



**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
FACULTAD DE AGRONOMIA  
COMISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO  
DOCTORADO EN CIENCIAS AGRICOLAS**

**DESARROLLO DE POBLACIONES PREMEJORADAS DE  
AMPLIA BASE GENÉTICA EN CARAOTA (*PHASEOLUS  
VULGARIS L.*)**

**ADA MAUREEN MEDINA MOLINA**

**Maracay, Julio 2016**

Tesis Doctoral presentada como requisito final para optar al título de Doctor en Ciencias Agrícolas.

## **COMITÉ CONSEJERO**

**Dra. Margaret Gutiérrez**

**Dra. Rosana Figueroa**

**Dra. Catalina Ramis**

## DEDICATORIA

*A mi hijo Javier por su alegría, sus palabras de entusiasmo, su gran amor,  
por ser lo más hermoso que Jehová Dios me ha dado en la vida.*

*A mi mamá 'adita' por su amor incondicional, apoyo constante  
y gran bondad.*

*A la memoria de mi querido padre, ejemplo de fortaleza  
con la esperanza de encontrarnos nuevamente  
y como dice la canción 'dance with my father again' ...*

## AGRADECIMIENTO

A mi Dios Jehová por ser la Fuerza que guía todos mis pasos.

A la Universidad Central de Venezuela (UCV), magna casa de estudios por fortalecer mi capacitación como docente y profesional.

De manera especial a Catalina Ramis, por constante orientación, excelente persona, ejemplo de compromiso, responsabilidad y profesionalismo.

A Delis Pérez por su entusiasmo y solidaridad constante, así como al personal que labora en la Unidad de Recursos Genéticos INIA-CENIAP, especialmente Melania Espinoza y Nayiri Camacaro, por su apoyo en el suministro y manejo eficaz de los recursos fitogenéticos.

Al Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), prestigioso centro que me permitió participar en sus instalaciones y conocer personas con un nivel de organización, compromiso, calidad humana y rigurosidad científica, muy especialmente a César Cajiao, Miguel Grajales, Victoria Arredondo, Juan Miguel Bueno y Carlos Jara.

Con respeto por su gran profesionalismo a Luis Angulo y a Angela Bedoya por su asesoramiento y contribución durante el ensayo con marcadores moleculares.

Mi más sincero agradecimiento a personas que me apoyaron en distintas etapas durante la realización del trabajo, especialmente a Carlos Hamón, en la ejecución de cruzamientos dirigidos, actividades de campo, toma de fotografías y trabajo de laboratorio. Asimismo, a José Manosalva por su apoyo en las actividades de campo y caracterización morfológica. A Perling Lagarde y Oriana Bello por su oportuna ayuda en los ensayos de resistencia y marcador molecular. A Aleska García por su valiosa colaboración en la caracterización morfológica y transcripción de datos.

Deseo agradecer con mucho respeto a Anna Maselli y a Nohants Rumbos por su excelente contribución y gran apoyo en la obtención de aislamientos para los ensayos de resistencia, así como a María Cecilia Perdomo, Paola Artioli, Samuel Garcés, Maritza Colmenares y al personal de la Unidad de Protección Vegetal del INIA – CENIAP por su contribución durante el montaje, ejecución y evaluación de los ensayos.

A todas aquellas personas, quienes de una manera u otra contribuyeron para el logro de la meta que hoy culmino.

## RESUMEN

Con el fin de desarrollar poblaciones premejoradas de amplia base genética con alelos de interés, se caracterizaron 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) que incluyeron variedades locales, semidomesticadas, comerciales y líneas avanzadas. La caracterización morfológica incluyó 20 descriptores (entre cualitativos y cuantitativos) durante todos los estados fenológicos de la planta. Asimismo, se evaluó su resistencia a la bacteria *Xanthomonas phaseoli* midiendo el tamaño de mancha y porcentaje de área foliar afectada para estimar momento de máxima intensidad de la sintomatología, calcular área bajo la curva de progreso de la enfermedad y promedio. Para la tolerancia al hongo *Macrophomina phaseolina* se usó el método de hojas cotiledonales desprendidas *in vitro*, tomando en cuenta el tamaño de hoja y mancha, para calcular el índice longitud hoja: longitud mancha. También se realizó una caracterización de la diversidad genética con el uso de 22 marcadores microsatélites. Para el procesamiento general de los datos se usó estadística descriptiva, análisis de varianza, comparación de medias (Duncan), análisis de componentes y coordenadas principales, y análisis de conglomerados, usando el programa estadístico PAST. También se representaron gráficamente con histogramas de frecuencia los caracteres morfológicos cualitativos y dinámica de avance de la enfermedad bacteriana. Esta información permitió seleccionar ocho accesiones con características favorables que fueron utilizadas como progenitores en un diseño de cruzamiento tomando en cuenta la distancia genética calculada con base a marcadores moleculares, la resistencia a *X. phaseoli* y *M. phaseolina*, así como caracteres morfológicos de interés. Se logró la formación de dos poblaciones tetraparentales premejoradas para múltiples características mostrando amplia variabilidad genética. Estas poblaciones aportaran germoplasma útil con combinaciones alélicas diversas para un programa de mejoramiento genético en caraota.

Palabras clave: Bacteriosis común, caracterización morfológica, diseño de cruzamiento, diversidad genética, *Phaseolus vulgaris*, premejoramiento, pudrición carbonosa, resistencia genética.

## ABSTRACT

In order to develop basic populations with broad genetic base and desirable traits in a pre breeding program, 102 common bean accessions (*Phaseolus vulgaris* L.) were characterized comprising local varieties, semi domesticated, commercials and advance lines. Morphological characterization included 20 descriptors (both qualitative and quantitative) along the whole phenological state of the plant. The resistance to *Xanthomonas phaseoli* was also evaluated, measuring lesion size and disease leaf area to estimate time of maximum intensity of symptoms, area under disease progress curve and average. For *Macrophomina phaseolina* resistance studies, the cotyledonal detached leaf *in vitro* method was used, considering both leaf spot and leaf size, to estimate leaf size: leaf spot index. A characterization of genetic diversity using 22 microsatellite markers was also evaluated. Descriptive statistics, variance analysis, Duncan multiple range test, also principal component, principal coordinate and cluster analysis with the statistical package PAST were generally performed to process the data. In addition, a frequency histogram for qualitative morphological characters and the bacterial disease development were graphically represented. Based in these results, eight accessions with desirable traits were selected as parents and arranged in an inter-crossing design considering genetic distance according to molecular markers, resistance to *X. phaseoli* and *M. phaseolina*, and also morphological characters of importance. Two tetra- parental pre breeding populations were produced in recombinants showing broad diversity. These populations will provide useful germplasm resource with diverse allelic combinations for a common bean breeding program.

Key words: charcoal rot, common Bacterial blight, genetic diversity, genetic resistance, inter crossing design, morphological characterization, *Phaseolus vulgaris* L., pre breeding.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	<b>Página</b>
Portada.....	i
Comité Consejero.....	ii
Veredicto.....	iii
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento.....	vi
Resumen.....	v
Abstract.....	vi
Índice de Contenido.....	vii
Índice de Cuadros.....	xi
Índice de Figuras.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO GENERAL.....	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
1. Generalidades de la Caraota.....	6
1.1. Características Taxonómicas y Botánicas.....	6
1.2. Origen y Domesticación.....	7
1.3. Diversidad Genética.....	7
1.3.1. Diversidad Interespecífica.....	7
1.3.2. Diversidad Intraespecífica.....	8
1.4. Consumo y Producción.....	9
1.5. Factores Limitantes.....	10
1.5.1. Factores Abióticos.....	10
1.5.2. Factores Bióticos.....	11
1.5.2.1. Enfermedades Virales.....	11
1.5.2.2. Enfermedades Bacterianas.....	11
1.5.2.3. Enfermedades Fúngicas.....	12

1.5.2.4. Insectos Plaga.....	13
2. Recursos Fitogénéticos.....	13
2.1. Colecciones de Germoplasma y su Importancia.....	14
2.2. Cultivares de Caraota y Programas de Mejoramiento en Venezuela.....	15
3. Premejoramiento.....	17
3.1. Fuentes de Diversidad Genética.....	18
3.1.1. Materiales Silvestres.....	18
3.1.2. Especies Relacionadas.....	19
3.2. Estrategias para Desarrollar Poblaciones Premejoradas de Amplia Base Genética.....	20
3.2.1. Introgresión de Genes a Partir de Germoplasma Exótico.....	21
3.2.2. Piramidización de Alelos Favorables de Diferentes Fuentes.....	22
3.2.3. Mejoramiento Simultáneo de Múltiples Caracteres.....	23
 MATERIALES Y MÉTODOS.....	 25
1. Material Vegetal.....	25
2. Caracterización agromorfológica de accesiones de caraota con base en los descriptores morfológicos recomendados por el IPGRI.....	25
2.1. Evaluación Morfológica.....	30
3. Identificación de germoplasma con resistencia a la bacteriosis común ( <i>Xanthomonas phaseoli</i> ).....	30
3.1. Preparación de Inóculo.....	30
3.2. Método de Inoculación.....	31
3.3. Evaluación de resistencia a <i>Xanthomonas phaseoli</i> .....	31
4. Identificación de germoplasma con resistencia a la pudrición carbonosa ( <i>Macrophomina phaseolina</i> ).....	32
4.1. Obtención de aislamientos puros de <i>Macrophomina phaseolina</i> .....	33
4.2. Método de Inoculación.....	33
4.3. Evaluación de resistencia a <i>Macrophomina phaseolina</i> .....	34
5. Caracterización de la diversidad genética mediante el uso de marcadores moleculares tipo microsatélite.....	34
5.1. Extracción de ADN.....	34

