

Evidencia fenotípica y bioquímica de introgresión mesoamericana en accesiones de habichuela (*Phaseolus vulgaris*) cultivadas en centros secundarios de domesticación

Phenotypical and biochemical evidence regarding Mesoamerican introgression into the germplasm of kidney-beans (*Phaseolus vulgaris*) cultivated in secondary domestication centres

Adriana Tofiño¹, Cesar Humberto Ocampo² y Orlando Toro²

Resumen: A fin de establecer posibles relaciones entre las variaciones morfológicas y el tipo de faseolina (proteína de almacenamiento) con los centros de domesticación y origen de *Phaseolus vulgaris* con características de habichuela, se estudiaron 116 accesiones conservadas en el Banco de Germoplasma de la URG-CIAT: 26 de los genotipos eran comerciales, 5 líneas endocriadas y 85 variedades tradicionales. Para caracterizar las vainas y las semillas de las plantas cultivadas en una sola localidad, y en un único ciclo de desarrollo del cultivo, se utilizaron 18 descriptores morfológicos. Como resultado del análisis de las proteínas de semilla mediante SDS-PAGE se establecieron 7 tipos diferentes de faseolinas agrupadas como andinas (T, C y H) y mesoamericanas [S, Sb, H(S+1) y CH]. La mayor diversidad de faseolinas se encontró en las habichuelas procedentes de Europa. La faseolina S se encontró en 62 genotipos, 47 de los cuales son variedades tradicionales (39% del total). Este resultado difiere de los encontrados por otros investigadores en cuanto a la contribución del germoplasma mesoamericano al acervo genético de la habichuela. En todos los genotipos, excepto en aquellos que contenían faseolina S, se encontró correlación entre el tipo de faseolina, el tipo de vaina y la semilla. Los 22 genotipos con faseolina S se pueden clasificar en dos grupos: (1) los que exhiben fenotipos mesoamericanos; y (2) los que exhiben tamaños y colores de tipo andino. Los genotipos con características morfológicas y bioquímicas contrastantes correspondieron a variedades tradicionales procedentes en su totalidad de los centros secundarios de domesticación. Las posibles contaminaciones se descartaron luego de la evaluación (según color, tamaño y tipo de faseolina) de isotipos regenerados a partir de las semillas originales;

...

Abstract: 116 *Phaseolus vulgaris* kidney-bean accessions from 25 different countries kept in the URG-CIAT Germplasm Bank were studied for establishing possible relationships between morphological variations and types of phaseolin. Twenty-six genotypes were commercial, five genotypes were inbred lines and eighty-five were traditional varieties. Eighteen (18) morphological descriptors were used for characterising pods and seeds from plants growing in a single locality and over a single crop-development cycle. Seven (7) different types of phaseolins, grouped as Andean (T, C, H) and Mesoamerican [S, Sb, H(S+1) and CH] were established after SDS-PAGE analysis of seed proteins. Most phaseolin diversity was found in kidney-beans from Europe. "S" phaseolin was found into 62 genotypes, 47 of them being traditional varieties (39% of the total). This result is different from those of other works regarding Mesoamerican germplasm contribution to the kidney-bean genetic pool. Except for the "S" phaseolin genotypes, a degree of correlation was found between other phaseolin types and pods and seed types. "S" phaseolin genotypes (22) can be classified into two groups: those having the Mesoamerican phenotypes and those presenting Andean colour and size. Genotypes having contrasting morphological and biochemical characteristics were traditional varieties from all the secondary domestication centres included in this work. Possible contamination was discarded after examining regenerated isotypes from the original seeds (colour, size and phaseolin type). The results obtained in this control confirm those previously

...

Fecha de recepción: 16 de octubre de 2003.

Aceptado para publicación: 28 de noviembre de 2003.

1 Catedrática, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Palmira. e-mail: apt611@hotmail.com

2 Asistentes de Investigación, URG-CIAT, Cali.

los resultados de este control confirmaron aquellos obtenidos en el presente trabajo. Las evidencias fenotípicas y bioquímicas halladas sugieren que ocurre un alto grado de introgresión de genes derivados del acervo genético mesoamericano en los genotipos de habichuela procedentes de los centros secundarios de domesticación. Los genotipos seleccionados por sus características de habichuela, procedentes de dichos centros, se originaron y dispersaron en las mismas zonas de colección en forma diferente a como lo hizo el frijol común.

Palabras clave: Variabilidad, descriptores morfológicos, marcadores bioquímicos, acervo genético.

obtained. Phenotypical and biochemical evidence suggests that a high degree of introgression of genes from the Mesoamerican gene pool occurs in the genotype of kidney-beans from secondary domestication centres. Kidney-bean-like selected genotypes from some secondary centres were originated and dispersed differently from ordinary beans from the same areas.

Key words: Variability, morphological descriptors, biochemical markers, genetic pool.

Introducción

LA HABICHUELA ES UNA HORTALIZA de importancia económica en las regiones montañosas del Valle del Cauca (Colombia); allí es un cultivo que beneficia a gran cantidad de familias de pequeños productores. El sistema actual de cultivo requiere grandes cantidades de insumos para garantizar la producción, condición asociada con la estrecha base genética de la semilla que se cultiva actualmente, la cual no tiene características apropiadas de resistencia o tolerancia a los principales factores limitantes bióticos y abióticos. Este es el caso de la variedad Blue Lake, la más cultivada por los agricultores colombianos, que es muy susceptible a la roya (*Uromyces phaseolii*), a la bacteriosis (*Xanthomonas campestris*) y a otros limitantes lesivos para los rendimientos y la calidad de la cosecha (Agudelo y Montes de Oca, 1988).

Es necesario ampliar la base genética del cultivo con el fin de desarrollar programas de mejoramiento que eleven la resistencia a los factores limitantes bióticos y abióticos, y para disminuir las aplicaciones de agroquímicos (insecticidas, fungicidas y herbicidas) que afectan la calidad del producto y deterioran el ambiente. Por otro lado, para lograr un proceso adecuado de premejoramiento es esencial contar con información acerca de la variabilidad genética de los materiales básicos (Ramírez, 1982; Silbernagel *et al.*, 1991).

