

Diversidad de frijoles nativos de diferentes regiones del estado de Puebla*

Native beans diversity of different regions from state of Puebla

Ana Rosa Ramírez-Pérez¹, Ramón Díaz-Ruiz^{1§}, Carmen Jacinto-Hernández², Juan Alberto Paredes-Sánchez¹ y Ramón Garza García³

¹Colegio de Postgraduados, Campus Puebla, Carretera Federal México-Puebla, km 125.5. 72760, Puebla, Puebla. México. Tel: 01 (22) 2 85 00 13. (anarosa_rmz@yahoo.com.mx), (paredes52@colpos.mx). ²Campo Experimental Valle de México, INIFAP. Carretera Los Reyes-Texcoco, km 13.5. A. P. 10, Chapingo, México. (jacinto.carmen@inifap.gob.mx). ³Ex-investigador del Campo Experimental Valle de México, INIFAP. (rgarzagarcia@yahoo.com.mx). [§]Autor para correspondencia: dramon@colpos.mx.

Resumen

El frijol común representa un cultivo básico en México con una gran variabilidad en sus características morfológicas. En estudios sobre la diversidad genética se han usado marcadores moleculares, entre los que se encuentran los RAPD. El presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar mediante caracteres morfológicos, agronómicos, de calidad y marcadores RAPD, variedades de frijoles nativos cultivadas en diferentes comunidades del estado de Puebla. La extracción de ADN se realizó en una muestra de hojas jóvenes de las variedades sembradas bajo invernadero. Se utilizaron 7 iniciadores RAPDs de la serie OPERON Technologies. Las bandas polimórficas se codificaron por presencia y ausencia. Con el programa NTSYS pc 2.2 se generó un dendrograma empleando el índice de similitud de Dice, con nivel de corte a un valor de 0.48, donde se definieron 13 grupos. Seis grupos estuvieron integrados por una variedad, 4 grupos por 2 variedades, 2 grupos por 3 variedades y un grupo formado por 7 variedades. Los grupos definidos se integraron por colores de grano distintos y coincidieron en otras características morfológicas como días a floración, tiempo de cocción y contenido de proteína.

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris* L., calidad culinaria, marcadores moleculares, variedades nativas.

Abstract

Common bean is basic crop in Mexico with great variability in its morphological characteristics. RAPD is among molecular markers, which have been used in studies about genetic diversity. The aim of this work was to characterize by morphological, agronomical, quality characters and RAPD markers the varieties harvested in different localities from state of Puebla. DNA extraction was made from sample of young leaves of varieties planted under greenhouse. 7 RAPDs starters from OPERON Technologies were used. Polymorphical bands were coded by presence and absence. With NTSYS pc 2.2 software dendrogram was created using Dice's similarity index, with cut level at value of 0.48 where 13 groups were defined. Six groups were comprised by single variety, 4 groups by 2 varieties, 2 groups by 3 varieties and one group by 7 varieties. The defined groups were comprised by different grain colors and coincided in other morphological characteristics like days to flowering, cooking time and protein content.

Key words: *Phaseolus vulgaris* L., food quality, molecular markers, native varieties.

* Recibido: julio de 2011
Aceptado: enero de 2012

Introducción

La conservación y utilización de los recursos genéticos es de importancia estratégica para la humanidad. Las regiones centro y sudamérica son consideradas como los centros de mayor diversidad biológica del mundo; de hecho varias especies de importancia agrícola, agroindustrial, medicinal y farmacológica se han originado en estas regiones. En las últimas décadas esta diversidad se ha visto severamente reducida por las exigencias del mercado y la disminución de los suelos cultivados. Ante esta situación, uno de los desafíos actuales es buscar la manera de incentivar la conservación y uso racional de los recursos genéticos (Becerra y Paredes, 2000).

En nuestro país la diversidad de frijoles es amplia y este cultivo es básico en la alimentación de los mexicanos. Puebla es uno de los estados con mayor diversidad (Cárdenas, 1989), la cual requiere ser caracterizada con el fin de aprovecharla para satisfacer las necesidades de los productores y consumidores. Recientemente, la caracterización morfológica se ha reforzado con la utilización de marcadores moleculares. La descripción de las variedades a nivel de ADN proporciona información al fitomejorador para que seleccione progenitores que contengan genes de interés. Los marcadores moleculares tienen ventajas sobre los marcadores morfológicos tales como la abundancia en una población segregante, son neutros y no son afectados por el ambiente (Nuez *et al.*, 2000).

Entre los marcadores genéticos moleculares utilizados en los estudios de caracterización se encuentran los RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) los cuales son marcadores dominantes y el polimorfismo entre los individuos resulta de los cambios en las secuencias en uno o ambos lados del genoma reconocidos por un iniciador lo cual se traduce en la presencia o ausencia de bandas (Rafalski *et al.*, 1994). Uno de los usos de los RAPDs es estimar el grado de similitud entre genotipos, con lo cual se pueden estimar relaciones genéticas (Beebe *et al.*, 1995; Skroch *et al.*, 1998; Beebe *et al.*, 2000; Emygdio *et al.*, 2003; Guachambala y Rosas, 2010); lo anterior resulta de gran utilidad para conocer la diversidad que existe aún entre genotipos con caracteres morfológicos semejantes, así como también se ha buscado asociarlo con otros atributos de interés para una posible selección asistida (Kelly y Miklas, 1998; Jacinto *et al.*, 2003) y que podría ser aprovechada en los programas de mejoramiento.

Introduction

Conservation and exploitation of genetic resources are strategically important for mankind. Central and South America regions are considered the most biologically diverse centers at worldwide level; in fact several species of agricultural, industrial, medicine and pharmacological importance come from these regions. In the last decades such diversity has been drastically reduced due market demands and decrease of harvested lands. Facing this scenario, one of the current challenges is the quest for conservation and rational exploitation of genetic resources (Becerra and Paredes, 2000).

In Mexico beans diversity is wide and this crop is basic in Mexican's diet. Puebla is one of the states with more diversity (Cárdenas, 1989), which needs to be characterized with the aim to satisfy producer and consumer's needs. Recently, morphological characterization has been reinforced with molecular markers use. Varieties description at DNA level provides helpful information for plant breeding in order to select progenitors that contain genes of interest. Molecular markers had advantages over morphological markers such as abundance in a segregating population, they are neutral and are not affected by environment (Nuez *et al.*, 2000).

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) belong to molecular genetic markers used in characterization studies; they are dominant markers and polymorphism among individuals results from changes in sequences in one or both sides of genome acknowledged by one starter which means presence or absence of bands (Rafalski *et al.*, 1994). One of RAPDs uses is to estimate degree of similarity between genotypes, therefore genetic relationships can be defined (Beebe *et al.*, 1995; Skroch *et al.*, 1998; Beebe *et al.*, 2000; Emygdio *et al.*, 2003; Guachambala and Rosas, 2010); this is very useful to know diversity that still exist among genotypes with similar morphological characters, as well as making associations with other attributes of interest for possible assisted selection (Kelly and Miklas, 1998; Jacinto-Hernández *et al.*, 2003) and that would be seized in breeding programs.