5.2. Marcadores Microsatélites.....	35
5.3. Amplificación de PCR.....	32
	35
5.4. Evaluación molecular.....	35
6. Diseño de esquemas de cruzamiento para la obtención de poblaciones premejoradas de amplia base genética, con resistencia a la Bacteriosis común y la pudrición carbonosa, para su posterior utilización en programas de mejoramiento de caraota.....	37
6.1. Extracción de ADN y Amplificación de PCR.....	37
6.2. Selección de Progenitores y Diseño de Cruzamiento.....	37
6.3. Riqueza alélica.....	38
6.4. Verificación del Estado Heterocigota de las Plantas F1.....	38
6.5. Diversidad Genotípica de los Cruzamientos Múltiples.....	39
6.6. Recombinantes.....	39
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>40</b>
1. Caracterización agromorfológica de accesiones de caraota con base en los descriptores morfológicos recomendados por el IPGRI.....	40
1.1. Características Cualitativas.....	40
1.2. Características Cuantitativas.....	58
1.2.1. Estadísticos Simples.....	58
1.2.2. Análisis Multivariado.....	59
1.3. Selección de Progenitores según Caracteres Morfológicos.....	65
2. Identificación de germoplasma con resistencia a la Bacteriosis Común ( <i>Xanthomonas phaseoli</i> ).....	66
2.1. Desarrollo de la Enfermedad.....	66
2.2. Análisis de la Varianza.....	69
2.2.1. Máxima intensidad de la sintomatología.....	70
2.2.2. Área bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE).....	70
2.2.3. Promedio de las evaluaciones.....	71
2.3. Selección de progenitores por su reacción ante <i>Xanthomonas phaseoli</i> ....	75
3. Identificación de germoplasma con resistencia a la Pudrición Carbonosa ( <i>Macrophomina phaseolina</i> ).....	78

3.1. Estadística Descriptiva.....	78
3.2. Análisis de la Varianza.....	80
3.3. Selección de progenitores por su reacción ante <i>Macrophomina phaseolina</i> en combinación con los estudios morfológicos y su reacción ante <i>Xanthomonas phaseoli</i> .....	87
4. Caracterización de la Diversidad Genética Mediante el Uso de Marcadores Moleculares tipo Microsatélite.....	90
4.1. Diversidad Genética.....	90
4.2. Análisis de Similitud Genética y Agrupamientos.....	92
4.3. Criterios a Considerar en la Selección de Progenitores Según su Distancia Genética.....	95
5. Diseño de esquemas de cruzamiento para la obtención de poblaciones de amplia base genética con características e interés para los programas de mejoramiento de caraota.....	98
5.1. Selección de Progenitores y Diseño de Cruzamiento.....	98
5.2. Riqueza Alélica.....	102
5.3. Verificación del Estado Heterocigota de las Plantas F1.....	104
5.4. Diversidad de Genotipos.....	105
5.5. Recombinantes.....	106
CONCLUSIONES.....	109
RECOMENDACIONES.....	112
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	114

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Variedades de caraota cultivadas en Venezuela.....	16
2	Identificación de las accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) utilizadas .....	26
3	Marcadores moleculares tipo microsatélites (SSR) utilizados para el estudio de la diversidad genética de 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	36
4	Caracterización de las variables morfológicas cualitativas de las 102 accesiones de caraota evaluadas.....	41
5	Frecuencia relativa de las categorías para Hábito de Crecimiento en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	45
6	Frecuencia relativa de las categorías para Color de Hipocótilo en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	46
7	Frecuencia relativa de las categorías para Color de Tallo en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	47
8	Frecuencia relativa de las categorías para Color de Flor en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	48
9	Frecuencia relativa de las categorías para Color de Vaina Inmadura en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	50
10	Frecuencia relativa de las categorías para Perfil de Vaina en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	51
11	Frecuencia relativa de las categorías para Color Primario de Semilla en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	52
12	Frecuencia relativa de las categorías para Color Secundario de Semilla en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	53
13	Frecuencia relativa de las categorías para Intensidad de Brillo de Semilla en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	54
14	Frecuencia relativa de las categorías para Forma de Semilla (J=largo/ancho) en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	56
15	Frecuencia relativa de las categorías para Forma de Semilla (H=grosor/ancho) en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	57
16	Estadísticos descriptivos para las variables cuantitativas de los genotipos de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) evaluados.....	59

17	Contribución relativa de los caracteres cuantitativos evaluados a los tres primeros componentes.....	62
18	Análisis de la varianza del área foliar afectada (%) y diámetro de mancha (mm) tomando en cuenta el momento de máxima intensidad de la sintomatología (20 ddi), el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) y el promedio obtenido de las evaluaciones en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en respuesta a <i>Xanthomonas phaseoli</i> .....	71
19	Prueba de medias (DUNCAN) para la variable Tamaño de Mancha (mm) de 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) por su reacción ante <i>Xanthomonas phaseoli</i> .....	72
20	Prueba de medias (DUNCAN) para la variable Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (%) de 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) por su reacción ante <i>Xanthomonas phaseoli</i> .....	73
21	Prueba de medias (DUNCAN) para la variable Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (mm) de 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) por su reacción ante <i>Xanthomonas phaseoli</i> ...	74
22	Prueba de medias (DUNCAN) para la variable Promedio de Área Foliar Afectada (%) de 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) por su reacción ante <i>Xanthomonas phaseoli</i> .....	76
23	Prueba de medias (DUNCAN) para la variable Promedio Diámetro de Mancha (mm) para la evaluación de la resistencia de 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) por su reacción ante <i>Xanthomonas phaseoli</i> .....	77
24	Estadística descriptiva para las variables ancho de hoja, ancho de mancha, índice ancho de hoja/ ancho de mancha; longitud de hoja, longitud de mancha e índice longitud de hoja/longitud de mancha en accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) inoculadas con <i>Macrophomina phaseolina</i> con el método de la hoja cotiledonar desprendida.....	79
25	Cuadrados medios del Análisis de la Varianza para las variables Largo de la hoja (LH), Ancho de la Hoja (AH), Largo de la mancha (LM), Ancho de la mancha (AM) y las relaciones LM/LH y AM/AH, para la evaluación de la resistencia de genotipos de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) inoculados con <i>M. phaseolina</i> , con el método de la hoja cotiledonar desprendida.....	81
26	Prueba de medias (DUNCAN) de la variable Ancho de Hoja (AH) para la evaluación de la resistencia de 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) inoculadas con <i>Macrophomina phaseolina</i> , con el método de la hoja cotiledonar desprendida.....	82

27	Prueba de medias (DUNCAN) de la variable Longitud de Hoja (LH) para la evaluación de la resistencia de 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) inoculados con <i>Macrophomina phaseolina</i> , con el método de la hoja cotiledonar desprendida.....	83
28	Prueba de medias (DUNCAN) de la variable Longitud de Mancha para la evaluación de la resistencia de 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) inoculados con <i>Macrophomina phaseolina</i> , con el método de la hoja cotiledonar desprendida .....	84
29	Prueba de medias (DUNCAN) de la variable Ancho de Mancha para la evaluación de la resistencia de 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) inoculados con <i>Macrophomina phaseolina</i> , con el método de la hoja cotiledonar desprendida.....	85
30	Prueba de medias (DUNCAN) del índice Longitud Hoja/Longitud Mancha (LH/LM) para la evaluación de la resistencia de 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) inoculados con <i>Macrophomina phaseolina</i> , con el método de la hoja cotiledonar desprendida.....	86
31	Prueba de medias (DUNCAN) del índice Ancho Hoja/Ancho Mancha (AH/AM) para la evaluación de la resistencia de 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) inoculados con <i>Macrophomina phaseolina</i> , con el método de la hoja cotiledonar desprendida.....	88
32	Número, talla, frecuencia, contenido de información polimórfica (PIC) y tipo de alelo en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) con el uso de 10 marcadores microsatélites.....	91
33	Accesiones seleccionadas como progenitores por sus alelos favorables y alta diversidad genética para el diseño de una población premeorada de amplia base genética en caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	100
34	Lugar, fecha y productos adquiridos utilizando ocho progenitores en dos ciclos de cruzamiento para la obtención de dos poblaciones de amplia base genética en caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	101
35	Riqueza alélica, promedio de alelos/locus y contenido de información polimórfica (PIC) con el uso de 10 marcadores microsatélites en los diferentes tipos de cultivares de la población original de 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) y de los seleccionados como parentales.....	103
36	Microsatélites polimórficos en cada cruce de parentales con el uso de ocho accesiones de caraota seleccionadas ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) en un diseño de cruzamiento multiparental.....	105
37	Frecuencia genotípica observada, esperada e índice de endocría para el marcador polimórfico BM 142 en la formación de dos poblaciones tetraparentales de amplia base genética en caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i>	106