Los estudios sobre la evolución del cultivo indican que la mayor parte de los materiales introducidos a

Europa Occidental, el noreste de los Estados Unidos, África y la cuenca mediterránea, son originarios de los Andes, y que sólo una baja proporción de los materiales de frijol común introducidos en estos países son originarios de Mesoamérica. La procedencia andina parece estar relacionada con características de la vaina que facilitaron la selección para el consumo en verde (Gepts, 1988; Gepts y Bliss, 1988; Mc Clean *et al.*, 1993; Rodiño *et al.*, 2001).

El objetivo de este trabajo fue estimar la variabilidad genética general mediante un estudio descriptivo. La mayoría de los descriptores utilizados son de tipo cualitativo y, por tanto, estables bajo las diferentes condiciones ambientales (heterogeneidad del suelo, temperatura ambiental, suministro hídrico, etc). Como estimadores cuantitativos de la variabilidad genética se utilizaron el peso de 100 semillas, el número de semillas por vaina y la longitud de la vaina. En el proceso de selección incluido en los estudios de premejoramiento debe minimizarse la influencia ambiental evaluando los materiales en diferentes épocas de siembra y realizando pruebas regionales (Traka-Mavrona *et al.*, 2002).

El presente trabajo hace parte de un estudio de premejoramiento del Programa de Hortalizas de la Universidad Nacional, sede Palmira. Para contribuir a la consecución de este objetivo se evaluó la variabilidad de una muestra de los materiales básicos conservados en la Unidad de Recursos Genéticos del CIAT, mediante descriptores morfológicos y análisis de proteínas de almacenamiento en la semilla.

Materiales y métodos

Se utilizaron 116 genotipos con características de habichuela de la colección mundial de frijol de la Unidad de Recursos Genéticos del Centro Internacional de Agricultura Tropical (URG-CIAT). Estos materiales fueron colectados en centros secundarios de domesticación ubicados en 25 países de Europa, Asia, África y América. La evaluación morfoagronómica se realizó en el Centro Experimental de la Universidad Nacional, sede Palmira (CEUNP). Como controles se utilizaron seis genotipos de habichuela: dos materiales comerciales, Blue Lake (Ferry) y UNAPAL Milenio (G 51158); dos materiales de frijol común representantes de diferentes acervos genéticos [G4494 de origen andino (Diacol Calima) y G5733 originario de Mesoamérica (ICA Pijao)], además de dos materiales silvestres (G23725 de origen ecuatoriano y G21117, colombiano). Dentro del grupo de materiales evaluados hay 87 variedades tradicionales, 26 variedades comerciales y 5 líneas endocriadas. Las inferencias sobre aspectos evolutivos y origen de los materiales se hicieron con base en las características de las variedades tradicionales. Como descriptores morfológicos se utilizaron varias características de la vaina, la semilla, la floración, así como el hábito de crecimiento y el contenido de fibra total en la vaina seca (15% de humedad) (Muñoz *et al.*, 1993).

Como descriptores morfológicos de la vaina, la semilla y la planta se utilizaron 18 características cualitativas y cuantitativas, así: como características cualitativas de la vaina se evaluaron el color, la forma, la presencia de hilo, la forma del pico, la cantidad de aristas en la superficie de la sección transversal y el nivel de fibra en las paredes; las características cuantitativas de la vaina fueron la longitud, la forma de la sección transversal, el peso de las valvas secas y el número de semillas. Para las semillas, las características cualitativas evaluadas fueron la forma y el color, mientras que las características cuantitativas fueron la producción (10 plantas accesión⁻¹) y el peso de 100 semillas (con 15 % de humedad). Las características cualitativas consideradas para la planta fueron la floración y el hábito de crecimiento (Muñoz *et al.*, 1993). Como patrones se utilizaron los genotipos comerciales de habichuela Blue Lake (Ferry) y UNAPAL Milenio (G 51158). Las características de las vainas se definieron, establecieron y estandarizaron para los propósitos de este trabajo y no se encontraron antecedentes reportados de trabajos previos.

Los genotipos que se seleccionaron se evaluaron utilizando como marcador genético la faseolina, una proteína de almacenamiento propia de la semilla. Los extractos crudos de proteína se obtuvieron a partir de semilla seleccionada, en los materiales heterogéneos, según el color, la forma y el tamaño, escogiendo aquellas semillas con las características más frecuentes. Los extractos de proteína de semilla para el estudio de faseolinas mediante SDS-PAGE (Laemli, 1970; modificado por Ma y Bliss, 1978) se obtuvieron siguiendo la metodología de Lareo *et al.* (1993). Las electroforesis se realizaron en equipos Miniprotean II® de BioRad (minigeles de 5 cm, 12% de acrilamida, 80 V, 80-100 mA a 8° C durante 1 hora) y Protean II® de BioRad (geles de 16 cm, 15 % de acrilamida, 70 V, 80-100mA a 13° C durante 16 h). Los genotipos con bandas de faseolinas similares en los minigeles se agruparon y luego se compararon en geles de 16 cm contra patrones de faseolina conocidos.

La relación entre las características fenotípicas de la semilla y la presencia de faseolina se determinó siguiendo la metodología de Gepts (1988) y Singh (1989) para frijol común, que consiste en comparar las características de semilla de habichuela (color, forma y tamaño) y las características de semilla registradas como típicas para cada grupo de faseolina a partir de estudios de miles de accesiones de frijol. Paredes y Gepts (1985), siguieron paso a paso esta misma metodología para determinar la introgresión o hibridación entre acervos, pero en el presente estudio se incluyeron las características de la vaina.

Se identificaron los caracteres más frecuentes de 10 vainas por genotipo. Para descartar posibles contaminaciones durante el experimento, se realizó un análisis de isotipos [técnica mediante la cual se analiza la faseolina (proteína de almacenamiento en la semilla) por prueba no destructiva y posterior regeneración; la descendencia o progenie presentará un tipo de faseolina igual al inicial] en las accesiones colectadas originalmente de los atípicos (dos semillas por genotipo). En estos genotipos (tipo de semilla andino y faseolina mesoamericana), las semillas y tipo de faseolina no se ajustaban a la descripción de Gepts (1988). En los tres materiales de los cuales no se disponía de semilla original, se probaron 5 semillas de cada regeneración (10 semillas por genotipo). Se consultaron los datos de pasaporte de los genotipos para establecer su regeneración y tipo de polinización, encontrándose que la fertilización

autógama puede darse en condiciones de cleistogamia o de casmogamia.

