.4a	3.9a	4.1a	Hunapú	4.0a	3.4	3.7a
Super Chiva	3.8b	3.6a	3.7b	Quiché	5.5 ^a	3.2	3.5a
Texel	3.6b	3.2b	3.5b	L.Ovalle	2.6b	2.4	2.6b
Altense	3.5b	3.3b	3.5b	Umatlán	2.5b	2.5	2.5b

Fuente: elaboración propia

6. CONCLUSIONES

La mayor similitud agromorfológica se entra entre los cultivares volubles entre ICTA Quiché e ICTA Hunapú Vol, de igual manera ICTA Superchiva e ICTA Hunapú arbustiva.

ICTA Uatlán, por su hábito de crecimiento, muestra la mayor diferencia de caracteres al resto de variedades.

Se encontró diversidad genética moderada entre los ocho cultivares caracterizados, sin embargo, la diversidad se califica bajo dentro de los arbustivos y aumenta al evaluar solo los volubles.

Según las similitudes genéticas los cultivares se dividen en tres subpoblaciones.

ICTA Texel fue la variedad con mejor absorción de agua y tiempo de cocción, respecto a la aceptación sensorial en arbustivos, ICTA Hunapú presentó la mayor aceptación y en volubles, ICTA Hunapú e ICTA Quiche.

7. RECOMENDACIONES

Con fines de registro varietal, se recomienda realizar las caracterizaciones cada cinco años.

Comparar los resultados de diversidad con accesiones de las diferentes razas genéticas de frijol para poder confirmar las razas a las que pertenecen los cultivares de ICTA adaptados a la región del occidente de Guatemala.

Si se considera alguno de estos cultivares dentro de planes futuros de cruzamiento se recomienda hacer cruza entre cultivares que pertenezcan a diferentes subgrupos genéticos.

En caso de tener disponible información fenotípica de interés para estas líneas, se recomienda hacer una 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).

Se recomienda aprovechar la diversidad única que tienen los frijoles del occidente de Guatemala en los planes de cruzamiento, ya que representan una fuente de riqueza de alelos.

Evaluar el tiempo de cocción de los genotipos utilizando un Mattson Cooker

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.
- Balzarini, M., & Di Rienzo, J. (2004). Info-Gen: Software para análisis estadístico de datos genéticos. *Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba. Argentina*.
- 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., Díaz, L.M., Buendía, H.F., & Duque M.C. (2009). Genetic diversity, seed size associations and population structure of a core collection of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genetics*, 119: 955-972.
- 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.
- Castellanos, R; Acosta Gallegos, J; Ochoa, R; Mejía, C.; Reséndiz, L.; Fernández, P; Pérez, H; Aguilera, D. (1993). Efecto del ambiente de producción sobre la calidad culinaria del frijol de temporal. *Agrociencia* (4) 71-84.
- Cerón, M., Ligarreto, G., Moreno, J., Martínez O., (2001). Selección de variedades cuantitativas y clasificación de 22 accesiones de frijol arbustivo. (*Phaseolus vulgaris* L) *Revista Corpoica*. 3:31-38.

- Chacón, M.I., Pickersgill, B., & Debouck, D.G. (2005). Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races. *Theor. Appl. Genetics*, 110: 432-444.
- Clavijo, P. (1980). *Resumen general de las principales características agronómicas de diferentes granos en Colombia*. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (IICA). Colombia. p. 49.
- 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.
- 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.
- 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>
- Ebel, R., Pozas Cárdenas, J.G., Soria Miranda, F., & Cruz González, J. (2017). Manejo orgánico de la milpa: rendimiento de maíz, frijol y calabaza en sistemas de monocultivo y policultivo. *Terra Latinoamericana*, 35: 149-160.
- 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.
- FAO. (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2005. World crop and livestock statistics 1948-85. La Red de Información sobre Operaciones en Poscosecha (INPhO). (En línea). Consultado el 16 de agosto del 2019. Disponible en <http://www.fao.org/ag/agl/rla128/iiiap2/capituloiii.com>
- 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.
- Guzmán, H. (1995). Manual de métodos para determinar características de calidad en frijol común (*Phaseolus vulgaris*). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias. México. p77
- IICA. (2014). La cadena de valor de maíz blanco y frijol en Centro América. San José, C.R. p. 127.