38	L.).....	
	Nuevas recombinaciones genotípicas durante el primer y segundo ciclo de cruzamiento con el uso de tres marcadores microsatélites polimórficos en la formación de dos poblaciones tetraparentales de amplia base genética en caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	107

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Histograma del carácter cualitativo Hábito de Crecimiento en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	45
2	Histograma del carácter cualitativo Color de Hipocótilo en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	46
3	Histograma del carácter cualitativo Color de Tallo en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	47
4	Histograma del carácter cualitativo Color de Flor en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	48
5	Histograma del carácter cualitativo Color de Vaina Inmadura en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	50
6	Histograma del carácter cualitativo Perfil de Vaina en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	51
7	Histograma del carácter cualitativo Color Primario de Semilla en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	52
8	Histograma del carácter cualitativo Color Secundario de Semilla en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	53
9	Histograma del carácter cualitativo Intensidad de Brillo de Semilla en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	54
10	Histograma del carácter cualitativo Forma de Semilla (J=largo/ancho) en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	56
11	Histograma del carácter cualitativo Forma de Semilla (H=grosor/ancho) en 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	57
12	Dendrograma del análisis de agrupamiento UPGMA, basada en la distancia Euclideana, para caracteres morfológicos cuantitativos de 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ).....	60
13	Dispersión de 102 accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ) en los dos primeros componentes principales.....	61
14	Desarrollo del área foliar afectada en accesiones de caraota <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) inoculadas con <i>Xanthomonas phaseoli</i> a diferentes días después de la inoculación (ddi).....	67
15	Desarrollo del tamaño de la mancha (mm) en accesiones de caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) inoculadas con <i>Xanthomonas phaseoli</i> a	68

	diferentes días después de la inoculación (ddi).....	
16	Dendrograma de las similitudes genéticas de 102 accesiones de caraota ( <i>P. vulgaris</i> L.) con 10 marcadores SSR, utilizando coeficiente de Dice y cálculo de agrupamiento por el método UPGMA.....	93
17	Análisis de Coordenadas Principales destacando los grupos de accesiones obtenidos previamente en el Análisis de Conglomerados en 102 accesiones de caraota ( <i>P. vulgaris</i> L.) con 10 marcadores SSR.....	96
18	Análisis de Coordenadas Principales (ACoordP) señalando las accesiones seleccionadas como parentales según los grupos obtenidos previamente en el Análisis de Conglomerados (Cluster) en 102 accesiones de caraota ( <i>P. vulgaris</i> L.) con 10 marcadores SSR para el diseño de una población premeorada de amplia base genética.....	99
19	Esquema de cruzamiento utilizando ocho progenitores en dos ciclos de cruzamiento para la obtención de dos poblaciones tetraparentales de amplia base genética en caraota ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	93

## INTRODUCCIÓN

La caraota común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa de grano más importante para la alimentación humana por su alto contenido proteico (Rodiño, 2000). Es cultivada en zonas tropicales, subtropicales y templadas de todos los continentes, en un amplio intervalo de ambientes y sistemas de cultivos. Su centro de origen es el continente americano, con dos centros primarios de domesticación: el mesoamericano y andino (Gepts, 2004; McClean *et al.*, 2004), donde se concentran la mayor variabilidad genética de las especies cultivadas y de especies relacionadas (Singh, 2001). Es uno de los alimentos básicos en la dieta del venezolano y es el ingrediente principal del ‘pabellón’, plato típico nacional. Se cultiva en casi todos los estados del país, donde un porcentaje significativo de las áreas sembradas corresponde a pequeños y medianos productores (León *et al.*, 2007).

La producción de caraota se ve limitada por diversas causas, siendo las enfermedades el principal factor en la reducción de sus rendimientos (Polanía *et al.*, 2012). Una de las enfermedades de más amplia distribución es la bacteriosis común ocasionada por *Xanthomonas phaseoli*, con pérdidas significativas en el rendimiento por su grado de incidencia y severidad, siendo el principal factor de disminución de la producción mundial y nacional (Rodríguez y Rosas, 2010; Trujillo *et al.*, 2005). Asimismo, el hongo *Macrophomina phaseolina*, causa graves daños al cultivo, considerado como uno de los patógenos más importantes con alta incidencia económica en zonas productoras de caraota en Venezuela (González *et al.*, 2007).

El número de variedades mejoradas cultivadas en nuestro país se reduce principalmente a las caraotas de semillas pequeñas y de color negro (Voysest, 2000; Pérez *et al.*, 2013). “Tacarigua” es la variedad mejorada más difundida y hoy día, es la única variedad con semilla certificada, lo que aumenta la vulnerabilidad y el riesgo de este cultivo ante factores bióticos y ambientales. De ello se evidencia que la base genética de los cultivares comerciales utilizados en Venezuela es bastante estrecha (Singh, 2001; Gutiérrez *et al.*, 2006), siendo prioritario dirigir acciones para ampliar la base genética y generar nuevas variedades con caracteres deseables como resistencia a enfermedades (Pérez *et al.*, 2013).

Por ello, se considera de primordial importancia el rescate de variedades locales y de los materiales nativos, no solo con el fin de preservar la diversidad sino también de hacer uso de estos acervos genéticos en la ampliación de la base genética de los cultivares comerciales (Gutiérrez *et al.*, 2006).

En este sentido, el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA – CENIAP), realizó expediciones de colecta en pequeñas unidades de producción campesinas y ocasionalmente, en mercados locales de seis ecorregiones del país y hoy día cuenta con la colección de *Phaseolus* más importante de Venezuela, con unas mil accesiones. El mayor número de materiales recolectados corresponde a variedades tradicionales o variedades locales, fuente importante de variabilidad genética (Gutiérrez, 2008a).

Sin embargo, sólo a través de la utilización y disponibilidad permanente, se puede aumentar el valor potencial de los recursos genéticos conservados. Por tanto, estos materiales deben ser caracterizados adecuadamente de manera tal que se puedan identificar en ellos características de interés, dándose así lo que se denomina actividades de premejoramiento (Laurentin, 2008). El premejoramiento es la alternativa más prometedora para conectar los recursos fitogenéticos con los programas de mejoramiento. Permite ampliar las bases genéticas del cultivo, y caracteres deseables como resistencia a enfermedades, que no están presentes en los cultivares, pueden ser incorporados mediante cruzamientos dirigidos. Se espera que los materiales resultantes estén a disposición de los agricultores, mejoradores y otros usuarios, y así facilitar su utilización en los programas regulares de mejoramiento (Nass y Paterniani, 2000).

Los métodos de recombinación y selección variarán dependiendo de la distancia genética entre los materiales usados como parentales, los objetivos del programa y los recursos disponibles (Singh, 2001). Sin embargo, el éxito sostenido en el tiempo de estos programas se basa en la generación constante de nuevas poblaciones genéticamente variables. Existen diversas estrategias para lograrlo, siendo el de cruzamientos multiparentales una de las más utilizadas ya que permite la producción de recombinantes con alelos favorables para múltiples características.

Es por ello que el objetivo del presente trabajo es cuantificar la diversidad genética de 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris*), que incluyen variedades locales,

semidomesticadas, comerciales y líneas avanzadas conservadas en bancos de germoplasma de Venezuela, por sus características morfológicas, resistencia a enfermedades y patrones moleculares, con el uso de microsatélites. Esto permitirá seleccionar accesiones con características agromorfológicas favorables y con alelos de resistencia a las enfermedades producidas por la bacteria *Xanthomonas phaseoli* y el hongo *Macrophomina phaseolina*, que serán utilizadas como parentales en un diseño de cruzamiento donde se tomará en cuenta su distancia genética. Así se obtendrán poblaciones premejoradas de amplia base genética con combinaciones alélicas diversas para un programa de mejoramiento genético en caraota.

## OBJETIVOS

### Objetivo General

Cuantificar la diversidad genética de 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris*) basado en características agromorfológicas, resistencia a enfermedades y patrones moleculares, para desarrollar poblaciones premejoradas de amplia base genética y su posterior utilización en programas de mejoramiento.

### Objetivos específicos

1. Caracterizar accesiones de caraota con base en los descriptores morfológicos recomendados por el IPGRI.
2. Identificar germoplasma con resistencia a la bacteriosis común (agente causal *Xanthomonas phaseoli*).
3. Identificar germoplasma con resistencia a la pudrición carbonosa (agente causal *Macrophomina phaseolina*).
4. Caracterizar la diversidad genética mediante el uso de marcadores moleculares tipo microsatélite.
5. Desarrollar esquemas de cruzamiento que permitan obtener poblaciones premejoradas de amplia base genética, con características morfológicas favorables, resistencia a la bacteriosis común y a la pudrición carbonosa para su posterior utilización en programas de mejoramiento de caraota.