Los datos morfológicos cualitativos y cuantitativos se calificaron en escalas categóricas, se transformaron en una matriz de presencia y ausencia con características binarias (0 y 1) para analizarlos mediante clasificación jerárquica (*cluster analysis*) utilizando el programa NTSYS® (Adams *et al.*, 2000) que calcula los datos UPGMA siguiendo el método de agrupamiento. Finalmente, se elaboró un dendrograma mediante el coeficiente de similitud de DICE.

Resultados y discusión

De acuerdo con la comparación de los patrones de bandas de faseolina obtenidos por electroforesis, 53% de los genotipos poseen la configuración “S”, 19% la forma “C”, 17% la forma “T”, 6,9% la forma “CH”, 2% la forma “Sb”, 0,86% la forma “H1” y 0,86% la forma “H(S+1)” (Figura 1).

La mayor frecuencia del tipo S se encuentra en los genotipos procedentes de Estados Unidos, seguidos por los materiales de China, Portugal y Hungría. Estos resultados concuerdan con los registrados por Tofiño y Ocampo (2003) y están en desacuerdo con los registrados para frijol común por Gepts (1988), McClean *et al.* (1993) y Rodiño *et al.* (2001), quienes encontraron proporciones mayoritarias de genotipos andinos en las zonas centro,

este y atlántica de Europa (tipos C y T) (Tabla 1). En el resto de Europa predominan los tipos andinos, lo cual está de acuerdo con lo registrado para el frijol común cultivado en Europa (Gepts, 1988) y particularmente en España (Ocampo *et al.*, 2002) (Tabla 1). Europa es el continente con mayor diversidad de faseolinas (seis tipos), seguido por Asia con cinco, América con cuatro y África con uno (Tabla 1, Figura 1).

No se registró asociación entre las características morfológicas relacionadas con cada tipo de faseolina y el país o zona geográfica de procedencia, ya que no se observaron categorías exclusivas por descriptor en los genotipos procedentes de alguna zona geográfica en particular. Estos resultados son similares a los obtenidos por Paredes y Gepts (1995) en variedades tradicionales de frijol en Chile.

En cada grupo se observó asociación entre el fenotipo y el tipo de faseolina (75% de la muestra) con excepción de los genotipos S atípicos (Tabla 2). Sin embargo, se encontró una baja asociación entre la faseolina y los demás descriptores (Tabla 4). Singh *et al.* (1991a, b) encontraron una alta correlación (>95%) entre los rasgos morfoagronómicos de materiales andinos o mesoamericanos y el tipo de faseolina en frijol común. La comparación del tamaño, la forma y el color de la semilla en los cultivares tradicionales con faseolina tipo S, indica que 25% de estos genotipos son atípicos (Gepts, 1988) (Tabla 2). Veintidós de las variedades tradicionales S tienen características fenotípicas de tipo andino (peso y/o color de la semilla) diferentes de las asociadas con los genotipos mesoamericanos con faseolina S (Tabla 3).

De acuerdo con los resultados de la comparación de las faseolinas y las características de las semillas se puede establecer que 25% de las variedades tradicionales registran flujo de genes del acervo mesoamericano hacia el acervo andino. Este efecto también fue observado en variedades tradicionales de germoplasma chileno de frijol. En este estudio se encontró una introgresión o hibridación de 65% entre los acervos andino y mesoamericano. Dentro del grupo de materiales introgresados se encontraron semillas grandes con faseolina S y genotipos andinos con patrones isoenzimáticos mesoamericanos (Paredes y Gepts, 1995). Además, se encontró el heterocigoto H(S+1) que es una faseolina híbrida entre acervos descubierta recientemente (Ocampo *et al.*, 2000).

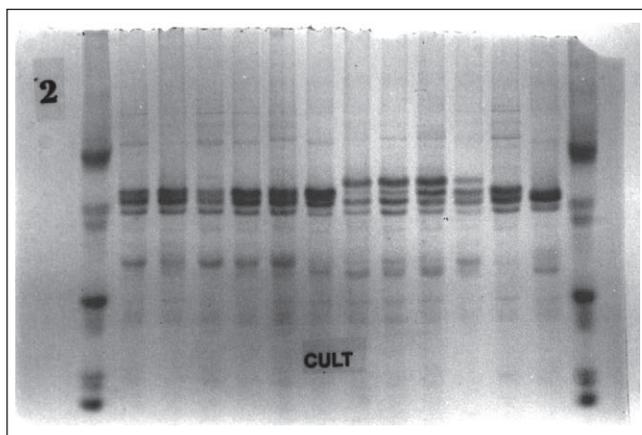


Figura 1. Diversidad de faseolinas por continentes; de izquierda a derecha: carriles 1 a 5 (genotipos asiáticos: G 13431, G 19279, G 18722, G 16421, G 634); carriles 6 a 8 (genotipos americanos: G 15660, G 4205, G 18708); carriles 9 a 14 (genotipos europeos: G 11269, G 18212, G 15779, G 8822, G 9194, G 18848); carril 15 (genotipo africano: G 1014).

Tabla 1. Distribución de faseolinas por continentes.

Región continental	TIPOS DE FASEOLINAS							
	#aces	S	T	C	CH	H	Sb	H(S+1)
Europa mediterránea	18	2	1	11	2	1	1	
Centro este Europa	16	10	1	2	3			
Europa atlántica	6	5		1				
Asia	6	3	3					
China	17	12	2		2		1	
Turquía	16	5	6	4	1			
América*	8	5	1	3				
USA	27	18	6	2				1
África	3	3						
Total accesiones	118	63	20	23	8	1	2	1

Se discrimina la faseolina por continentes excepto la de aquellos países con un número considerable de accesiones.

*Dentro de las accesiones incluidas en el grupo americano solo se encuentran materiales de Colombia y Brasil como representantes de Suramérica.

Tabla 2. Características morfológicas de los materiales con diferentes tipos de faseolina.

Faseolina	Características de la vaina					Características de la semilla		
	R/día	Fv	Hilo	%F	S/V	color	forma	tamaño
S	> 0.6	Variada	Variada	5-18%	5-7	Café, amarillo, blanco, negro	arriñonada, alargada	Pequeño, mediano
S atípico	Variada	Variada	Variada	Variada	Variada	Crema, crema moteado	redondeada, arriñonada	Mediano, grande
T	0.6		No	> 10%	Variada	Café, blanco, crema, moteado, negro	redondas, ovoides	Grande
C	< 0.6	Ondulada- curva	No	10-15%	< 5, 6-7	Moteado, blanco, café	redonda, alargada	Grande
CH	0.6, 0.8	Curvas	Sí	< 15%		Crema, café, moteado, blanco	alargada	Mediana
H1	0.8	Curva	Variada	< 10%	5	Crema moteado	alargada	Grande
HS+1	> 0.6	Recta	Sí	> 20	7	Crema moteado	alargada	Pequeña
Sb	0.8	Recta	Sí	< 15	6	Café, crema	alargada	Mmediana

De los 63 materiales con faseolina tipo S, 46 (84%) son variedades tradicionales, resultado que sugiere que el aporte de los tipos mesoamericanos al acervo genético de la habichuela cultivada es mayor que el aceptado actualmente.