Another important parameter in bean germplasm characterization is grain quality for consumption. Fast cook, with thick broth are the preferred varieties. Also, it is necessary to consider genotypes' protein content, since although legume are good protein sources, to count with varieties that have high protein content allows to improve daily requirement

Otro parámetro importante en la caracterización del germoplasma de frijol es la calidad del grano para consumo. Se prefieren variedades de rápida cocción, con caldo espeso. Asimismo, es necesario considerar el contenido de proteína de los genotipos, pues aunque en general las leguminosas son buenas fuentes de proteína, el contar con variedades de alto contenido permite mejorar el aporte diario a los consumidores(as) de este grano básico. La importancia del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en tiempos precortesianos era tal que, de acuerdo con el Códice Mendocino, los aztecas lo incluían en los tributos exigidos a otros pueblos y nunca desapareció de la dieta nacional durante los 500 años que siguieron. De ese modo ha sido, junto con el maíz, el alimento básico de México y, además de su importante contenido de carbohidratos y minerales, se considera la principal fuente de proteínas vegetales en la dieta. Su papel es aún más significativo para las clases de menores recursos que, al no tener acceso a proteínas de origen animal, hallan en el frijol esos nutrimentos esenciales (Muñoz, 2010)

En el pasado, los programas de mejoramiento genético del frijol enfocaban sus esfuerzos a la obtención de materiales con buenas características agronómicas, como alto rendimiento por hectárea, resistencia a condiciones ambientales adversas y patógenos, de ciclo vegetativo corto y uniformidad de planta y grano (Navarro, 1983). Sin embargo, la demanda de los consumidores ha motivado el desarrollo de variedades con mejor calidad nutrimental y de cocción (Jacinto *et al.*, 2002). Las características físico-químicas del grano, como tamaño, color y uniformidad, sabor, tiempo de cocción, y contenido de proteína, se relacionan con mejor calidad culinaria y nutricional del frijol y son importantes para los consumidores en México (Castellanos *et al.*, 1997).

El objetivo del presente estudio fue caracterizar el germoplasma de frijol existente en diferentes regiones de Puebla, mediante la utilización de caracteres morfológicos, agronómicos, calidad de cocción y contenido de proteína, así como por marcadores moleculares RAPD.

Materiales y métodos

De cien variedades previamente evaluadas en campo, se seleccionaron 36 que expresaron mejor rendimiento de grano (mayor a 1 t ha⁻¹). Estas variedades se sembraron

for consumer(s) of this basic grain. Importance of bean (*Phaseolus vulgaris* L.), according to Codex Mendoza in years of Spanish conquest in Mexico, was such that Aztecs included it in tribute demanded to other towns and never vanished from national diet during the following 500 years. In this way, together with maize, it has been basic food in Mexico and, besides its important carbohydrate and mineral content, it is considered the main source of vegetable proteins in diet. Its role is even more important for people with scarce resources that, facing lack of access to animal proteins sources, they find in bean these essential nutriments (Muñoz, 2010)

In past, bean genetic breeding programs focused their efforts to obtain material with good agronomical characteristics, such as yield per hectare, resistance to adverse environment conditions and to pathogens, short vegetative cycle and plant and grain uniformity (Navarro, 1983). However, consumers demand has promoted development of varieties with better nutrimental quality and of cooking (Jacinto *et al.*, 2002). The physicochemical characteristics of grains, such as size, color and uniformity, favor, cooking time and protein content, are related to better quality and nutrimental food for bean and are important for consumers in Mexico (Castellanos *et al.*, 1997).

The aim of this study was to characterize bean germplasm from different regions of Puebla, by using morphological, agronomical characters, cooking quality and protein content, as well as RAPD markers.

Materials and methods

From 100 varieties previously assessed in field, 36 that showed best grain yield (greater than 1 t ha⁻¹) were selected. These varieties were planted under greenhouse conditions; from 27 of them vegetal tissue was obtained for RAPD markers study and 25 resulted in satisfactory development and grain for study was obtained.

Greenhouse set in field

Experimental array was made under 10 x 10 lattice design with three repetitions. Experimental unit was comprised of four 5 m length furrows separated at 0.7 m. Each test embraced 3 000 m² of surface. Fertilization was made with 40-40-00 formula in two parts, the first one was in sow throwing all phosphorus and half of nitrogen and the second one was made in the first part adding the remaining nitrogen.

bajo condiciones de invernadero; de 27 de ellas se obtuvo tejido vegetal para el estudio de marcadores RAPD y 25 se desarrollaron satisfactoriamente y se obtuvo grano para el estudio.

Vivero establecido en campo

El arreglo experimental se realizó bajo un diseño de látice 10 x10 con tres repeticiones. La unidad experimental se integró por cuatro surcos de cinco metros de largo separados a 0.70 m. Cada ensayo abarcó 3 000 m² de superficie. La fertilización se hizo con la fórmula 40-40-00 en dos partes, la primera fue en la siembra tirando todo el fósforo y la mitad del nitrógeno y la segunda se realizó en la primera labor agregando el resto de nitrógeno. Se sembraron las 100 variedades colectadas, en las cuales se eligieron las semillas más comunes en tamaño, forma y color de cada una de las colectas para evitar un efecto de tales caracteres en el desarrollo de las plantas.

Variables de estudio

Las variables que se cuantificaron fueron: número de vainas, longitud de las vainas: ancho y grosor de vainas, peso de vainas totales y peso de grano.

Vivero establecido en invernadero

De las 100 variedades evaluadas en campo se seleccionaron las que expresaron mejor los caracteres agronómicos de interés para los agricultores como son la precocidad y el rendimiento de grano y sus componentes. Así también, se consideraron los caracteres culinarios de los frijoles mayor y menor contenido de proteína, menor y mayor tiempo de cocción del grano, alta y baja cantidad de proteínas. Estos análisis fueron realizados a las colectas previamente. La descripción morfológica de las variedades se realizó en invernadero cubierto por una malla antiáfidos con el objeto de tener mayor control del experimento y un registro continuo de las variables de estudio.

Las variedades seleccionadas se sembraron en macetas con capacidad para 6 kg de suelo a una profundidad de 3 cm. En cada maceta se depositaron dos semillas con el fin de asegurar la siembra y después de la emergencia se dejó solo una plántula. Antes de la siembra, se aplicó el fungicida Carbendazim (Prozycar[®]) al suelo, para prevenir el daño por enfermedades en las plántulas. Para prevenir el daño por

100 collected varieties were planted, from which seeds most common in size, shape and color of each one of the collections were selected to avoid effect of such characters in plants development.

Study variables

Quantified variables were: number of pods, length of pod, width and thick of pods, weight of total pods and grain weight.

Greenhouse set in garden

From 100 varieties assessed in field the ones that showed best agronomical characters of interest for farmers, like earliness and grain yield and its components, were selected. Also, cooking characters of beans with lowest and highest protein content, shortest and longer cooking time of grain, higher and lowest protein content were considered. These analyses were previously made to collections. Morphological description of varieties was made in greenhouse covered by anti-aphid net with the aim to obtain better control of experiment and continuous record of study variables.

The selected varieties were planted in container with 6 kg capacity of soil at a deep of 3 cm. In each pot two seeds were put with the aim to assure sow and after emergence only one seedling was left. Before sow, fungicide Carbendazim (Prozycar[®]) was applied to soil, to prevent damage by diseases in seedlings. To prevent damage by aphid pyrethroid insecticide Zeta-cypermethrin (Arrivo[®]) was applied. The experimental design was completely random (DCA). Each variety had 10 repetitions giving a total of 330 containers representing an experimental design.