## REVISIÓN DE LA LITERATURA

La caraota negra (*Phaseolus vulgaris* L.) ha sido por generaciones parte de la cultura culinaria del pueblo venezolano y es el ingrediente principal del ‘pabellón’, plato típico nacional. Venezuela es el único país del mundo donde se le conoce con el nombre de caraota, derivado del vocablo indígena *carauta*. Los pequeños agricultores o conuqueros cultivan caraotas tradicionalmente por ser un cultivo base de su alimentación, manteniendo un germoplasma local valioso, del cual se tiene poca información, pero que representa una fuente potencial de genes de importancia agronómica, y a la vez patrimonio cultural de las comunidades que lo conservan (Gutiérrez *et al.*, 2004).

El conocimiento, acceso y uso de la diversidad disponible en especies silvestres, germoplasma exótico y variedades locales son esenciales para ampliar la base genética de los cultivares para sostener el fitomejoramiento (Acosta *et al.*, 2007). Esto involucra dos elementos de la seguridad alimentaria obtenidos a través de la producción sostenible: la conservación de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura, y, el uso de esos recursos para obtener nuevas variedades mejoradas, a través del fitomejoramiento (GIPB, 2010). En relación al conocimiento de los recursos fitogenéticos, inicialmente se van a presentar aspectos generales relacionados al cultivo de la caraota en cuanto a sus características botánicas, origen, domesticación y diversidad genética; destacando aspectos relevantes de su situación en Venezuela en cuanto a consumo, producción y factores limitantes. También se va a referir al acceso y conservación de los recursos fitogenéticos en lo que respecta a colecciones de germoplasma, una breve reseña de las variedades cultivadas y los programas de mejoramiento en Venezuela, destacando su importancia en la ampliación de la base genética del cultivo. Finalmente, como parte del uso de esos recursos a través del fitomejoramiento, se mostrarán las fuentes de diversidad y estrategias para desarrollar poblaciones premejoradas. Esto incluye la introgresión de genes, piramidización de alelos favorables y el mejoramiento simultáneo de múltiples caracteres. Todo ello en pro de contribuir a sostener el mejoramiento de este cultivo, tan importante para la población de nuestro país.

## **1. GENERALIDADES DE LA CARAOTA**

### **1.1. Características taxonómicas y botánicas**

La caraota es una planta leguminosa dicotiledónea, anual y herbácea. Presenta un sistema radicular superficial con desarrollo de raíces secundarias y terciarias, cuyo mayor volumen se encuentra en los primeros 20 cm de profundidad del suelo. Presenta nódulos distribuidos de las raíces laterales superiores, estos nódulos son colonizados por bacterias Rizobianas, las cuales fijan nitrógeno atmosférico. El tallo es cilíndrico y sub-glabro o pubescente, puede ser verde, morado o rosado. Tiene un incremento progresivo en la longitud de los internodos y se pueden clasificar cuatro tipos de hábitos de crecimiento: arbustivo, indeterminado arbustivo, indeterminado postrado e indeterminado trepador; según la terminación apical del tallo y de las ramas, o de si se forma un racimo o un meristema apical (González, 2008).

Las hojas primarias son simples, opuestas cordiformes y acuminadas y caen antes de que la planta esté completamente desarrollada; mientras que las hojas secundarias son compuestas, trifolioladas con peciolo y raquis acanalado, venación reticular, de forma ovalada a triangular. La inflorescencia puede ser racimosa, terminal o axilar. La flor es bilateralmente simétrica, encerrada por bractéolas verdes, la corola está constituida por 5 pétalos (un estandarte, dos alas y dos pétalos conformando la quilla), de variados colores como verde, blanco, rosado o morado (González, 2008). La disposición de los órganos reproductivos con los estambres en un tubo que rodea el pistilo, cubiertos completamente por la quilla, favorece extraordinariamente la autopolinización. Sin embargo, se ha observado que puede haber un porcentaje variable, alrededor del cuatro por ciento en la mayoría de los casos, de polinización cruzada y se ha registrado excepcionalmente hasta el 14%; los agentes polinizadores principalmente son los insectos. La alogamia es favorecida por condiciones climáticas y por la forma de las flores en ciertos cultivares. La legumbre es un fruto seco, dehiscente y monocarpelar, con dos valvas y placentación marginal. La semilla está constituida principalmente por los cotiledones con alto contenido de almidón y proteínas, sirven de almacenamiento para el crecimiento. Puede ser redonda, esférica o arriñonada, al igual que el hilum y el micrópilo; su germinación es epigea (León, 2000).

## 1.2. Origen y domesticación

Según datos arqueológicos, botánicos, históricos y lingüísticos, la caraota se originó en el área comprendida entre el norte de México y el noreste de Argentina (Pathania *et al.*, 2014), en dos centros de diversidad que dieron lugar a dos reservorios de genes: el mesoamericano, de Centroamérica y México; y el andino, de las montañas de los Andes en América del Sur. El género *Phaseolus* comprende más de 30 especies, de las cuales sólo cinco han sido domesticadas: *P. vulgaris*, *P. lunatus*, *P. coccineus*, *P. polyanthus* y *P. acutifolius*. De todas ellas, *P. vulgaris* es la más ampliamente distribuida, ocupando más del 85% de las áreas de producción sembradas en el mundo (Singh, 2001).

En Venezuela, la caraota sigue un proceso de domesticación estrechamente ligado al agricultor y a otros condicionantes del entorno agronómico. Se estima que este cultivo se introdujo en el país como producto del intercambio comercial desarrollado en la región andina por parte de los Incas y sus relaciones con las tribus de los andes venezolanos, llegando dicha influencia de los materiales genéticos hasta las zonas del estado Lara. Por otra parte, es posible una segunda vía de ingreso realizada por los indios Caribe quienes, a través de sus habilidades como navegantes en el mar Caribe, en su desarrollo comercial llegaban hasta México en donde se hallaba el otro centro de domesticación de la especie, cuyas semillas pudieron ingresar al país a través de la región oriental venezolana (Gutiérrez *et al.*, 2006). Estas observaciones fueron corroboradas con estudios de diversidad genética a través de marcadores moleculares tipo microsatélites, de distintos cultivares locales representantes de todas las regiones productoras del país, evidenciándose que los estados con mayor diversidad de patrones fueron Mérida y Sucre (Pérez, M 2008).

## 1.3. Diversidad Genética

### 1.3.1. Diversidad Interespecífica

La diversidad interespecífica en relación a la carota común está organizada en acervo genético primario, secundario, terciario y cuaternario. El grupo natural de las variedades silvestres y cultivadas de *P. vulgaris* constituye el acervo genético primario de la caraota, y entre ellas se cruzan y se recombinan genes sin ninguna barrera genética (Rodiño, 2000; Singh, 2001; Pathania *et al.*, 2014). El progenitor de la caraota y los descendientes cultivados generalmente dan una progenie fértil y viable. Los genotipos cultivados,

expresan un hábito de crecimiento más compacto comparado con los parentales silvestres, menos nudos vegetativos, hojas de mayor tamaño e internodos más largos. En cuanto a las semillas, estas son más grandes y tienen menor pigmentación por antocianina. La domesticación fue un proceso rápido, lo que puede indicar que la adaptación a las condiciones ambientales cambiantes involucró genes con mayores efectos genotípicos (González, 2008). Entre los cambios surgidos durante la domesticación se pueden citar: gigantismo, incremento del tamaño de la semilla, vaina y hojas, eliminación de la dehiscencia de la vaina, evolución de las formas de crecimiento indeterminado a determinado, cambios de forma de vida perenne a anual, pérdida de latencia de la semilla, eliminación de las semillas de tegumento duro, pérdida de sensibilidad al fotoperiodo, disminución de la alogamia, etc. (Rodiño, 2000; Singh, 2001; Pathania *et al.*, 2014). Según González (2008), dos de los atributos más importantes en el proceso de domesticación han sido la pérdida de la habilidad de dispersión de la semilla y la latencia de la semilla (fundamentales para la adaptación a cultivo).

En relación a los otros acervo genéticos, el secundario incluye a *P. coccineus*, *P. costaricensis* y *P. polyanthus*. Estas tres especies pueden cruzarse entre ellas; a su vez, el cruzamiento entre *P. vulgaris* y las especies del acervo secundario se realiza fácilmente sin rescate de embriones, particularmente cuando la caraota común se utiliza como parental femenino. Sin embargo, los híbridos producto de este cruzamiento pueden ser parcialmente estériles. El acervo genético terciario incluye a *P. acutifolius* y *P. parvifolius*, y podrían ser ancestros en la evolución de la caraota común; los cruces con *P. vulgaris* son más difíciles y necesitan de rescate de embriones. Las especies más lejana de *P. vulgaris* son *P. lunatus*, *P. angustissimus* y *P. filiformis* que pertenecen al acervo genético cuaternario y hasta ahora los cruzamientos han producido progenies infértiles (Singh, 2001; Pathania *et al.*, 2014).