Los países asiáticos (China, Rusia, Turquía e India) contribuyen con el 45,45% de los genotipos atípicos S. Portugal es el país de Europa con la mayor contribución de genotipos híbridos (18,18%), mientras el resto de Europa aporta un 22,72% de los materiales atípicos.

El 9,1% de la muestra corresponde a accesiones de México y Brasil. Zambia contribuye con el 4,54% de los materiales atípicos S. Según Gepts (1988), la dispersión

del frijol en África se originó en Brasil. No obstante, aún cuando los materiales brasileños son S, en África no se observó este tipo de faseolina en el frijol común. En este estudio el 100% de la muestra proveniente de este continente es mesoamericana.

Las características contrastantes se observaron solamente en las variedades tradicionales. A pesar de que la muestra proveniente de Estados Unidos es la más numerosa y con la mayor proporción de genotipos S, las accesiones provenientes de este país no mostraron características híbridas entre los dos centros de origen (77,8% de las accesiones originarias de Estados Unidos son comerciales). Este hecho puede ser suficiente para inferir introgresión entre los genotipos estudiados.

Tabla 3. Características morfológicas de variedades tradicionales que presentan propiedades de semilla atípicas con respecto al tipo de faseolina S.

Acces.	Color flor	Long. vaina (cm)	Dms/Ds	% fibra	Sem/vaina	Peso sem (g)	Color sem.	Hab.	Tpol	País	TF	Forma sem.
G621*	Fb	7,5	0,48	21.54	4,1	23.0	crema	III	A	TUR	S	ALAR
G10134*	FM-FB	12,63	0,48	13.59	5,5	42	Mezcla color	IV	A- C	NLD	S	ALAR
G10214	FR	11.8	0,74	13.12	5,5	45	Mezcla color	IV	A	PRT	S	ALAR
G10220	FM	14,64	0,62	17.94	6,1	48	crema	IV	A	PRT	S	ARRI
G10222	FB	15,5	0,7	12.35	7,6	38.7	crema	IV	A-C	PRT	S	ALAR
G10233	FB	11,71	0,52	8.04	7,9	38	crema	IV	A	PRT	S	ARRI
G13431	FB-FR	11,56	0,57	11.63	5,8	40	blanco	IV	A	CHN	Sb	RED
G14722*	FR	11,15	0,94	18.36	6,3	23	crema	IV	A	ITA	S	RED
G15300	FM	11,49	0,76	6.98	7,5	26	Mezcla color	IV	A	ZMB	S	ALAR
G15660	FB	10,33	0,53	22.77	4,3	30	moteado	III	A	MEX	S	ALAR
G15913	FB	13,55	0,68	16.69	5,4	39.1	blanco	IV	A	NLD	S	ARRI
G17861	FM	12,5	0,97	17.54	6,5	32.5	crema	III	A-C	HUN	S	ALAR
G18212	FB	13,12	0,68	5.14	6,2	29	crema	IV	A	ESP	Sb	ALAR
G19268	FB	11,4	0,74	13.25	4,9	41	moteado	IV	A	SUN	S	RED
G19279	FM	9,4	0,77	7.75	4,7	44	Mezcla color	IV	A-C	CHN	S	ALAR
G20401	FB	11,03	0,54	15.54	5,8	29	crema	IV	A-C	CHN	S	ALAR
G20624	FB	15,4	0,87	14.87	7,6	31	crema	IV	A	IND	S	ALAR
G23952	FB	14,5	1,12	10.24	6,9	39	crema	IV	A-C	CHN	S	ALAR
G24544	FB	14,66	0,69	8.29	6,4	41.4	moteado	IV	A-C	CHN	S	ALAR
G50638	FM	10,35	0,71	5.5	5,2	35.9	moteado	IV	A	CHN	S	ALAR
G50639	FM	12	0,64	20.14	6,1	30.5	moteado	IV	A	CHN	S	ALAR
G50640	FM	14,75	0,6	10.84	6,7	30	moteado	IV	A	CHN	S	ALAR

*Las accesiones que se han señalado con asterisco, no presentan hilo o lo presentan en sólo algunas vainas. Las mezclas de colores y los moteados incluyen colores crema.

DMS/Ds=relación entre diámetros de la vaina. Tpol= Tipo de polinización. F. Sem.= forma de semilla. TF: tipo de faseolina. Hab.=hábito de crecimiento. Acces.=número de accesión en el banco de germoplasma URG- CIAT.

Los materiales híbridos se sometieron a una prueba de isotipos, por lo que todos los genotipos utilizados para este análisis se regeneraron previamente en diferentes localidades. Quince (15) de ellos mostraron fertilización autógena abierta, siete parecen presentar condiciones tanto de cleistogamia como de casmogamia, y ninguno de los materiales atípicos mostró fertilización estrictamente cleistogámica (Tabla 5). En materiales cultivados de frijol se han registrado porcentajes promedio de alo-gamia entre 4,41 y 28,5%, e incluso valores extremos del 70%. En frijol silvestre se registran porcentajes inferiores al 5% (Piedrahita, 1993; Wells *et al.*, 1988; Ibarra *et al.*, 1997) (Tabla 4).

El análisis de las semillas colectadas originalmente mediante la metodología de regeneración de semilla y

de isotipos hizo evidente que hay diferencias en la coloración entre regeneraciones, aunque los genotipos no variaron de tamaño. El tipo de faseolina es el mismo de las muestras iniciales. Tanto el fenotipo como los patrones electroforéticos son similares en los isotipos y en los muestreos realizados para cada genotipo.