The study variables considered were the following:

Days to emergence, length of hypocotyl and epicotyl, diameter of hypocotyl, total height of plant, growing habit. It was recorded by observation according to the four growing habits listed in descriptors guide for bean (IPGRI, 1982), age to first appearing of flower button, first flower opening, age at formation of first fruit, flowers size, length, thickness and width of pods -width and thickness was taken at the central portion of fruit- number of pods, number of grains per pod and per plant, number of branches, number of buds and internodes, dry weight of buds and of grains, flowers colors, color intensity in flowers and buds, bud shape, grain color and grain shape.

pulgón se aplicó el insecticida piretroide Zeta-cipermetrina (Arrivo®). El diseño experimental fue completamente al azar (DCA). Cada variedad tuvo 10 repeticiones generando un total de 330 macetas donde cada una representa la unidad experimental.

Las variables de estudio consideradas fueron las siguientes:

Días a emergencia, longitud del hipocótilo y epicótilo, diámetro del hipocótilo, altura total de la planta, hábito de crecimiento. Se registró por observación de acuerdo a los cuatro hábitos de crecimiento presentados en la guía de descriptores para frijol, IPGRI, 2001, edad a la aparición del primer botón floral, apertura de la primera flor, edad a la formación del primer fruto, tamaño de las flores, longitud, grosor y ancho de vainas -el ancho y grosor fue tomado en la parte central del fruto- número de vainas, número de granos por vaina y por planta, número de ramas, número de nudos y entrenudos, peso seco de las vainas y de granos, color de flores, intensidad del color en flores y vainas, forma de la vaina, color del grano y forma del grano.

Caracteres culinarios

Tiempo de cocción. Se determinó colocando muestras de 25 granos, las cuales fueron previamente remojadas durante 18 h en 70 ml de agua destilada. La cocción se realizó en vasos tipo Berzelius con agua destilada hirviendo. El tiempo se registró a partir del reinicio de la ebullición, después de haber colocado los frijoles y hasta que el grano alcanzó una textura granular suave percibida a través de una prueba sensorial entre los dedos índice y pulgar. La determinación se realizó por duplicado.

Porcentaje de sólidos en el caldo de cocción. Se determinó por duplicado, colocando una alícuota de 10 ml de caldo en vasos de precipitado con capacidad para 50 ml, los cuales fueron llevados previamente a peso constante. Una vez pesado el vaso con la alícuota, se colocó en un horno a 60 °C, en donde se evaporó el líquido y se pesó el vaso con los sólidos, ya secos. El porcentaje de sólidos se estimó por diferencia de peso mediante la siguiente fórmula propuesta por Guzmán-Maldonado *et al.* (1995).

$$(\%) \text{ sólidos} = \frac{(\text{peso de vaso c/sólidos} - \text{eso de vaso vacío}) * 100}{(\text{peso de vaso c/líquido} - \text{eso de vaso vacío})}$$

Cooking characters

Cooking time. It was defined placing samples of 25 grains, which were previously soaked during 18 h in 70 ml of distilled water. Cooking was made in Berzelius glass with boiling distilled water. Time was recorded starting from boiling re-start, after placing beans and up to when grain reached soft grain texture perceived through sensory test between forefinger and thumb. This was made twice.

Percentage of solids in cooking broth. It was defined twice, placing an aliquot of 10 ml of broth in beakers with 50 ml capacity, which then were taken to constant weight. Once the glass was weighed with aliquot, it was put in oven at 60 °C, in which liquid was evaporated and glass was weighed with solids, already dried. Percentage of solids was calculated by the difference in weights by the following formula proposed by Guzmán-Maldonado *et al.* (1995).

$$(\%) \text{ solids} = \frac{(\text{weight of glass with solids} - \text{weight of empty glass}) * 100}{(\text{weight of glass with liquid} - \text{weight of empty glass})}$$

Protein content. It was determined by Kjeldahl (AOAC 1984) method, using semi-automatic equipment Kjeltec-1030. To samples of 400 mg of milled bean sulfuric acid was added and like catalyst, reactive mixture of selenium. They were put in 250 ml tubes, which were placed in the digestion module of Kjeltec device, with an aluminum block and fumes extraction system. Digestion time was one hour at 360 °C. The digested samples were diluted in water and then titration was applied in the equipment's distillation module with 0.1 N hydrochloric acid. Percentage of protein was calculated with the following formula.

$$(\%) \text{ of protein} = \frac{(1.401 \times \text{normality value} \times 6.25) \times (\text{ml of titrating} - \text{ml of target})}{\text{mg of sample}}$$

DNA Amplification

DNA extraction was performed on young leaves according to technique used by Torres *et al.* (1993). In each accession DNA was extracted from three bean plants with the aim to confirm polymorphisms. By estimating absorbance by spectrophotometry at 260 nm the DNA concentration was measured. Purity was defined verifying that optical density index 260/280 ranged between 1.8 and 2. Also, DNA integrity was assessed when testing in agar-agar gels at 1%.

Contenido de proteína. Se determinó de acuerdo al método Kjeldahl (AOAC 1984), utilizando el equipo semiautomatizado Kjeltex-1030. A las muestras de 400 mg de frijol molido se les agregó ácido sulfúrico y como catalizador, mezcla reactiva de selenio. Se colocaron en tubos de 250 ml, los cuales se acomodaron en el módulo de digestión del equipo Kjeltex, el cual consta de un block de aluminio y un sistema de extracción de vapores. El tiempo de digestión fue de una hora a 360 °C. Las muestras digeridas se diluyeron con agua y posteriormente, en el módulo de destilación del equipo, fueron tituladas con ácido clorhídrico 0.1 N. El porcentaje de proteína se calculó con la siguiente fórmula.

$$(\%) \text{ de proteína} = \frac{(1.401 \times \text{valor de normalidad} \times 6.25) \times (\text{ml de titulante} - \text{ml del blanco})}{\text{mg de muestra}}$$

Amplificación de ADN

La extracción de ADN se realizó en hojas jóvenes de acuerdo a la técnica utilizada por Torres *et al.* (1993). En cada accesión se extrajo ADN proveniente de tres plantas de frijol con la finalidad de confirmar los polimorfismos. Se midió la concentración del ADN extraído al estimar la absorbancia por espectrofotometría a 260 nm. La pureza se determinó comprobando que el índice de la densidad óptica 260/280 nm estuviese entre 1.8 a 2. Asimismo, se evaluó la integridad del ADN al correrlo en geles de agarosa al 1%.

Se utilizaron 13 iniciadores RAPDs de la serie OPERON Technologies (Alameda Calif.) con longitud de 10 pares de bases. Las condiciones de amplificación se basaron en la metodología propuesta por Williams *et al.* (1990).

Las reacciones de PCR se hicieron en un volumen final de 20 µL. La mezcla de reacción para RAPD consistió de 32 ng de ADN genómico, 0.9 U de enzima *Taq* DNA polimerasa (Amplificasa®) y buffer IX, 0.8 µM de iniciador, 200 µM de dNTPs (Invitrogen) y 1.8 mM de MgCl₂. La amplificación se realizó en un termociclador Techne TC-520 con el programa presentado en el Cuadro 1.

La separación de los fragmentos amplificados se hizo por electroforesis en geles de agarosa al 1.4%. El revelado de las bandas se hizo con bromuro de etidio y se observaron bajo luz ultravioleta en un transiluminador Upland modelo TS-20. La imagen se capturó con un fotodocumentador Gel Logic de Kodak®.