### ***1.3.2. Diversidad Intraespecífica***

En relación a la diversidad intraespecífica, los cultivares de caraota suelen dividirse en dos grandes grupos que corresponden a centros primarios de domesticación, ubicados en Mesoamérica y la región sur de Los Andes (Kami *et al.*, 1995; Gepts, 2004; McClean *et al.*, 2004). Estos grupos se definen con base en el tipo de proteína de reserva, variación isoenzimática y el tamaño de las semillas, presentando una gran divergencia genética entre

los grupos, producto del aislamiento geográfico entre ambas (Miranda *et al.*, 2006). Estos centros de diversidad, también llamados acervos, reflejan múltiples eventos de domesticación dentro de las distintas poblaciones silvestres, por lo que se presume que el hombre primitivo contó con un material muy diverso para la domesticación (León, 2000). El acervo mesoamericano se caracteriza por presentar genotipos con semillas pequeñas a medianas, con faseolinas tipo ‘S’, ‘CH’, ‘Sb’, ‘Sd’ y ‘M’, mientras que el acervo andino se encuentran semillas medianas a grandes con faseolina de tipo ‘T’, ‘H’ y ‘C’. Dentro de cada acervo se pueden distinguir razas, cuatro para Mesoamericano (razas Mesoamérica (M), Durango (D), Jalisco (J) y Guatemala (G)) y tres para Andino (razas Nueva Granada (NG), Perú (P) y Chile (C)), las cuales han surgido debido a procesos de domesticación (Singh, 2001; McClean *et al.*, 2004; Pathania *et al.*, 2014).

#### **1.4. Consumo y producción**

La caraota es cultivada en zonas tropicales, subtropicales y templadas de todos los continentes, en una amplia gama de ambientes y sistemas de cultivos, siendo la raza mesoamericana la de mayor distribución. Los cultivares de caraota de este grupo están adaptados a un gran número de ambientes que van desde cálido a húmedo moderado, desde los trópicos hasta los subtrópicos, y también crecen en zonas de latitudes altas, como Canadá y Argentina. El mayor consumo se da en América Latina, Asia y África, existiendo en los distintos países y regiones preferencias diversas por parte del consumidor en cuanto a tamaño, color, forma y brillo de la semilla (Voyses, 1983; Rodiño, 2000).

Los rendimientos en los principales países productores van de 2.690,4 kg.ha<sup>-1</sup> en Egipto, 2.491,3 kg.ha<sup>-1</sup> en los Países Bajos, 1.994,5 kg.ha<sup>-1</sup> en Canadá, 1.864,8 kg.ha<sup>-1</sup> en Estados Unidos, 1.689,5 kg.ha<sup>-1</sup> en China y 450,9 kg.ha<sup>-1</sup> en India. Brasil, que es uno de los países con mayor producción, tiene un rendimiento promedio de 925,5 kg.ha<sup>-1</sup>, ligeramente superior al rendimiento promedio de este cultivo en Venezuela (Pérez *et al.*, 2013). El consumo per cápita puede variar de un país a otro y de una región a otra en un mismo país. Además, el estatus económico y social juega un papel importante ya que a menudo hay un mayor consumo en familias de bajos recursos de áreas rurales y urbanas. En Brasil y México se consumen 13 kg.año<sup>-1</sup> pero en países africanos hasta 40 kg.año<sup>-1</sup>.

Venezuela es un país con tradición en la producción e ingesta de caraota, registrándose las mayores superficies cosechadas (98.883 ha) y los mayores volúmenes de producción (49.842 t) en la década de los 60 (Ministerio de Agricultura y Cría, citado por Pérez, 2013), siendo estas las cifras más altas de este rubro en la historia agrícola. Más recientemente, en el año 2014, la producción de este rubro fue de 6.191 t, con un rendimiento de 813 kg.ha<sup>-1</sup>, en una superficie cosechada de 7.616 ha (FEDEAGRO, 2014). Para cubrir la demanda de la población, correspondiente a 30 millones de habitantes, es necesaria una producción de 112.987 t, lo que representa un déficit superior al 80%, que el estado cubre con importaciones. Es por ello que para el periodo 2008-2010 hubo una importación de aproximadamente 56.000 t anuales de leguminosas de grano, especialmente de caraotas (Pérez *et al.*, 2013).

Gran parte de la producción comercial de caraota en Venezuela está en manos de pequeños y medianos productores, cuyos sistemas de cultivo se caracterizan por ser monocultivos, cultivos asociados o en rotación con maíz u otro cultivo, en áreas menores de 5 ha, con alto uso de mano de obra familiar y poca utilización de capital o recursos externos (Morros, 2001; León *et al.*, 2007). La producción está destinada al mercado y solo una pequeña parte, la requerida por la familia, se dedica al autoconsumo. En estos sistemas se conservan y utilizan, en gran proporción, materiales mantenidos por generaciones que poseen importantes características de adaptación, y la siembra, por lo general, se realiza en la salida de las lluvias. En las zonas más tecnificadas (con sistemas de producción de hasta 10 ha), el establecimiento es exclusivamente comercial y cuentan con el grado de tecnificación necesario para producir durante todo el año, realizando siembras de riego y secano (Gutiérrez *et al.*, 2006).

## **1.5. Factores limitantes**

La producción de caraota se ve limitada por factores biológicos, edáficos y climáticos. A continuación se destacan los siguientes:

### **1.5.1. Factores Abióticos**

Entre los factores edáficos, un factor limitante es la baja fertilidad del suelo en general, y en particular la deficiencia de nitrógeno, fósforo y zinc. También son importantes las

deficiencias en potasio y hierro, provocando esta última una clorosis, sobre todo en suelos con pH elevado. En cuanto a los factores climáticos, cabe destacar la sequía y altas temperaturas. El estrés, provocado por el déficit de agua, es un fenómeno muy extendido en las zonas productoras de caraota. Es frecuente la pérdida del cultivo por sequía en zonas como Brasil, costa de Perú y norte de México; así como también en aquellas regiones en las que se siembra el cultivo al final de la época de lluvias, siendo frecuente la falta de agua. Por otra parte, las altas temperaturas diurnas (superiores a 30°C) en zonas tropicales pueden limitar severamente la producción del cultivo y las bajas temperaturas (inferiores a 15°C) o las heladas en zonas altas, afectan sobre todo durante el periodo de germinación de la planta (Singh, 2001). En Venezuela, estas condiciones de temperatura junto al déficit hídrico causan caída de botones florales, flores y frutos, en distintas fases del desarrollo de la caraota, evidenciándose que los porcentajes de aborción son mayores en las localidades más calientes con valores entre 20,6% (zonas de Sanare, estado Lara) y 56,1% (zona de Samán Mocho y Montalbán, estado Carabobo) (Madríz, *et al.*, 2008). Se ha indicado que el 60% de la producción mundial de caraota se obtiene en condiciones de déficit hídrico, por lo que este factor es el que más contribuye, después de las enfermedades, a la reducción de su rendimiento (Polanía *et al.*, 2012).

## **1.5.2. Factores bióticos**

### **1.5.2.1. Enfermedades Virales**

En cuanto a enfermedades, se pueden distinguir algunas enfermedades virales y bacterianas. Las enfermedades virales causan importantes pérdidas en el cultivo en todo el mundo, destacando el virus del mosaico común (BCMV), presente en la mayoría de las regiones de producción, y el virus del mosaico amarillo, que se da en las regiones tropicales y subtropicales de Centroamérica, México, Brasil y Argentina. En Venezuela, las virosis constituyen una seria amenaza en la producción de este rubro agrícola en las diferentes zonas productoras del país (Mark y Mora, 2002).

### **1.5.2.2. Enfermedades Bacterianas**

Dentro de las enfermedades bacterianas se destaca la bacteriosis común (*Xanthomonas phaseoli*), ampliamente distribuida en zonas productoras de caraota a nivel mundial. Causa

graves daños al cultivo, con pérdidas significativas, por su grado de incidencia y severidad, siendo el principal factor de disminución de la producción mundial y nacional (Rodríguez y Rosas, 2010; Trujillo *et al.*, 2005). En Venezuela es una de las enfermedades de más amplia distribución (González, 2006). Esto ha motivado al estudio de metodologías para evaluar la resistencia genética de germoplasma (Móvil *et al.*, 2005) y de materiales segregantes (Lagarde *et al.*, 2010). En un estudio modo de herencia de la resistencia a *Xanthomonas phaseoli*, Castañeda (2010) determinó está dominada por un gen mayor, que segrega en proporción 3:1 para una población F2:4. Asimismo, evidenció la existencia de poligenes de efectos menores para el mismo carácter, y demostró que existe asociación entre los marcadores moleculares microsatélites y la presencia del gen mayor de la resistencia, lo cual es un aporte de gran importancia para el mejoramiento de plantas. Las poblaciones básicas de caraota generadas mediante cruzamiento de materiales de buen comportamiento agronómico con materiales resistentes a *Xanthomonas*, permitirían generar en el corto plazo nuevas variedades resistentes a la enfermedad causada por esta bacteria.