La discriminación morfológica de los genotipos atípicos sólo permite distinguir los materiales con semillas grandes, redondeadas y con colores crema, y los de semilla pequeña con colores negro, blanco y café (Figura 2). Con el análisis simultáneo de los caracteres de semilla y las bandas de faseolina se generan cuatro grupos, así: (1) Materiales con semillas grandes y redondeadas, de colores crema o café claro y faseolina andina (carriles 2 a 5); (2) materiales con semillas pequeñas y alarga-

Tabla 4. Estadísticas de las características morfológicas de 116 accesiones de habichuela según el tipo de faseolina presente.

Fos	DF	CF	HC	CV	FV	FS	CS	HILO	FP	LV	RD	#SV	PS
T													
X	0.5(1)	0.64(1)	0.5(4)	0.71(1)	0.14(1)	0.14(8)	0.28(1)	0.57(1)					
	0.5(2)	0.28(2)	0.5(3)	0.21(2)	0.07(3)	0.28(10)	0.16(4)	0.5(2)	0.28(2)	10.36	0.65	5.2	38
		0.07(3)		0.08(3)	0.28(4)	0.57(1)	0.21(5)	0.22(3)	0.14(3)				
					0.5(5)		0.28(6)						
σ										2.04	0.15	0.93	6.2
R										(7.93–14.6)	(0.47–0.99)	4.0–6.5	28–50
C													
X	0.66(1)	0.5(1)	0.38(4)	0.78(1)	0.11(1)	0.56(1)	0.06(2)	0.27(1)	0.61(1)				
	0.28(2)	0.22(2)	0.55(3)	0.17(2)	0.44(4)	0.16(5)	0.27(3)	0.11(4)	0.21(2)				
	0.05(3)	0.16(3)	0.06(2)	0.05(3)	0.39(5)	0.05(8)	0.16(59)	0.07(3)	0.16(3)				
		0.11(4)				0.22(10)	0.38(6)						
σ										9.57	0.54	4.4	42
R										2.13	0.17	1.13	9.9
										(6.8–14.3)	(0.3–0.91)	(2.5–7.9)	(21–61)
HI													
X	1.0(2)	1.0(1)	1.0(3)	1.0(2)	1.0(4)	1.0(8)	1.0(6)	1.0(2)	1.0(2)		0.57	5.7	55
TA	0.58(1)	0.57(1)	0.42(4)	0.73(1)	0.12(1)	0.13(8)	0.12(1)	0.27(1)	0.57(1)				
	0.39(2)	0.24(2)	0.55(3)	0.22(2)	0.03(3)	0.58(1)	0.19(3)	0.16(4)	0.27(2)				
	0.03(3)	0.12(3)	0.03(2)	0.05(3)	0.40(4)	0.25(10)	0.19(5)	0.61(29)	0.15(3)				
		0.07(4)			0.43(5)		0.32(6)	0.12(3)					
							0.04(2)						
σ										9.12	0.52	4.31	39.3
R										2.58	0.18	1.47	11.5
										(6.9–14.6)	(0.3–0.9)	(2.5–7.9)	(21–61)
S													
X	0.27(1)	0.57(1)	0.85(4)	0.20(1)	0.14(1)	0.34(8)	0.15(1)	0.84(1)	0.20(1)				
	0.34(2)	0.09(2)	0.11(3)	0.70(2)	0.09(2)	0.27(5)	0.09(2)	0.18(3)	0.61(2)				
	0.39(3)	0.30(3)	0.04(2)	0.10(3)	0.02(3)	0.39(10)	0.15(4)	0.07(2)	0.18(3)				
		0.046(4)			0.4(4)		0.18(5)	0.09(3)		11.92	0.72	6.19	31.7
				0.35(5)		0.18(6)	0.068(7)						
σ										2.46	0.17	1.40	6.8
R										(4.4–17.6)	(0.39–1.17)	(1.5–8.0)	(20–48)
Sb													
X	0.5(1)	0.5(1)	1.0(4)	0.5(1)	1.0(2)	0.50(8)	0.5(3)	1.0(1)	0.50(2)	12.03	0.71	6.22	31.6
	0.5(3)	0.5(3)		0.5(2)		0.50(5)	0.5(6)		0.50(3)				
σ										2.45	0.18	1.3	7.8
R										10–13	0.63–0.67	5.8–6.2	29–40
CH													
X	0.16(1)	0.66(1)	0.83(4)	0.33(1)	0.83(4)	0.34(5)	0.33(3)	1.0(1)	0.66(1)	11.53	0.71	5.91	30.4
	0.5(2)	0.34(3)	0.17(3)	0.33(2)	0.17(5)	0.13(8)	0.33(4)		0.34(2)				
	0.34(3)			0.33(3)		0.51(10)	0.16(5)						
							0.16(6)						
σ										2.84	0.18	1.54	7.7
R										7.5–14.65	0.61–0.83	3.3–7.8	32–40
TM													
X	0.25(1)	0.59(1)	0.85(4)	0.23(1)	0.14(1)	0.32(8)	0.14(1)	0.85(1)	0.27(1)				
	0.37(2)	0.09(2)	0.03(2)	0.66(2)	0.09(2)	0.29(5)	0.07(2)	0.20(3)	0.57(2)				
	0.38(3)	0.31(3)	0.12(3)	0.12(3)	0.02(3)	0.06(1)	0.18(4)	0.075(2)	0.16(3)				
		0.01(4)			0.44(4)	0.33(10)	0.17(5)	0.075(3)		11.51	0.70	5.95	31.2
				0.30(5)		0.19(6)	0.08(7)						
σ										3.07	0.19	1.68	8.3
R										4.4–17.6	0.39–1.17	1.5–8	20–48

Cada columna corresponde a un descriptor. La fracción decimal corresponde a la frecuencia y el número entre paréntesis a la categoría del descriptor.

Tabla 5. Datos de pasaporte de los materiales con tipo de semilla andino y con faseolina mesoamericana.