13 RAPD starts from the OPERON Technologies (Alameda Calif.) series with length of 10 pairs of bases were used. Amplification conditions were based on method proposed by Williams *et al.* (1990).

PCR reactions were made in a final volume of 20 µL. The reaction mixture for RAPD consisted of 32 ng of genomic DNA, 0.9 U of enzyme *Taq* DNA polymerase (Amplificasa®) and buffer IX, 0.8 µM of starter, 200 µM of dNTPs (Invitrogen) and 1.8 mM de MgCl₂. Amplification was made in Techne TC-520 thermal cycler with schedule showed in Table 1.

Cuadro 1. Programa de de amplificación para los marcadores RAPDs.

Table 1. Schedule of amplification for RAPDs markers.

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

The separation of amplified fragments was done by electrophoresis in agar-agar gels at 1.4%. Bands print was done with ethidium bromide and submitted under ultraviolet light in Upland model TS-20 transilluminator. The image was taken in Kodak® Gel Logic documentation system.

Results and discussion

Agronomical and cooking characteristics

When grouping accessions by grain color the interval of days to flowering was from 44 to 49 days, yellow and cream colored beans were with most earliness and the latest mixtures were brown and pink color (Table 2). Black beans were intermediate with a value of 45 days. The flowering interval for all accessions ranged between 41 and 57 days, where variety V93, brown color, was the latest and varieties V8 and V62, yellow color, were the earliest ones.

Brown beans showed higher 100 grains weight (45.5 g), in comparison to other colors; cream color (26.8 g) and pink (26.3 g) showed lowest value (Table 2). The weight interval in bean

Resultados y discusión

Características agronómicas y culinarias

Al agrupar las accesiones por color de grano el intervalo de días a floración fue de 44 a 49 días, los frijoles amarillos y crema fueron más precoces y las mezclas las más tardías, seguidas del color castaño y rosa (Cuadro 2). Los frijoles negros fueron intermedios por presentar un valor de 45 días. El intervalo de floración de todas las accesiones fluctuó entre 41 y 57 días, donde la variedad V93, de color de grano castaño, fue la más tardía y las variedades V8 y V62, de color amarillo, fueron las más precoces.

population was from 18.2 to 58.8 g corresponding to varieties V13 and V91 of yellow color and brown, respectively. Also, grain yield by plant was higher in brown color (21.0 g) and lower in mixed beans (3 g). Black and yellow beans stand out after brown types with yield of 14 and 13 g per plant, respectively. In bean population, the variety with less grain yield per plant was V3 (3.0 g) belonging to mixture and V76 of brown color showed highest yield (33.2 g).

The accessions of black, yellow, cream and pink grain showed indeterminate bush type 2 growth habit; while brown color and mixture of color accessions showed type 3 habit, of prostrated indeterminate growth. Type 3 habit beans showed best 100 grains weight.

Cuadro 2. Características agronómicas, culinarias y contenido de proteína de los frijoles colectados, en el estado de Puebla, por color de grano.

Table 2. Agronomical, cooking characteristics and protein content of collected beans, in the state of Puebla, by grain color.

| Color de grano | Número de variedades | Días a floración | 100 granos (g) | Rendimiento planta ⁻¹ (g) | Hábito de crecimiento |
|----------------|----------------------|------------------|----------------|--------------------------------------|-----------------------|
| Amarillo | 11 | 44 | 33.0 | 13.0 | 2 |
| Castaño | 4 | 48 | 45.5 | 21.0 | 3 |
| Crema | 1 | 44 | 26.8 | 8.7 | 2 |
| Mezcla | 3 | 49 | 39.2 | 3.0 | 3 |
| Negro | 5 | 45 | 30.0 | 14.0 | 2 |
| Rosa | 1 | 48 | 26.3 | 6.8 | 2 |

Los frijoles castaños presentaron un peso mayor en 100 granos (45.5 g), en comparación a los demás colores; los colores crema (26.8 g) y rosa (26.3 g) mostraron los pesos menores (Cuadro 2). El intervalo de peso en la población de frijoles fue de 18.2 a 58.8 g correspondientes a las variedades V13 y V91 de color amarillo y castaño respectivamente. De igual forma, el rendimiento de grano por planta fue mayor en el color castaño (21.0 g) y menor en frijoles mezclados (3 g). Los frijoles negros y amarillos destacan después los castaños con rendimiento de 14 y 13 g por planta respectivamente. En la población de frijoles, la variedad con menor rendimiento de grano por planta fue la V3 (3.0 g) perteneciente a las mezclas y la V76 de color castaño presentó mayor rendimiento (33.2 g).

Las accesiones de grano negro, amarillo, crema y rosa mostraron hábito de crecimiento tipo 2, indeterminado arbustivo; mientras que las accesiones de color castaño y las mezclas de color mostraron hábito tipo 3, de crecimiento indeterminado postrado. Los frijoles de hábito tipo 3 fueron los que presentaron un mayor peso de 100 granos.

Cooking time interval ranged between 21 and 107 min, brown beans were had the longest cooking time and the shortest were cream colored beans (Table 3). 83% of accessions showed softness to cooking according to scale shown by Jacinto *et al.* (2002); in other words, cooking time less than 70 min, only brown color showed hardness to cooking (107 min). Varieties more soft to cooking were V52 yellow color and V100, which is a mixture, with a time of 50 min. Also, the harder varieties were V93 (141 min) and V91 (132 min) both brown color.

Quantity of solids in broth was different for each grain color. Brown outstand with 0.61% and the ones with least quantity were pink (0.30%) and cream (0.33%) (Table 3). In beans population, varieties with greater quantity of solids correspond to brown color identified like V91 (0.91%) and V93 (0.78%). These varieties also showed higher hardness to cooking, apparently in brown accessions the longest cooking time allows bean to release more solids to broth, resulting in thicker broth. Varieties with least solids content were V77 (0.22%) and V13 (0.24%) of yellow color, with cooking time of 61 and 59 min, respectively.

El intervalo en tiempo de cocción fluctuó entre 51 y 107 min, los de mayor tiempo de cocción fueron los frijoles castaños y los más rápidos los color crema (Cuadro 3). El 83% de las accesiones presentó suavidad a la cocción de acuerdo a la escala mostrada por Jacinto *et al.* (2002); es decir, tiempo de cocción menor a 70 min, sólo los de color castaño presentaron dureza a la cocción (107 min). Las variedades de la población más suaves al cocimiento fueron la V52 de color amarillo y V100, que es una mezcla, con un tiempo de 50 min. Asimismo, las de mayor dureza fueron la V93 (141 min) y V91 (132 min) ambas de color castaño.

La cantidad de sólidos en el caldo fue diferente en cada color de grano. Sobresalieron los castaños con 0.61% y los de menor cantidad fueron los frijoles rosa (0.30%) y crema (0.33%) (Cuadro 3). En la población de frijoles, las variedades con mayor cantidad de sólidos pertenecen al color castaño identificadas como V91 (0.91%) y V93 (0.78%). Estas variedades presentaron también mayor dureza a la cocción, aparentemente en las accesiones de color castaño el mayor tiempo de cocción permite al frijol liberar más sólidos al caldo, dando por resultado un caldo más espeso. Las variedades con menor contenido de sólidos fueron la V77 (0.22%) y la V13 (0.24%) de color amarillo, con tiempos de cocción de 61 y 59 min respectivamente.