### 1.5.2.3. *Enfermedades Fúngicas*

En las siembras realizadas en el período de lluvias también se presentan numerosas enfermedades causadas por hongos, como la actracnosis (*Colletotrichum spp.*), el tizón foliar (*Rhizoctonia solani*), el moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*), el añublo sureño (*Sclerotium rolfsii*), la marchitez vascular (*Fusarium qoxysporum*), la mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*), la roya (*Uromyces appendiculatus*), entre otras. Por otra parte, las enfermedades fúngicas más extendidas son la mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*), antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*) y roya (*Uromyces appendiculatus*), que causan enormes pérdidas en Latinoamérica, África y otras zonas del mundo. También se pueden citar hongos de la raíz (*Fusarium*, *Sclerotium*, etc.), la mancha foliar (*Ascochyta boltshaurseri*) y el moho blanco (*Sclerotinia sclerotium*). Asimismo, *Macrophomina phaseolina*, es agente causal de la quemazón de plántulas y pudrición ceniza de tallos y raíces, de numerosos hospederos en el mundo, considerada actualmente como uno de los patógenos que ocasiona graves pérdidas económicas en los países tropicales. Este hongo predomina en condiciones cálidas y secas de nuestro país (González, 2006), siendo uno de los hongos que presenta mayor incidencia económica en zonas productoras de caraota en

Venezuela (González *et al.*, 2007) y considerado como uno de los patógenos más importantes.

#### ***1.5.2.4. Insectos plaga***

Otro problema importante en este cultivo son los insectos plagas, que provocan pérdidas. Los insectos con mayor distribución mundial son el salta hojas (*Empoasca fabae*) que provoca daños en zonas secas y los gorgojos (*Acanthoscelides obtectus*), que afecta el grano seco cuando no se almacena en condiciones adecuadas. Otros insectos importantes son el picudo de la vaina (*Apion godmani*) en México y Centroamérica y la mosca de la judía (*Ophiomyia spp*), plaga principal de los cultivos en África (Singh, 2001).

## **2. RECURSOS FITOGENÉTICOS**

El mejoramiento de plantas tiene como fin obtener genotipos vegetales que satisfagan las necesidades humanas. Por tanto, es necesario partir de variabilidad suficiente para seleccionar aquellas variedades con las características adecuadas según el objetivo del programa de mejora. Para ello es de vital importancia los recursos fitogenéticos, recursos naturales limitados y perecederos, que proporcionan la materia prima o genes que, debidamente utilizados y combinados por los mejoradores vegetales, originan mejores variedades de plantas. Una fuente de variabilidad genética se puede encontrar en las variedades locales, asociadas a una agricultura tradicional, o bien en las variedades silvestres, relacionadas con las cultivadas (Rodiño, 2000).

En los últimos años, el desarrollo industrial y la migración de la mano de obra agrícola hacia la industria, junto con la separación cada vez más acusada entre los centros de producción y de consumo, además de la mecanización de las labores agrícolas que requieren variedades más uniformes, producen una erosión genética de los recursos fitogenéticos que pueden llevar a la extinción de un material de valor incalculable. Actualmente se tiende al desarrollo de variedades uniformes y más productivas con las cuales sustituir a un enorme mosaico de variedades locales heterogéneas y primitivas. Sin embargo, estas variedades tradicionales son capaces de soportar condiciones que dañarían seriamente a muchas variedades modernas, con un valor potencial que radica en los genes que contienen como resistencia a enfermedades, y adaptabilidad a condiciones ambientales

adversas. Sin el uso de estos recursos en los centros de investigación agrícola aplicada, la mejora de las variedades no sería posible. Por ello, es importante la protección y eficaz utilización de los recursos fitogenéticos en bancos de germoplasma (Rodiño, 2000), lo cual involucra una serie de etapas como la adquisición, multiplicación, almacenamiento, caracterización, evaluación y documentación, entre otros (Pérez, D 2008).

### **2.1. Colecciones de Germoplasma y su Importancia**

El Banco de Germoplasma del Programa de Recursos Genéticos del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) conserva la colección de fríjol más grande y diversa del mundo, con más de 36.000 materiales de *Phaseolus spp.* a la fecha, correspondientes a 44 taxa provenientes de 110 países. Estos materiales han sido designados a la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) dentro del marco del acuerdo FAO-CGIAR y están registrados en el Sistema Multilateral de Acceso y Distribución de Beneficios del Tratado Internacional sobre Recursos Fitogenéticos (CIAT, 2016).

En Venezuela, la colección más importante del género *Phaseolus* se encuentra en el Banco de Germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA – CENIAP), Maracay. Contiene alrededor de 900 muestras colectadas en el territorio nacional y unas 1200 accesiones de semillas registradas con datos de pasaporte. Esta colección es producto de expediciones de colecta principalmente en pequeñas unidades de producción campesinas ‘conucos’ y ocasionalmente en mercados locales de seis ecorregiones del país. El mayor número de materiales recolectados corresponde a variedades tradicionales o variedades locales (landraces) y en menor proporción variedades comerciales y materiales silvestres (Gutiérrez, 2008b).

Debido a la importancia estratégica que tienen las leguminosas y a la altísima dependencia nacional de materiales importados para el consumo, es oportuna y necesaria la caracterización y evaluación del germoplasma disponible en los bancos de germoplasma, con base a las características de interés para mejorar la producción de esos cultivos. De esta manera se pueden identificar materiales de caraota con potencialidad para uso directo o con características útiles para promover su utilización en programas de mejoramiento (González *et al.*, 2007). En este sentido, Pérez *et al.* (2013) señala que una parte de este germoplasma

ha sido caracterizado a nivel morfológico, ecofisiológico, isoenzimático y molecular (RAPD y SSR) así como su calidad nutritiva y tipo de faseolina. Adicionalmente, se han realizado evaluaciones agronómicas, evaluaciones de resistencia del germoplasma a la bacteriosis común causada por *Xanthomonas phaseoli* y evaluaciones participativas.

Dado que la base genética de los cultivares comerciales utilizados en Venezuela es bastante estrecha (Pérez, M 2008; Gutiérrez y Rincón, 2011), se considera de primordial importancia el rescate de variedades locales y de los materiales nativos, no solo con el fin de preservar la diversidad sino también de hacer uso de estos acervos genéticos en la ampliación de la base genética de los cultivares comerciales y en la búsqueda de alternativas para los sistemas de producción (Gutiérrez *et al.*, 2006).

## **2.2. Cultivares de Caraota y Programas de Mejoramiento en Venezuela**

Voysest (2000) realizó una reseña histórica del mejoramiento de *Phaseolus vulgaris* en América Latina y describe las variedades de caraota cultivadas en Venezuela (Cuadro 1). Relata que para el año 1956, el CIA hoy conocido como CENIAP, lanzó dos variedades mejoradas de caraota, una fue obtenida a partir de un material adquirido en los mercados de Caracas y la otra, a partir de una introducción a partir de la cual se seleccionaron plantas individuales, derivándose así en la variedad denominada “Margarita”. Designadas tradicionalmente con nombres de islas venezolanas, aparecieron más tarde las variedades “Coche” y “Tacarigua”.

A partir de 1976, el FONAIAP comenzó a evaluar materiales del CIAT, que llegaban a través de los ensayos internacionales del International Bean Yield and Adaptation Nursery (IBYAN) (Voysest, 2000). El número de variedades mejoradas cultivadas en Venezuela se reduce principalmente a las caraotas de semillas pequeñas y de color negro, destacando algunos materiales cultivados como “Tacarigua”, “Magdaleno”, “Tenerife”, “Montalbán”, “CECA1” y “UCV-Manuare” (Voysest, 2000; Pérez *et al.*, 2013). En 1995 se nomina por primera vez una variedad de Caraota blanca para la siembra comercial en el país, denominada “Victoria”, la misma tiene su origen en una selección masal practicada dentro de la población WAF-18, introducida en 1985 del CIAT, pero debido al rápido deterioro de la calidad de su semilla prácticamente ha dejado de sembrarse (Pérez *et al.*, 2013).