Accesión	Fecha de regeneración	Número de entradas	Polinización
G621	Palm 1988	1	Abierta
G10134	Tenerife 1991	2	Abierta/cerrada
G10214	Tenerife 1991	1	Abierta
G10220	Tenerife 1991	1	Abierta
G10222	Tenerife 1991	2	Abierta/cerrada
G10233	Tenerife 1991	1	Abierta
G13431	Tenerife 1994	3	Abierta
G14722	Popayan 1992	2	Abierta
G15300	Tenerife 1997	2	Abierta
G15660	Palm 1984	2	Abierta
G15913	Popayan 1989	2	Abierta
G17861	Tenerife 1997	2	Abierta/cerrada
G18212	Tenerife 1999	3	Abierta
G19268	Tenerife 1992	1	Abierta
G19279	Palm 1985 inv	2	Abierta/cerrada
G20401	Tenerife 1994	2	Abierta/cerrada
G20624	Popayan 1992	2	Abierta
G23952	Tenerife 1993	2	Abierta/cerrada
G24544	Tenerife 1993	2	Abierta/cerrada
G50638	Palm 2001	2	Abierta
G50639	Palm 2001	2	Abierta
G50640	Palm 2001	2	Abierta

El número de entrada significa el número de regeneraciones que ha tenido el material. En el cuadro se tiene en cuenta la última regeneración que aparece en la base de datos del Banco de germoplasma URG-CIAT. Los datos de polinización con calificaciones contrastantes en un mismo genotipo se deben a las diferencias ocurridas durante las regeneraciones (CIAT, 2002).

das, de colores blanco, negro o café oscuro y faseolina mesoamericana (carril 6); (3) materiales con semillas grandes y redondeadas, de colores crema, café claro y faseolina mesoamericana (carriles 7 a 14; y, (4) el material con fenotipo mesoamericano y faseolina híbrida andino x mesoamericano [H(S+1)]. Este último tipo de faseolina ha sido registrado en frijol por Ocampo *et al.* (2000). La combinación de la descripción morfológica con los patrones de bandas de las faseolinas hizo posible una clasificación detallada de los materiales estudiados en seis grupos de faseolinas diferentes y un subgrupo dentro de las faseolinas S.

Se agruparon los genotipos en nueve (9) grupos con tipos de faseolina procedentes de ambos acervos. El cri-

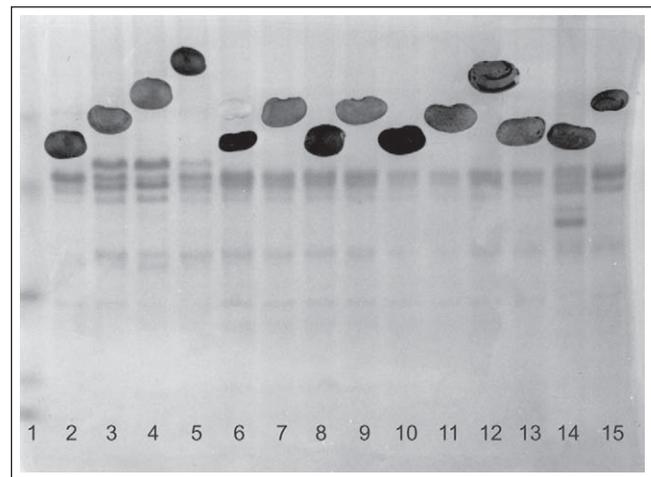


Figura 2. Comparación electroforética entre los patrones de faseolina encontrados en el estudio y los fenotipos correspondientes: 1) Marcador de masa molecular; 2) G19328 (CH); 3) G15779 (H1); 4) G625 (T); 5) G10264 (C); 6) G3736 (S típico, negro); 7) G17420 (S típico, blanco); 8) G10134 (S atípico); 9) G621 (S atípico); 10) G19268 (S atípico); 11) G14722 (S atípico); 12) G10220 (S atípico); 13) G19279 (S atípico); 14) G50638 (S atípico), 15) G18212 (Sb atípico), G8776 (H[S+I]).

terio para seleccionar el coeficiente de similaridad utilizado para la partición de los grupos (0.53) se estableció con base en las características de la vaina que resultaron discriminantes entre grupos (Tabla 6). Las características de la vaina son las de mayor importancia dentro de la variabilidad genética de la habichuela (Myers y Baggett, 1999). Los testigos Milenio y Blue Lake corresponden al grupo H, conjuntamente con otros 14 genotipos. Las mejores características para el mercado en fresco colombiano las presentaron las accesiones G9069 y G3946.

Algunas características morfológicas (forma de la sección transversal de la vaina, fibrosidad, tamaño de la semilla y longitud de la vaina) son comunes a las accesiones provenientes de la misma zona geográfica, lo cual está relacionado con el hábito de consumo de las zonas de procedencia (Tabla 7); este resultado también fue registrado por Tofiño (2004). Se observó heterogeneidad en la fibrosidad de los genotipos dentro de la mayoría de los grupos, excepto en los grupos B, C, D, F (Tabla 6). La descripción morfológica en *Phaseolus* ha sido clave para la determinación de los acervos (Singh, 1989), las razas (Singh *et al.*, 1991a), la variabilidad genética, (Singh *et al.*, 1991b) y para estimar las tasas de alogamia (Piedrahita, 1993).

Tabla 6. Características morfológicas y bioquímicas comunes a los genotipos de habichuela agrupados por UPGMA de acuerdo con su similaridad morfológica.