En contenido de proteína, el intervalo fue de 17.9 a 25% por color de grano. Los frijoles negros presentaron mayor cantidad (25%), seguidos del color amarillo (Cuadro 3). El menor contenido se registró en el color rosa (17.9%). En general, los demás colores contienen más de 20%, lo que significa que están en el promedio reportado para frijol (Nadal *et al.*, 2004). En la población de frijoles, las variedades con mayor contenido de proteína fueron la V90 (29.3%) de color negro y la V8 (27.2%) de color amarillo, mientras que las de menor contenido fueron la V3 (16.3%) que es una mezcla y V118 (17.7%) de color amarillo.

In protein content, interval was from 17.9 to 25% per grain color. Black beans had highest quantity (25%), followed by yellow color (Table 3). Least content was recorded in pink color (17.9%). In general, rest of colors had more than 20%, which means are within average reported for bean (Nadal *et al.*, 2004). Varieties with greater protein content were V90 (29.3%) of black color and V8 (27.2%) of yellow color, while smaller content were V3 (16.3%) which is a mixture and V118 (17.7%) of yellow color.

Correlations between agronomical and cooking characteristics

In the correlations obtained with statistical software SAS, grain color did not had significant correlation with any agronomical or cooking characteristics (Table 4). Days to beginning of flowering had highly negative significant correlation with yield of grain per plant ($r = -0.59^{**}$), with growing habit correlation was positive ($r = 0.56^{**}$), the same than with time for cooking ($r = 0.54^{**}$). This means that early varieties trend to show better yield than the late varieties and tend to use less time for grain cooking.

In 100 grains weight showed positive significant correlation with growing habit ($r = 0.43^*$) and time for cooking ($r = 0.45^*$) and with solids content was highly significant and positive ($r = 0.83^{**}$). Grain cooking time showed positive correlation with solids content and highly significant ($r = 0.70^{**}$) (Table 4), this means that larger grains require more time for water get to the interior and cook grain. Also, when kept more time in boiling water allows to release greater solids concentration in broth (Jacinto *et al.*, 2002).

Grain yield was correlated with growing habit with highly significant negative correlation ($r = -0.67^{**}$) (Table 4). There was no relation between grain yield and protein

Cuadro 3. Características culinarias y contenido de proteína de los frijoles colectados por color de grano.
Table 3. Cooking characteristics and protein content for beans collected by grain color.

| Color de grano | Núm. de accesiones | Cocción (min) | | Sólidos (%) | | Proteína (%) | |
|----------------|--------------------|---------------|-----------|-------------|-----------|--------------|-----------|
| | | Promedio | intervalo | Promedio | Intervalo | Promedio | Intervalo |
| Amarillo | 11 | 59.8 | 50-70 | 0.37 | 0.22-0.51 | 23.1 | 17.7-27.2 |
| Castaño | 4 | 106.7 | 67-141 | 0.61 | 0.26-0.91 | 21.9 | 18.9-24.6 |
| Crema | 1 | 51.0 | 51 | 0.33 | 0.33 | 22.7 | 22.8 |
| Mezcla | 3 | 55.6 | 50-62 | 0.40 | 0.28-0.51 | 21.1 | 16.3-25.7 |
| Negro | 5 | 66.0 | 61-79 | 0.42 | 0.35-0.52 | 25.0 | 21.2-29.2 |
| Rosa | 1 | 63.0 | 63 | 0.30 | 0.30 | 17.9 | 17.9 |

Correlaciones entre características agronómicas y culinarias

En las correlaciones obtenidas con el paquete estadístico SAS, el color de grano no presentó correlación significativa con ninguna característica agronómica o culinaria (Cuadro 4). Los días a inicio de floración tuvieron correlación negativa altamente significativa con el rendimiento de grano por planta ($r = -0.59^{**}$), con el hábito de crecimiento la correlación fue positiva altamente significativa ($r = 0.56^{**}$), al igual que con el tiempo de cocción ($r = 0.54^{**}$). Esto indica que las variedades precoces tendieron a presentar rendimiento mayor que las tardías y la tendencia a consumir menos tiempo en el cocimiento del grano.

Cuadro 4. Correlaciones estimadas entre los caracteres agronómicos, culinarios y contenido de proteína.
Table 4. Correlations between agronomic, cooking characters and protein content.

| | Co | Flo | 100 g | Ren | Ha | Coc | So | Pro |
|--------|------|------|-------|---------|---------|--------|--------|-------|
| Co | 1.00 | 0.28 | 0.14 | -0.11 | 0.13 | 0.04 | -0.01 | -0.03 |
| Flo | | 1.00 | 0.01 | -0.59** | 0.56** | 0.54** | 0.26 | -0.15 |
| 100gra | | | 1.00 | 0.40 | 0.43* | 0.45* | 0.83** | 0.18 |
| Ren | | | | 1.00 | -0.67** | 0.06 | 0.37 | 0.28 |
| Ha | | | | | 1.00 | 0.35 | 0.45* | -0.01 |
| Coc | | | | | | 1.00 | 0.70** | 0.08 |
| So | | | | | | | 1.00 | 0.28 |
| Pro | | | | | | | | 1.00 |

Co= color de grano; Flo= días a floración; Ren= rendimiento por planta; Ha= hábito de crecimiento; Coc= tiempo de cocción; So= contenido de sólidos; Pro= contenido de proteína.

El peso de 100 granos expresó correlación significativa y positiva con el hábito de crecimiento ($r = 0.43^*$) y el tiempo de cocción ($r = 0.45^*$) y con el contenido de sólidos fue altamente significativa y positiva ($r = 0.83^{**}$). El tiempo de cocción del grano expresó correlación positiva con la cantidad de sólidos en el grano la cual fue altamente significativa ($r = 0.70^{**}$) (Cuadro 4), esto significa que los granos más grandes requieren más tiempo para que el agua penetre al interior y cueza el grano. Asimismo el permanecer más tiempo en el agua en ebullición les permite liberar una mayor concentración de sólidos en el caldo de cocción (Jacinto *et al.*, 2002).

El rendimiento de grano se correlacionó con el hábito de crecimiento con una tendencia negativa altamente significativa ($r = -0.67^{**}$) (Cuadro 4). Entre el rendimiento de grano y el contenido de proteína no existió asociación, aun cuando existen estudios que señalan que a mayor rendimiento menor contenido de proteína (Osborne, 1988 y Bollini *et al.*, 1999).

content, even there are studies that point out that at greater yield the less protein content (Osborne, 1988 and Bollini *et al.*, 1999).

Accessions of type 3 habit tend to show greater solids content ($r = 0.45^*$). There was no relation between growth type and protein content (Table 4). Protein content in grain did not show relation with studied agronomical and cooking characteristics, in contrast with Allende *et al.* (2006) who found negative correlation between raw protein content and days to flowering in improved bean varieties. Protein is a character to which genetic selection can be developed in, due its importance in nutrition; for look or create varieties with high protein content.

Analysis with RAPDs markers

From 13 starters that were assessed, only seven revealed polymorphism, which represents 53.8%. Such starters were OPC-19, OPN-13, OPL-11, OPF-06, OPG-17, OPF-10 and OPAE-19. There were identified 21 polymorphic bands distributed in the following way: six bands for OPL-11 and OPF-10, three bands for OPN-13, two bands for OPC-19 and OPF-06, while for OPG-17 and OPAE-19 there were monomorphic. With the obtained electrophoretic patterns a presence-absence matrix with polymorphic bands was created.