Los Organismos e Instituciones en los cuales se han conducido investigaciones genéticas en este cultivo, son el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), las Facultades

de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (UCV), Universidad del Zulia (LUZ) y Universidad de Oriente (UDO). En la UCV y en el INIA se han iniciado programas de hibridación para la generación de poblaciones segregantes con fines de obtención de nuevos cultivares. En la UCV se han llevado a cabo estudios de herencia de la

Cuadro 1. Variedades de caraota cultivadas en Venezuela (periodo 1956-1998)

Identificación	Línea	Genealogía	Año
<i>Variedades mejoradas</i>			
Cubagua	S 31	Selección individual en muestra de mercado	1956
Margarita	S 439	Selección individual en Negras de Gonzalito	1968
Coche	I-2	Selección individual	1968
Tacarigua	Ven 44	Selección individual en Ven 44	1987
Montalbán	BAT 58	(G 3664 x G 4215) x (G 4525 x G4485)	1988
UCV Manuare	BAT 304	G 4495 x G 5711	1990
Tenerife	ICA Pijao	Porrillo sintético x Mex. 11	1994
Victoria	WAF 18	G 13088 x A 195	1995
CECA 1	NAG 91	BAT 448 x G 14023	1996
XAN 208	XAN 208	XAN 112 x SEL 55	1998
<i>Variedades criollas</i>			
Brusca	Machetona	Munición	Poncha andina
Criolla	Matica criolla	Negra criolla	Vaina blanca
Guaimara	Media Ruma	Pájaro rojo	Vaina morada
Isleña	Mona	Palo blanco	

Adaptada de Voysest, 2000.

resistencia y de las interacciones patógeno - hospedero de las principales enfermedades que afectan al cultivo en el país, especialmente *Xanthomonas phaseoli* (Móvil *et al.*, 2005; Lagarde *et al.*, 2010; Castañeda, 2010). También se han evaluado en ensayos de mejoramiento participativo (Angola y Hernández, 2010; León, 2015) y se continúa con el proceso de endogamia y selección en evaluaciones sobre resistencia a la bacteria y rendimiento en generaciones  $F_{13}$ <sup>1</sup>. Recientemente, fue liberado un cultivar para pisos bajos llamado ‘Bicentenario’<sup>2</sup> y se espera que el INIA libere una nueva variedad de caraota con adaptación a pisos altos (Pérez *et al.*, 2013). Dos empresas comerciales a través de materiales introducidos y posterior selección han producido las variedades “Tenerife”

<sup>1</sup> Ramis, C. 6 jul. 2016. Programa de mejoramiento en caraota (entrevista). Maracay, Venezuela, UCV.

<sup>2</sup> Rodríguez, N. 10 jul. 2016. Nuevo cultivar de caraota (entrevista). Maracay, Venezuela; INIA.

(1994) y “Magdaleno” (1998). El INIA en Lara han recomendado por su adaptación local la siembra de los cultivares Silvinera, Sesentera, “XAN-208” y Sucre “CECA-1” respectivamente, estos se mantienen bajo la producción de semilla artesanal (Morros, 2006).

Actualmente, “Tacarigua” es la variedad mejorada más difundida y hoy día, es la única variedad en el país con semilla certificada lo que aumenta la vulnerabilidad y el riesgo de este cultivo ante factores bióticos y ambientales, siendo prioritario dirigir acciones para ampliar la base genética y generar nuevas variedades adaptadas a las diferentes condiciones agroecológicas y socioeconómicas de los diversos grupos de agricultores (Pérez *et al.*, 2013).

### **3. PREMEJORAMIENTO**

El premejoramiento es la alternativa más prometedora para conectar los recursos fitogenéticos con los programas de mejoramiento. Aplica a todas las actividades diseñadas para identificar características deseables y/o genes de materiales no adaptados (exóticos o semi-exóticos), incluyendo aquellos adaptados que han sido sujetos a cualquier tipo de selección para el mejoramiento. Puede referirse a caracteres de tipo cualitativo o cuantitativo. En la medida que el premejoramiento es realizado, se espera que los materiales resultantes estén a disposición de los agricultores, mejoradores y otros usuarios, para facilitar su utilización en los programas regulares de mejoramiento (Nass y Paterniani, 2000). El producto del premejoramiento puede ser una accesión evaluada, una variedad nativa seleccionada, una mezcla varietal, un compuesto varietal o la progenie segregante de un híbrido. Por tratarse de una actividad a largo plazo, cuyos costos son difíciles de recuperar, los mejoradores del sector privado por lo general no pueden encargarse de esta labor (FAO, 1996). En el premejoramiento, los institutos de investigación, universidades y agencias de investigación que cuentan con profesionales calificados hacen el trabajo científico de base y entregan a los agricultores, agrónomos, mejoradores y otros usuarios, un producto intermedio. De manera que se termine la selección usando métodos más sencillos y elementales, de modo de generar variedades adaptadas a ambientes específicos, compatibles con la tecnología, limitaciones, factores culturales y en general, las circunstancias especiales del agricultor (Sevilla, 2008).

Adicionalmente, el término premejoramiento involucra la transferencia y combinación de genes de fuentes no adaptadas hacia materiales mejorados (FAO, 1996). Existen dos vías que permiten usar las especies silvestres, germoplasmas exóticos y razas cultivadas: introgresión e incorporación. La introgresión se refiere a la transferencia de uno o pocos alelos de genotipos exóticos a cultivares mejorados que carecen del alelo(s) que controla un carácter específico. Mientras que la incorporación, es un esfuerzo a largo plazo que pretende desarrollar genotipos adaptados localmente, usando germoplasma exótico, para ampliar la base genética de materiales de mejoramiento (Acosta *et al.*, 2007). En este caso, los caracteres son de herencia cuantitativa, controlado por muchos loci de efecto menor. Sin embargo, la distinción entre premejoramiento, introgresión e incorporación muchas veces no pueden ser separadas claramente uno de otro (Hausmann y Parzies, 2009).

Muy pocos países reportan el premejoramiento o el mejoramiento genético como una actividad nacional, aunque muchos sí mencionan la importancia de tal actividad (FAO, 1996). En Venezuela, el premejoramiento se fortaleció desde el año 1999, con la realización de la consultoría internacional de un experto en recursos genéticos vegetales de la República Federativa de Brasil, sobre las actividades de recursos fitogenéticos, biotecnología vegetal y fitomejoramiento del FONAIAP, con la finalidad de promover la integración entre éstas áreas de trabajo. Los resultados de esta consultoría destacaron la necesidad de aumentar la variabilidad genética de los bancos de germoplasma, incorporar el estudio de los genes como elemento fundamental en el desarrollo de actividades en cultivo de tejidos y estudio de genomas, fortalecer la investigación en biotecnología aplicada, incorporar procesos de premejora en la investigación, que se desarrolla en el área de fitomejoramiento, e integrar técnicas modernas de conservación; a partir de allí, se fomentó la sinergia de éstas disciplinas (Gutiérrez, 2008b).

### **3.1. Fuentes de diversidad genética**

#### ***3.1.1. Materiales silvestres***

Muchos de los caracteres deseables presentes en poblaciones silvestres, están ausentes en la forma doméstica de *P. vulgaris*. Esto se debe a que las legumbres silvestres han coexistido con plagas y patógenos en una mayor escala de tiempo, lo que les ha permitido desarrollar cierta resistencia a plagas y enfermedades dentro de su hábitat natural. Asimismo, se

extienden a lo largo de muchos nichos ecológicos que incluyen áreas semi-áridas y ambientes húmedos tropicales. Para poder colonizar tal diversidad de nichos, estas legumbres silvestres deben poseer un amplio espectro de caracteres adaptativos, algunos de los cuales están ausentes en los cultivares, debido al denominado ‘cuello de botella’ (bottleneck) producto de la domesticación. Dada la gran diversidad genética dentro de los parientes silvestres, estos son una fuente potencial de alelos novel, que podrían ser aprovechados para el mejoramiento del rendimiento y otros caracteres cuantitativos en caraotas domesticadas. En general, por pertenecer al acervo genético primario, las progenies derivadas del cruce entre caraotas domesticadas y silvestres, no presentan problemas relacionados con la viabilidad y la fertilidad, lo que teóricamente debería permitir la transferencia de caracteres ventajosos de las formas silvestres a las domesticadas (Acosta *et al.*, 2007).

### **3.1.2. Especies relacionadas**

Los acervos genéticos del género *Phaseolus* también deben ser tomados en cuenta en el desarrollo de cruzamientos interespecíficos para facilitar la incorporación de caracteres deseables en la especie de *P. vulgaris*. De acuerdo con Rodiño (2000), si lo que interesa es introducir genes de resistencia a enfermedades se puede emplear, por ejemplo, *P. acutifolius* que es resistente a la bacteriosis común o *P. coccineus* que es resistente a la antracnosis. Si el objetivo del programa es la resistencia a insectos plagas es importante *P. coccineus* por ser resistente a la mosca de la judía, plaga que afecta a las variedades cultivadas en África, donde causa grandes pérdidas. Asimismo, se debe considerar la introducción de genes de resistencia a determinadas condiciones ambientales adversas, como puede ser la tolerancia a la sequía y resistencia a temperaturas elevadas que presenta *P. acutifolius*, siendo una característica importante para introducir el cultivo de caraota en zonas que, de otro modo, sería imposible acceder.