Grupo	Faseolina	Accesión	Características morfológicas	Alelos comunes
A	C, T, S.	G211, G634, G3747, G217, G18848, G373, G621, G587, G50633, G10165, G15778, G10181, G50636, G18220, G20132, G50634, G50635, G9218, G15854, G371, G1727, G8822, G5760, G10264	I-II fibra, sin hilo, vaina curva y plana (0.66), elípticas (0.44), bajo número de semillas/vaina (> 5), sem. redonda, mediana o grande, color crema, blanca, moteado.	PRX (98)*, PGI-1 (100)*, MDH 1-2 (100).
B	T	G625, G16487.	Flor rosada, vainas cortas, planas, fibrosas, con bajo número de semilla/vaina, sem. mediana y elíptica.	DIAP 1 (100), PRX (98), 6PGDH (100), ACP 2 (100), ME (98), PGI 2 (96), PGI 1 (100).
C	S, Sb, CH, H(S+1) C, T	G922, G8829, G8991, G10233, G17915, G10222, G20404, G20624, G928, G4500, G18212, G2926, G5763, G6726, G13597, G8776, G50641, G11284, G19328, G15905, G18722, G20365.	Flor blanca, vainas: II fibra, con hilo, elípticas o ligeramente aplanadas, número de semilla/vaina y tamaño similar a los testigos, semilla mediana, alargada o arriñonada, colores crema, café, moteado y mezcla de colores por genotipo.	DIAP (95)*, PRX (98)*, 6PGDH (100)*, ACP 2 (100), MDH 1-2 (100)*.
D	S, T	G17750, G23627, G23952.	Flor blanca, fibra I, vainas curvas, redondas, número de semilla/vaina similar a los testigos, forma arriñonada, colores moteados y medianas.	DIAP (95), ME (100), MDH 1 (100), PRX (98), PGI 2 (96), 6PGDH (100), ACP 2 (100).
E	S, CH, T, C.	G1610, G11286, G19093, G15660, G19268, G18215, G18874, G9604, G16831, G18894, G20120, G20401, G20066, G13450, G15913, G14577, G16421, G17420, G50796, G10214, G19279, G24543, G24542, G50638.	Fibrosidad variada, vainas planas principalmente o elípticas, forma curva o variada, bajo a intermedio número de semilla/vaina, semilla mediana principalmente o grande, forma de semilla variable, mezcla de colores y moteados por genotipos.	DIAP (95), PRX (98), 6PGDH(100), PGI 1(100)*, MDH1(100)*, SKDH(103)* ACP2(100)*.
F	S, C.	G10310, G13431, G15801, G20330.	Vainas planas, poco curvadas, medianas, fibra II, número de semilla/vaina similar a los testigos. Semillas alargadas, colores crema y café.	PRX(98), SKDH(103), 6PGDH(100), MDH1-2 (100).
G	S.	G16389, G50639, G50640, G23953, G24544.	Vaina ligeramente aplanadas, tamaño y número de semilla/vaina similar a los testigos, fibrosidad variable, semilla mediana, alargada, moteada.	PRX(98), ACP2(100), 6PGDH(100), MDH 1-2 (100).
H	S, C.	MILENIO, BLUE LAKE, G3946, G620, G17723, G8228, G8992, G20400, G16806, G9069, G9545, G17646, G17647, G18540, G8757, G17374.	Flor blanca, fibra I, II, vainas onduladas, levemente curvas y redondas, tamaño mediano o largo, semillas blancas, pequeñas-medianas, alargadas-arriñonadas.	PRX (98), ACP2(100), MDH2(100).
I	S, CH, T, H, C.	G11269, G18708, G14836, G15779, G1014, G3736, G4205, G4225, G50637, G15300, G14722, G9180, G9194, G9353, G17769, G17861, G10134, G10220.	Índice de similaridad (< 0.55), presentan características morfológicas menos frecuentes de la muestra y con alta variación por genotipo. Tamaño de vaina mediano, vainas elípticas, fibrosidad variable, número de semillas/vaina similar a los testigos (6-9).	PRX (98), ACP2(100), 6PGDH(100), PGI1(100)*, MDH1(100)*, MDH2(100).

Los alelos indicados en cada grupo son comunes a todas las accesiones que lo componen, excepto aquellos señalados con *: éstos presentan alelos diferentes a los que aparecen indicados en uno o más genotipos.

Tabla 7. Características cuantitativas de las accesiones de habichuela según la zona geográfica de procedencia.

# Acc.	Zona geogr.	Longitud vaina	Desv. Long/vaina	Rango L/V	Dsutura	Desv. Dsutura	Rango Dsutura	D/valvas	Desv. D/valvas	Rango D/valvas	DV/DS	Desv. DV/DSs
16	Tur	10,31	2,81	(4,4--14,35)	10,44	2,25	(6,4--14,7)	6,58	1,54	(4,36--9,2)	0,64	0,18
17	CHN	12	2,49	(7,5--15,63)	10,12	1,61	(7,53--13,8)	11,06	1,61	(4,34--8,39)	0,70	0,16
6	Asia	11,32	2,73	(8--15,4)	8,59	0,29	(8,13--8,95)	4,97	1,62	(3,22--5,169)	0,57	0,18
27	USA	11,92	1,64	(9,5--17,6)	7,13	1,03	(5,92--10,2)	5,50	1,01	(3,74--8,21)	0,77	0,14
7	América	10,85	1,75	(7,6--11,13)	8,34	2,69	(5,8--14,6)	5,90	1,80	(4,2--9,8)	0,71	0,16
42	Europa	10,73	2,50	(6,0--15,5)	8,70	2,01	(5,35--14,25)	5,42	1,18	(3--7,9)	0,64	0,15
3	África	11,26	2,15	(9--13,3)	6,57	0,94	(5,49--7,2)	4,41	0,88	(3,67--5,4)	0,67	0,13

# Acc.	Zona geogr.	Rango DV/DS	#Sem/vaina	Desv. #Sem/vaina	Rango #Sem/vaina	Px Sem	Des. Sem	Rango Sem	Pes. Sem/valvas	D/Psvalvas	Rango Psvalvas
16	Tur	(0,41---1,0)	4,73	1,25	(3,3--6,2)	38,49	9,72	(23--57,6)	16,75	7,09	(5,2--37,31)
17	CHN	(0,54---1,12)	5,78	1,36	(3,3--7,99)	35,1	7,03	(20--44)	11,98	4,26	(5,16--20,14)
6	Asia	(0,39--0,87)	6,1	0,93	(5,3--7,6)	32,4	4,27	(28--39)	13,54	1,94	(10,44--15,4)
27	USA	(0,50--1,05)	6,94	0,86	(4,6--8,2)	29,82	6,71	(24,3--50)	15,32	5,68	(7,13--26,93)
7	América	(0,51--0,95)	5,85	1,50	(3,1--7,9)	29,95	6,76	(20--38)	15,48	5,34	(6,79--22,77)
42	Europa	(0,36--0,98)	5,25	1,42	(2,6--7,9)	37,28	10,08	(20--61)	13,62	5,22	(1--24,33)
3	África	(0,52--0,76)	7,43	0,40	(7--7,8)	26,36	3,46	(23,1--30)	9,66	2,39	(6,98--11,59)

Se han reportado niveles entre bajos y moderados de polinización cruzada en diferentes especies del género *Phaseolus*. Parece que las hibridaciones y recombinaciones producidas en las progenies de cruzamientos entre genotipos con faseolina S y T originaron la aparición de la faseolina C. Este tipo de hibridación pudo haber ocurrido gracias al contacto entre grupos humanos suramericanos y mesoamericanos que se estima ocurrió entre 3.500 y 5.000 años A. C. (Koenig *et al.*, 1990).