Varieties grouping

With software NTSYS pc 2.2, using Dice coefficient, with cut level equal to 0.48, dendrogram was plotted in which 13 groups were defined (Figure 1).

Las accesiones de hábito 3 tendieron a mostrar mayor contenido de sólidos ($r= 0.45^*$). No se detectó asociación entre el hábito de crecimiento con el contenido de proteína (Cuadro 4). La cantidad de proteína en el grano no presentó correlación alguna con las características agronómicas y culinarias estudiadas, a diferencia de Allende *et al.* (2006) quienes detectaron correlación negativa entre el contenido de proteína cruda y los días a floración en variedades mejoradas de frijol. La proteína es un carácter que amerita trabajo de selección genética, por su importancia en la nutrición para buscar o formar variedades con alto contenido de proteína.

Análisis con marcadores RAPDs

De los 13 iniciadores que se ensayaron, solamente siete revelaron polimorfismo, lo cual representa 53.8%. Los iniciadores que detectaron polimorfismo fueron OPC-19, OPN-13, OPL-11, OPF-06, OPG-17, OPF-10 y OPAE-19. Se identificaron 21 bandas polimórficas distribuidas de la siguiente manera: seis bandas para OPL-11 y OPF-10, tres bandas para OPN-13, dos bandas para OPC-19 y OPF-06, mientras que OPG-17 y OPAE-19 fueron monomórficos. Con los patrones electroforéticos obtenidos se construyó una matriz de presencia-ausencia con las bandas polimórficas.

Agrupamiento de variedades

Con el programa NTSYS pc 2.2, empleando el coeficiente de Dice, con nivel de corte igual a 0.48, generó un dendograma donde se definieron 13 grupos (Figura 1).

El grupo I se integró por la V3 perteneciente a una mezcla de frijoles y la V118. Estas variedades son similares en bajo contenido de proteína (16.3 y 17.7% respectivamente), en tiempo de cocción rápido (55 y 67 min respectivamente) y en peso de 100 granos igual a 24.6 g en promedio. El grupo II se formó también con dos variedades similares en tiempo de cocción igual a 83 min en promedio, por lo que son considerados frijoles de cocción intermedia. El grupo III presentó el mayor número de variedades (7), las cuales fueron similares en los caracteres días a floración y tiempo de cocción. La diferencia en floración entre estas variedades fue de 2 días. Las variedades de este grupo mostraron corto tiempo de cocción; en promedio 61 min.

En el grupo IV se ubicó únicamente la V93 que sobresalió por mostrar el tiempo de cocción más prolongado (141 min); por lo que se considera un frijol duro al cocimiento (Jacinto *et al.*, 2002). Asimismo, fue de los más tardíos en días a

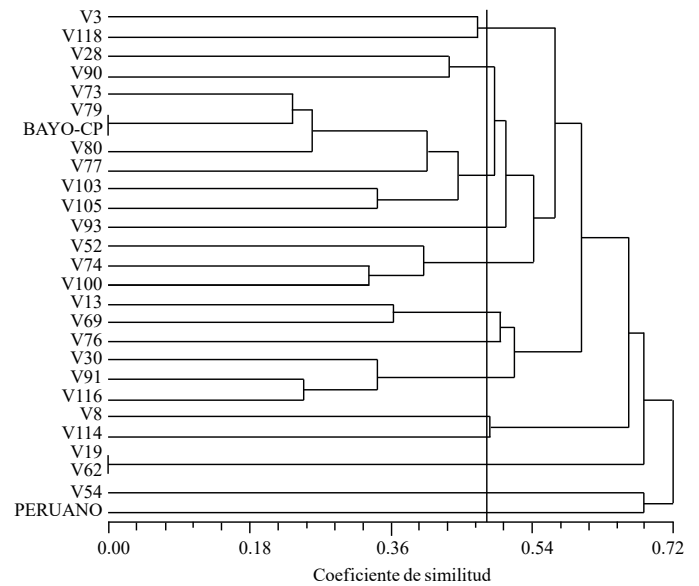


Figura 1. Agrupamiento de 27 genotipos de *Phaseolus vulgaris* L., basado en una matriz de similitud genética construida a partir del coeficiente de Dice.

Figure 1. Grouping of 27 genotypes of *Phaseolus vulgaris* L., based on genetic similarity matrix built from Dice coefficient.

Group I was comprised by V3, a mixture of beans and V118. These varieties are similar in low protein content (16.3 and 17.7%, respectively), in fast cooking time (55 and 67 min, respectively) and in 100 grains weight in average are 24.6 g. Group II was also created with two similar varieties in cooking time with 83 min in average, which corresponds to intermediate values. Group III showed the greatest number of varieties (7), which were very similar in characters days to flowering and cooking time. The difference in flowering was 2 days. The varieties in this group showed short cooking time; in average 61 min.

In group IV only variety V93 was included, which outstands to show the longest cooking time (141 min); then is considered a hard to cook bean (Jacinto *et al.*, 2002). Also, it was one of the most late in days to flowering (57 days), although outstood in greater 100 grains weight (50.1 g). In group V there were three varieties: V52, V74 and V100 related by characters such as days to flowering (from 43 to 50 days), 100 grains weight (35.3 to 38.5 g), intermediate cooking time (50 to 70 min) and average protein content (21.4 to 23.4 %). Group VI is comprised by varieties V13 and V69 which had similarity in days to flowering (44 and 48 days, respectively) and are soft to cooking with an average time of 61 min.

floración (57 días) pero sobresalió en un mayor peso de 100 granos (50.1 g). En el grupo V se registraron tres variedades la V52, V74 y V100 unidas por los caracteres como días a floración (de 43 a 50 días), peso de 100 granos (35.3 a 38.5 g), tiempo de cocción intermedia (50 a 70 min) y contenido de proteína promedio de (21.4 a 23.4 %). El grupo VI está conformado por las variedades V13 y V69 las cuales tienen similitud en días a floración (44 y 48 días respectivamente) y son suaves a la cocción con un tiempo de 61 min en promedio. En el grupo VII se ubica únicamente a la V76, la cual presentó 42 días a floración, peso en cien semillas de 47.4 g, es suave a la cocción (en 67 min) y contiene 21.9% de proteína. En el grupo VIII se ubicaron las variedades V30, V91 y V116, con características similares en días a floración (de 44 a 45 días) y en contenido de proteína de (de 22.7 a 24.7%). El grupo IX únicamente lo integra la variedad V8, la cual llega a floración a los 41 días, el peso de cien semillas es 37.2 g, se incluye entre los frijoles blandos con tiempo de cocción igual a 61 min y contiene 27.1% de proteína. Es probable que su alto contenido de proteína la aisle como un grupo. La V114 integra el grupo X, se caracteriza por llegar a floración a los 43 días, cien semillas pesan 36.7 g, es suave a la cocción (61 min) y tiene 24.3% de proteína.