- 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.
- Kumar, V., Sharma, S., Sharma, AK., Sharma, S., Bhat, KV. (2009). Comparative analysis of diversity based on morpho-agronomic traits and microsatellite markers in common bean. *Euphytica*, 170: 249-262.
- 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
- MAGA-DIPLAN (2016). Informe situación del frijol. Guatemala, Guatemala. 18 p.
- MAGA. (2015) El Agro en Cifras. Disponible en: https://www.mineco.gob.gt/sites/default/files/Integracion%20y%20comercio%20exterior/el_agro_en_cifras_2015.pdf (Acceso el 15 de agosto del 2018)
- Marini, A., & Gragnolati, M. (2003). *Malnutrition and poverty in Guatemala*. World Bank Policy Research Working Paper No. 2967. World Bank, Washington, DC.
- 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>
- Miranda, A., Figueroa, J.C., Suchini, A.E., Tobar-Piñón, M.G., & Aguilar, E.R. (2019). *Caracterización de doce genotipos de frijol común (Phaseolus vulgaris L.) arbustivo adaptados al oriente de Guatemala* (Pcol-028-2019). Guatemala: Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA).
- 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., & McClean, P. (2013). Genetic Improvement of Middle-American Climbing Beans in Guatemala (SO1. A1). Feed the Future, Legume Innovation Lab. Michigan State University, Michigan.
- Pachico, D. (1989). En: Bean Production Problems in the Tropics. H. F. Schwartz y M. 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). GenAlEx 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.
- Reyes–Moreno, C. and Paredes–López, O. 1993. Hard–to–cook phenomenon in common beans – a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 33(3):227–286.
- 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.
- Singh, S. 1999. Integrated genetic improvement. In: Common bean improvement in the twentyfirst century. Ed. S. Singh, Khrwer Academic Publishers- Dordreacht. P.1-24 y 98-99
- 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.
- Stoilova, T., Pereira, G., Sousa de MMT, Carnide, V. (2005). Diversity in common bean landraces (*Phaseolus vulgaris* L.) from Bulgaria and Portugal. *J Cent Eur. Agric.* 6: 443-448.
- 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.
- Zizumbo-Villarreal, D., & Colunga-García, P. (2012). The archaic diet in Mesoamerica: incentive for Milpa development and species domestication. *Econ Bot*, 66: 328-43.

9. ANEXO

Tabla A.1. Protocolo para la extracción de ADN por medio del kit de Bioteccon Diagnostics.

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.		

Tabla A.2. Listado de marcadores moleculares utilizados en el análisis molecular.

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	AACTAACCTCATACGACATGAAA	AATGCTTGCACTAGGGAGTT	55	287	Gaitan-Solis et al. 2002
BMd45	1	GGTTGGGAAGCCTCATAACAG	ATCTTCGACCCACCTTGCT	47	129	Blair et al. 2003
BMd17	2	GTTAGATCCC GCCAATAGTC	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	TATGAGAGAAGCGTTGGCAGC	49	126	Yu et al. 2000
BMd26	4	CTTGCCCTTGCTTCCTTCT	TCCATTCCCAACCAAGTTTC	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	TGTCACCTCTCTCTCCAAT	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	CTCCCACTCTCACCTCACT	GCGCCAAGTGAACTAAGTAGA	50	114	Gaitan-Solis et al. 2002

BM151

8

CACAACAAGAAAGACCTCCT

TTATGTATTAGACCACATTACTTCC

50

153

Gaitan-Solis et al.
2002

Tabla A.2. Listado de marcadores moleculares utilizados en el análisis molecular (continuación).

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	AACTAACCTCATACGACATGAAA	AATGCTTGCCTAGGGAGTT	55	287	Gaitan-Solis et al. 2002
BMd45	1	GGTTGGGAAGCCTCATACAG	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	TATGAGAGAAGCGTTGGCAGC	49	126	Yu et al. 2000
BMd26	4	CTTGCCCTGTGCTTCCTTCT	TCCATTCCCAACCAAGTTTC	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	CGTGCTTGGCGAATAGCTTTG	CGCGGTTCTGATCGTACTTC	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	CTCCCACTCTCACCCCTCACT	GCGCCAAGTGAAAATAAGTAGA	50	114	Gaitan-Solis et al. 2002
BM151	8	CACAACAAGAAAGACCTCCT	TTATGTATTAGACCACATTACTTCC	50	153	Gaitan-Solis et al. 2002

Tabla A.2. Listado de marcadores moleculares utilizados en el análisis molecular (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	AATATTGGGGGCAACATTC	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	GGTCACTCCGGAGCATT	CGGGAAATGGAAGTCACAGT	47	121	Blair et al. 2003
BM184	11	AGTGCTCTATCAAGATGTGTG	ACATAATCAATGGGTCCTG	52	160	Gaitan-Solis et al. 2002

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



MINISTERIO DE
AGRICULTURA,
GANADERÍA
Y ALIMENTACIÓN



Programa de Consorcios de Investigación Agropecuaria CRIA