La hibridación natural de los materiales de fríjol y habichuela sugiere que este proceso no se llevó a cabo únicamente en los centros secundarios de domesticación. Los materiales híbridos se han observado en estudios de variedades tradicionales de fríjol común en diversas regiones. Posiblemente algún porcentaje del material fenotípicamente andino, introducido desde América a Europa, portaba genes mesoamericanos producto de hibridaciones entre acervos. Se han encontrado híbridos con morfología andina y faseolina mesoamericana, así como materiales con morfología mesoamericana y faseolina andina (Singh *et al.*, 1991a, b; Paredes *et al.*, 1995).

Los resultados indican la ocurrencia de introgresión de genes del acervo mesoamericano en los materiales desarrollados en los centros secundarios de domesticación; en cada uno de los centros estudiados se encontraron genotipos híbridos. Además, se encontró un aporte importante del acervo mesoamericano al germoplasma de habichuela. Se sugiere hacia el futuro que se estudien las accesiones de cada centro secundario de domesticación, pues existen muy pocos registros filogenéticos exclusivos de la habichuela. Los resultados de este trabajo discrepan de los obtenidos para el fríjol común por otros autores. Es necesario verificar si los materiales seleccionados como habichuela en algunos centros secundarios de domesticación experimentaron procesos de origen y dispersión diferentes a los del fríjol común.

Agradecimientos

Los autores agradecen al proyecto Bancos Genéticos de Hortalizas -DINAIN 2000- por la financiación del proyecto, y a los profesores Sara Mejía de Tafur y Yamel López de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, por la revisión del manuscrito.

Bibliografía

- Adams, D.; J. King; R. Jensen; L. Marcus; D. Slice y J. Walker. 2000.** Biostatistics Applied, NTSYS pc 2. 10 p.
- Agudelo, O. y G. Montes De Oca. 1988.** El cultivo de la habichuela. Guía para producción de hortalizas. ASIAVA, Palmira.
- CIAT. 2002.** Bases de datos del germoplasma de frijol. URG (CIAT), Cali, Colombia.
- Gepts, P. 1988.** Phaseolin as an evolutionary marker. En: Genetic Resources of Phaseolus Beans. P. Gepts (ed.), CIAT, Cali, pp. 215-241.
- Gepts, P. y F. Bliss. 1988.** Dissemination paths of common bean (*Phaseolus vulgaris*) deduced from phaseolin electrophoretic variability. II: Europe and Africa. Economic Botany 42, 86-104.
- Ibarra, F.; E. Bahman y H. Waines. 1997.** Estimation of outcrossing rate in common bean. Crop Science 37, 60-65.
- Koenig, R.; S. Sing y P. Gepts. 1990.** Novel phaseolin types in wild and cultivated common bean *Phaseolus vulgaris*. Economic Botany 44, 50- 60.
- Laemli, U.K. 1970.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227, 680-685.
- Lareo, L.R. ; A. González; E. Barona y S. Beebe. 1993.** Fast and reliable one and two dimensional electrophoretic parameters for phaseolin type identification. CIAT, Annual Report Bean Improvement Cooperative 36, 8-9.
- Ma, Y. y F. Bliss. 1978.** Seed proteins of common bean. Crop Science 17, 431- 437.
- Mc Clean, P.; J. Myers y J. Hammond. 1993.** Coefficient of parentage and cluster analysis of North American dry beans cultivars. Crop Science 33, 190-197.
- Myers, J.R. y J.R. Baggett. 1999.** Improvement of snap bean. En: Shree P. Singh (ed.). Developments in plant breeding: common bean improvement in the twenty- first century.
- Muñoz, G.; G. Giraldo y J. Fernández de Soto. 1993.** Descriptores varietales: Arroz, frijol, maíz y sorgo. CIAT, Cali.
- Ocampo, C.; O. Toro y D. Debouck. 2000.** New sources of phaseolin variation found in populations of *Phaseolus vulgaris* L., collected in its primary center of diversity. CIAT - Annual Report Project on Saving Biodiversity SB-01. Cali, pp. 55-56.
- Ocampo, C.; J. Martín; J. Ortiz; M. Sánchez; O. Toro y D. Debouck. 2002.** Possible origins of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivated in Spain: relation to the wild genetic pools of the Américas. Bean Improvement Cooperative. Annual Report 45, 236-237.
- Paredes, M. y P. Gepts. 1995.** Extensive introgression of mMiddle american germplasm into Chilean common bean cultivars. Genetic Resources and Crop Evolution 42, 29- 41.
- Piedrahita, B. 1993.** Aporte a la estimación de la tasa de alogamia en *Phaseolus vulgaris* L. Forma silvestre. Tesis de Biología, Universidad del Valle.
- Ramírez, D. 1982.** Evaluación del potencial genético en habichuela *Phaseolus vulgaris* L. Trabajo de grado, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira.
- Rodiño, A.; M. Santalla; I. Montero; P. Casquero y A. de Ron. 2001.** Diversity of common bean *Phaseolus vulgaris* L. germplasm from Portugal. Genetic Resources and Crop Evolution 48, 409- 417.
- Silbernagel, M.; W. Janssen; J. Davies; G. Montedoca. 1991.** Snap bean: Production in the tropics implications for genetic improvement. En: Van Schonhoven, A. y O. Voysest (eds.). Common beans: research for crop improvement. CAB-CIAT, Cali.
- Singh, P. 1989.** Patterns of variation in cultivated common bean *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae). Economic Botany 43(1), 39-57.
- Singh, S.; P. Gept y D. Debouck. 1991a.** Races of common bean *Phaseolus vulgaris*. Economic Botany 45, 379-396.
- Singh, P.; J. Gutiérrez; A. Molina; C. Urrea y P. Gepts. 1991b.** Genetic diversity in cultivated common bean: II Marker- based analysis of morphological and agronomic traits. Crop Science 31, 23- 29.
- Tofiño, A. y C. Ocamp. 2003.** Possible contribution of mesoamerican phenotype in snap beans cultivated in secondary centers. Annual Report Bean Improvement Cooperative 46, 127-128.
- Tofiño, A. 2004.** Estudio de la variabilidad genética de la habichuela *Phaseolus vulgaris*, mediante descriptores morfológicos y bioquímicos. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias con énfasis en Recursos Fitogenéticos Neotropicales. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira.
- Traka-Mavrona, E.; D. Georgakis; G. Spanomitsios y M. Koutsika-Sotiriou. 2002.** Pre-breeding manipulations for pod yield stability in a snap bean cultivar. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 77(6), 641-648.
- Wells, W.C; W. Isom y J. Waines. 1988.** Outcrossing rates of six common bean. Crop Science 28, 177-178.