Integran el grupo XI las variedades V19 y V62, con similitud en las características edad a floración a los 46 y 41 días en promedio, 39.2 g en promedio de peso en cien semillas, ambas son suaves a la cocción (58 min en promedio), contenido de proteína de 25 y 23.8% respectivamente y ambas son de color de semilla amarillo. Este grupo fue el que abarcó más características similares. El grupo XII está formado por la variedad V54, la cual a los 44 días está en floración, tiene un peso 26.8 g en cien semillas, es suave a la cocción (58 min) y su contenido de proteína es 25.2%. En el grupo XIII lo integra solamente la variedad Peruano, de color de semilla amarilla, floración a los 42 días y con contenido de proteína de 21.83%. La integración como un grupo se puede deber a que es una variedad comercial con características propias. En la conformación de los grupos de variedades de frijol mediante el coeficiente de Dice, no fue determinante el lugar geográfico donde se realizaron las colectas ni el color del grano. Las características que más influyeron en la integración de los grupos fueron la edad a floración, tiempo de cocción y contenido de proteína. Sin embargo en los grupos con mayor número de variedades hay un color de grano predominante. Esta tendencia ha sido reportada por Miranda *et al.* (2006) en frijoles criollos de Cuba. Sin embargo, también encontraron agrupamientos de frijoles de diferentes colores. En otras regiones de México,

In group VII is formed only by V76, which showed 42 days to flowering, 100 grains weight of 47.4 g, is soft to cooking (in 67 min) and contains 21.9% of protein. In group VIII there were located the varieties V30, V91 and V116, with similar characteristics in days to flowering (from 44 to 45 days) and in protein content (from 22.7 to 24.7%). Group IX was only formed by variety V8, which takes 41 to flowering, 100 grains weight is 37.2 g, is in soft beans with cooking time of 61 min and contains 27.1% of protein. It is probably that its high protein content isolates it as one group. Variety V114 conforms group X, characterized for flowering at 43 days, 100 grains weight is 36.7 g, it is soft to cooking (61 min) and it has 24.3% of protein.

Varieties V19 and V62 are part of group XI, with similarity in days to flowering at 46 and 41 in average, 39.2 g in average for 100 grains weight, both are soft to cooking (58 min in average), protein content of 25% and 23.8% respectively and both are of yellow color seed. This group was the one with most similar characteristics. Group XII is comprised by variety V54, which at 44 days is in flowering, has a weight of 26.8 g in 100 grains, is soft to cooking (58 min) and its protein content is 25.2%.

Group XIII is comprised only by variety Peruvian, of yellow seed color, flowering at 42 days and protein content of 21.83%. The integration as one group can be due is a commercial variety with own characteristics. Geographic location where collection was made either grain color was not relevant for group creation of bean varieties by Dice coefficient. However, in groups with higher number of varieties there is a predominant color.

This trend has been reported by Miranda *et al.* (2006) in creole beans from Cuba. Nevertheless, also there were found beans grouping of different color. In other regions of Mexico, like Hidalgo, there have been differences in native beans, mainly on cooking time and protein content (Muñoz *et al.*, 2009). In the states of Mexico, Veracruz and Puebla it is reported the greater genetic diversity attributed to wide ecological background and diversity of existing climatic and edaphic conditions (Avendaño *et al.*, 2004). On the other hand, Vidal *et al.* (2006) showed the existence of little genetic variability within black beans genotypes in Tabasco, according to the authors is because it is a region considered of little diversity of bean in the country.

Studies made with isoenzymes in black beans coming from different regions of Mexico defined 68.7% of polymorphism (Avendaño *et al.*, 2004), which means that grain color is not important for a specie similarity, but that there are other

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

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

En una evaluación morfoagronómica y molecular realizada por Balarezo *et al.* (2009) se generó un dendrograma generado a partir de RAPDs y tampoco se formaron grupos según la procedencia de los frijoles. Resultados con la misma tendencia reportados por Gómez *et al.* (2004) analizando la diversidad genética en frijoles de Nicaragua con marcadores microsatélite y morfológicos, las variaciones a nivel molecular fueron explicadas por diferencias dentro y entre razas no entre las zonas agroecológicas. Este caso puede ser aplicado a los resultados obtenidos en la presente investigación principalmente en los grupos formados por una variedad (grupos VII, IX, X y XII).

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

En la presente investigación, el uso de marcadores RAPD permitió identificar grupos de frijoles con características culinarias que los productores de frijol desean encontrar

characters implied in genetic variability of genotypes. Also, Vidal *et al.* (2006) found bean varieties groupings made by RAPD-ISSR that did not show association with morphological characteristics.

In a morphological-agronomical and molecular assessment made by Balarezo *et al.* (2009) a dendrogram was made starting from RAPDs and either group was formed according to beans origin. Results in the same condition are reported by Gómez *et al.* (2004) analyzing genetic diversity of beans in Nicaragua with microsatellite markers and morphological, the variations at molecular level were explained by differences within and between races and not on agroecological zones. This case can be applied to results herein obtained mainly in groups formed by one variety (groups VII, IX, X and XII).

Guachambala and Rosas (2010), in the dendrogram created with molecular analysis of bean in Honduras found two contrasting scenarios in genetic similarity and collection locations, in one case they create a group with a coefficient of 0.95 in similarity where accessions were collected in very near places and that are very similar, and other case where they create another accessions group that has high genetic similarity with a coefficient of 0.96, but are from distant origin.

In this research, the use of RAPD markers allowed to identify beans groups with cooking characteristics that bean producers wish to find in the product they harvest. In this way, is possible to select beans with significant earliness, soft to cook and high protein content. Studies at different localities will be made and quality characteristics will be assessed to confirm results herein obtained and be in position to select native varieties to start breeding program that in the future can be focused to assisted selection with molecular markers.

Conclusions

Diversity of accessions was recorded in days to flowering, 100 grains weight and yield per plant. Brown beans were the latest (48 days), had higher 100 grains weight (45.5 g) and better yield per plant (21 g). Pink color bean showed lowest 100 grains weight.

The studied accessions showed variation in protein content, where black color beans showed highest content (25%) and pink color lowest quantity (17.9%). In cooking time brown

en los frijoles que cultivan. De esta manera, se está en condiciones de seleccionar los frijoles con precocidad significativa, blandos al cocimiento y contenido de proteína alto. Se realizarán ensayos en diferentes localidades y se medirán los atributos de calidad para confirmar los resultados obtenidos en esta investigación y poder así seleccionar variedades nativas para iniciar un programa de mejoramiento que futuro pueda orientarse hacia la selección asistida con marcadores moleculares.

Conclusiones

La diversidad de las accesiones se registró en los días a floración, peso de 100 granos, y rendimiento por planta. Los frijoles castaños fueron los más tardíos (48 días), tuvieron el mayor peso de 100 granos (45.5 g) y el mayor rendimiento por planta (21 g). El frijol de color rosa mostró el menor peso de 100 granos.

Las accesiones estudiadas mostraron variación en el contenido de proteína, donde los frijoles de color negro mostraron mayor contenido (25%) y el color rosa la menor cantidad (17.9%). En tiempo de cocción los frijoles castaños fueron los más duros (107 min) y con mayor contenido de sólidos en el caldo de cocción, mientras que el de color rosa fue el más suave (51 min) y caldo menos espeso.

La técnica RAPD, resultó eficiente en la formación de grupos de variedades con caracteres morfológicos similares.

Se formaron en total 13 grupos con distinto número de variedades que fue desde una hasta siete. Los grupos tuvieron similitud en precocidad, tiempo de cocción, contenido de proteína y peso de 100 granos.

Literatura citada

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1984) Official Methods of Analysis. 14th Ed. Horwitz W. Washington DC, USA. 1141 p.
- Allende, A. G.; Acero, G. Ma. G.; Padilla, R. J. S. y Mayek, P. N. 2006. Comportamiento agronómico y características físico-químicas del grano de frijol en Aguascalientes, México. Rev. Fitotec. Mex. 29(1):89-93.

beans were the longest (107 min) and with most solids content in broth, while pink color was the softest (51 min) and broth less thick.

RAPD technique was efficient to create varieties groups with similar morphological characters.

13 groups were comprised with different number of varieties, from one to seven. Groups had similar characteristics in earliness, cooking time, protein content and 100 grains weight.

End of the English version



- Avendaño, A. C. H.; Ramírez, V. P.; Castillo, G. F.; Chávez, S., J. L. y Rincón, E. G. 2004. Diversidad isoenzimática en poblaciones nativas de frijol negro. Rev. Fitotec. Méx. 27(1):31-40.
- Balarezo, J. C.; Camarena, M. F.; Baudoin, J. P.; Huaranga, J. A.; Blas, S. R. 2009. Evaluación agromorfológica y caracterización molecular de la ñuña (*Phaseolus vulgaris* L.) IDESIA 27(1):29-40.
- Becerra, V. V. y Paredes, C. M. 2000. Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. Agric. Téc. Méx. 60(3):270-281.
- Beebe, S.; Ochoa, I.; Skroch, P. W.; Nienhuis, J. and Tivang, J. 1995. Genetic diversity among common bean breeding lines developed for Central America. Crop Sci. 35(4):1178-1183.
- Beebe, S.; Skroch, P. W.; Thome, J.; Duque, M. C.; Pedraza, F. and Nienhuis, J. 2000. Structure of genetic diversity among common bean landraces of Middle American origin based on correspondance analysis of RAPD. Crop Sci. 40(1):264-273.
- Bollini, R.; Carnovale, E. and Campion, B. 1999. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 3(4):217-219.
- Castellanos, J. Z.; Guzmán, M. H.; Jiménez, A.; Mejía, C.; Muñoz, R. J. J.; Acosta, G. J. A.; Hoyos, G.; López, S. E.; González, E. D.; Salinas, P. R.; González, A. J.; Muñoz, V. J. A.; Fernández, H. P. y Cázares, B. 1997. Hábitos preferenciales de los consumidores de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en México. Arch. Latinoamerican. Nutr. 47:163-167.
- Cárdenas, R. F. A. 1989. El banco de germoplasma de frijol en México. In: Memorias del Taller Internacional del Mejoramiento Genético en Frijol. Temas Actuales en Mejoramiento Genético de Frijol. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. 45-77 pp.

- Emygdio, B.; Antunes, IF.; Choer, E. y Nedel, JL. 2003. Eficiencia de coeficientes de similaridade em genotipos de feijao mediante marcadores RAPD. Pesquisa Agropecuaria Brasileira. Brasilia 38(2):243-250.
- Gómez, O. J.; Blair, M. W; Frankow, L. B. E. and Gullberg, U. 2004. Molecular and phenotypic diversity of common bean landraces from Nicaragua. Crop Sci. 44:1412-1418.
- Guachambala, C. M. S. y Rosas, S. J. C. 2010. Caracterización molecular de acepciones cultivadas y silvestres de frijol común de Honduras. Agro. Mesoamericana. 21(1):51-61.
- Guzmán-Maldonado, H.; Jacinto-Hernández, C. y Castellanos, Z. J. 1995. Manual de metodologías para evaluar calidad de grano de frijol. Tema didáctico Núm. 2. SAGARPA, INIFAP, Centro de Investigación Regional del Centro. México. 77 p.
- International Plant Genetic Resources Institute. (IPGRI). 2001. Descriptores para *Phaseolus vulgaris*. Rome.
- Jacinto, H. C.; Hernández, S. H.; Azpíroz, R. S.; Acosta, J. A. y Bernal, L. I. 2002. Caracterización de una población de líneas endogámicas de frijol común por su calidad de cocción y algunos componentes nutrimentales. Agrociencia 36:451-459.
- Jacinto-Hernández, C.; Hernández-Sánchez, H.; Azpíroz-Rivero, S.; Acosta-Gallegos, J. A. and Bernal-Lugo, I. 2003. Genetic analysis and randomly amplified polymorphic DNA markers associated with cooking time in common beans. Crop Sci. 43:329-332.
- Kelly, J. D. and Miklas, P. N. 1998. The role of RAPD markers in breeding for disease resistance in common bean. Mol Breed. 4:1-11.
- Miranda, L. S.; Rosas, S. J. C.; Aranda, R. L. L.; Ortiz, P. R.; Ponce, B. M. y Ríos, L. H. 2006. Análisis molecular de la diversidad genética de frijol común manejada por campesinos en Cuba. Agron. Mesoamericana. 17(3):369-382.
- Muñoz, S. R. 2010. Rica fuente de proteínas. CONABIO. Biodiversitas. 89:7-11.
- Muñoz, V. E. E.; Rubio, H. D.; Bernal, L. I; Garza, G. R. y Jacinto, H. C. 2009. Caracterización de genotipos nativos de frijol del estado de hidalgo, con base a calidad del grano. Agric. Téc. Méx. 35(4):426-435.
- Nadal, M. S.; Moreno, Y. Ma. T. y Cubero, S. J. I. 2004. Las leguminosas grano en la agricultura moderna. Mundi-Prensa. España.
- Navarro, S. F. J. 1983. Marco de referencia del área, *In*: frijol en el noroeste de México (tecnología de producción). Lépiz, I. R. y Navarro, S. F. J. (Eds.). SARH, INIA, CIAPAN, CAEVAC. Comisión Permanente para la Investigación y Experimentación Agrícola en Sinaloa. Primera Edición. Culiacán, Sinaloa. México. 1-28 pp.
- Nuez, F.; Carrillo, J. M. y De Ron, A. M. 2000. Introducción. *In*: los marcadores genéticos en la mejora vegetal. Nuez, F. y Carrillo J. M. (eds.). Sociedad Española de Genética y Universidad Politécnica de Valencia. Editorial U. P. V. Valencia, España. 23-89 pp.
- Osborn, T. C. 1988. Genetic control of bean seed protein. Crit. Rev. Plant Sci. 7:93-116.
- Rafalski, J. A.; Hanafey, M. K.; Tingey, S. V. and Williams, J. G. K. 1994. Technology for molecular breeding: RAPD markers, microsatellites and machines. *In*: plant genome analysis. Gresshoff P. M. (ed.) CRC Press, Inc. Boca Raton. 19-27 pp.
- Skroch, P; Nienhuis, J; Beebe, S; Tohme, J. and Pedraza, F. 1998. Comparison of Mexican common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) core and reserve germplasm collection. Crop Sci. 38(2):488-496.
- Torres, A. M.; Weeden, N, F. and Martín, A. 1993. Linkage among isozyme, RFLP and RAPD markers in *Vicia faba*. Theor. Appl. Genet. 85:937-945.
- Vidal, B. A.; Lagunes, E. L. D. C.; Valadéz, M. E. y Ortiz, G. C. F. 2006. Variabilidad morfológica y molecular de cultivares criollos y mejorados de frijol común en Tabasco, México. Rev. Fitotec. Mex. 29(4):273-281.
- Williams, J. G. K.; Kubelik, A. R.; Livak, K. J.; Rafalski, J. A. and Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18: 6531-6535.