El uso de caracteres de interés procedentes de especies del acervo terciario y cuaternario, puede hacerse artificialmente usando técnicas de hibridación muy especializadas que faciliten la transferencia de caracteres entre especies. Para ello, se requiere la identificación y clonación de genes útiles; así como su regeneración exitosa y transformación en *P. vulgaris*. Esto podría facilitar la introgresión de genes en el futuro, ya que hasta ahora no

han sido exitosas. Los problemas que pueden surgir de estos cruzamientos son la reducción de la viabilidad y la fertilidad en las progenies; así como la transmisión de genes, especialmente de características cuantitativas (Singh, 2001). En este sentido, los marcadores moleculares están siendo cada vez más utilizados para identificar segmentos específicos de ADN que codifican caracteres deseables para ser transferidos en materiales élites mejorados. La combinación de herramientas moleculares y su información con los métodos tradicionales de mejoramiento de plantas deberían contribuir a explotar la diversidad genética disponible dentro de *Phaseolus* en los programas de mejoramiento de caraota (Acosta *et al.*, 2007).

### **3.2. Estrategias para desarrollar poblaciones premejoradas de amplia base genética**

Uno de los principales objetivos del desarrollo de cruzamientos es facilitar la incorporación de caracteres deseables en la especie de *P. vulgaris*. La necesidad del premejoramiento surge por el hecho de que muchos de los caracteres deseables son complejos genéticos (cuantitativos) y pueden encontrarse en germoplasma exótico (material no adaptado). Por eso, no pueden ser transferidos directamente a los materiales élite, ya que estos representan una combinación compleja de caracteres deseables, tanto para el productor como el consumidor. Mas bien, deben realizarse pasos intermedios para introducir el carácter deseado en un trasfondo (background) genético que permita la expresión completa del carácter, le confiera adaptación, y sea más similar a la de los cultivares élite. Los métodos de recombinación y selección variaran dependiendo de la distancia genética entre los materiales usados como parentales, los objetivos del programa de mejoramiento y los recursos disponibles. La disponibilidad de un sistema de transformación que sea repetible y eficiente para *P. vulgaris*; así como la selección e introgresión asistida con marcadores de alelos útiles de plantas silvestres y especies exóticas, podría facilitar el mejoramiento genético integrado de la caraota común (Singh, 2001).

El éxito sostenido en el tiempo de estos programas de mejoramiento se basa en la generación constante de nuevas poblaciones genéticamente variables, para lo cual se requiere la introducción de materiales exóticos. Estos materiales deben ser caracterizados adecuadamente de tal manera de identificar en ellos características de interés, dándose así

lo que se denomina actividades de premejoramiento (Laurentin, 2008). A continuación se describen algunas estrategias que pudieran utilizarse para desarrollar poblaciones premejoradas de amplia base genética en este cultivo; a saber: la introgresión de genes de germoplasma exótico, la piramidización de alelos favorables de diferentes fuentes y el mejoramiento simultáneo de múltiples caracteres.

### ***3.2.1. Introgresión de genes a partir de germoplasma exótico***

Como ya se mencionó, la introgresión se refiere a la transferencia de uno o pocos alelos de genotipos no adaptados hacia cultivares mejorados que carecen del alelo(s) que controla un carácter específico (Acosta *et al.*, 2007). Generalmente se trata de caracteres altamente heredables, controlado por uno o pocos genes mayores. Tradicionalmente, el método de la retrocruza ha sido utilizado para introducir caracteres de resistencia o restaurar genes de parientes silvestres (donante) a materiales mejorados (padre recurrente). Este método es particularmente efectivo si el carácter a ser transferido es dominante. En el caso de herencia recesiva, todas las progenies producto de las retrocruzas deben ser autofecundadas para identificar los portadores de los alelos deseados, antes de continuar con la retrocruza de las plantas seleccionadas (Hausmann y Parzies, 2009). Aunque la retrocruza seguida de selección ha sido el método más comúnmente utilizado para la introgresión de genes desde germoplasma silvestre hacia genotipos élite, deben diseñarse nuevos métodos para evaluar el valor reproductivo del germoplasma exótico, dado que los fenotipos parentales son deficientes predictores del rendimiento de las progenies (Acosta *et al.*, 2007).

Dado que la introgresión genes de germoplasma exótico también puede involucrar el uso de especies relacionadas del acervo secundario y terciario; varían los métodos de mejoramiento y las estrategias que son requeridas. Deben tomarse en cuenta las diferencias en la distancia genética entre diferentes especies de *Phaseolus* y *P. vulgaris* y, entre las razas y acervos génicos dentro de los cultivares de la caraota común. También es importante considerar el desempeño de los padres para rendimiento de grano y otros caracteres cuantitativos y cualitativos; la habilidad combinatoria, la presencia de genes de incompatibilidad y posibles genes ligados no deseados. La dificultad de la recombinación genética y la recuperación de los genotipos útiles, con frecuencia aumenta con el aumento

de la distancia genética entre los padres que serán utilizados para el cruzamiento (Singh, 2001).

### **3.2.2. Piramidización de alelos favorables de diferentes fuentes**

Un esquema piramidal fue propuesto por Kelly *et al.*, (1998) e integraba el uso de ciclos de cruzamiento interespecíficos con diferentes sistemas de cruzamiento y recombinación de germoplasma en tres niveles. En la base de la pirámide se facilita el desarrollo de objetivos a largo plazo, a través de la incorporación y recombinación de germoplasma. En este nivel se puede aumentar la diversidad genética, a través de cruzamientos inter e intraespecíficos, lo que ofrece una gran oportunidad para aumentar así la diversidad e intentar explotar el rendimiento potencial. Mediante estos cruces interespecíficos es posible la introducción de genes deseables, encontrados en otras especies de *Phaseolus*, dentro de la base genética de las variedades cultivadas de *P. vulgaris*. Una vez conseguido esto se podrían incluir en el nivel intermedio de la pirámide para llegar al nivel más alto.

En el nivel intermedio se localiza aquel material genético seleccionado a partir del material existente en la base de la pirámide y, el cual, se cruza sin restricciones con el material existente en el nivel más alto de la pirámide. Estos cruzamientos pueden ser realizados bien entre acervos genéticos o bien entre las distintas clases comerciales, cuyas características (tipo de semilla, hábito, etc.) son similares. Las líneas de este nivel que muestren las características deseadas, para los caracteres de interés, podrán pasar el tercer nivel de la pirámide, donde se encuentran las líneas ‘élite’, aquellas que presentan los mejores genotipos para los caracteres deseados. En este nivel de la pirámide, los cruzamientos son más restringidos, entre líneas ‘élite’, entre acervos genéticos y entre clases comerciales. Así los genotipos en este nivel deberían ser uniformes para la mayoría de los caracteres (Kelly *et al.*, 1998). Tal propuesta estructurada facilitaría la introgresión de germoplasma silvestre y le brindaría a los mejoradores, germoplasma avanzado que pueda adaptarse a sus condiciones locales y sus necesidades (Acosta *et al.*, 2007).

Con esta estrategia, en la que se emplean un número reducido de cruzamientos entre las clases comerciales, es posible avanzar rápidamente en el programa de mejoramiento. De esta manera, las estrategias de mejora genética en el nivel más bajo de la pirámide, incluyen material local, más tiempo y esfuerzo en relación con la evaluación, selección y futura

hibridación, pero ofrecen más posibilidades para la generación de nuevos materiales. Las líneas puras, obtenidas a través de selección individual, de aquellas variedades que presenten buenas características, pueden ser incorporadas en los nuevos programas de cruzamientos, y ello permitirá avanzar a un nivel intermedio de la pirámide. La selección individual puede conducir a la obtención de genotipos más productivos y a la identificación de aquellos que sean portadores de genes de interés, útiles para programas de cruzamientos (Rodiño, 2000).

Este método ha reportado numerosos éxitos a la mejora genética y ha sido utilizado (i) para la resistencia a saltahojas desde una determinada raza cultivada de caraota común, (ii) para el rendimiento de semilla y resistencia a BCMV y la sequía, entre razas dentro del acervo genético primario, (iii) para resistencia a antracnosis, roya y BGMV a partir del cruzamiento entre dos cultivares del acervo genético primario de *P. vulgaris*, y (iv) para el tizón bacteriano común, a partir de otras especies de *Phaseolus* (Singh, 2001)

### ***3.2.3. Mejoramiento simultáneo de múltiples caracteres***

Las poblaciones multiparentales o complejas consisten en poblaciones formadas mediante la hibridación de varios padres. En estas poblaciones es necesario seleccionar los padres con la mayor variabilidad genética entre ellos, pero manteniendo niveles adecuados de la característica que se pretende mejorar.

Existen numerosos esquemas de cruzamientos que se usan para formar poblaciones básicas, que podrían utilizarse para desarrollar poblaciones premejoradas de amplia base genética. Uno de ellos es el de cruzamientos múltiples, el cual consiste en la utilización entre 16 y 32 líneas paternas, las cuales son cruzadas en sucesivas generaciones de cruzamientos simples, cruzamientos dobles, etc. También los cruzamientos dialélicos, donde todos los padres seleccionados se cruzan, par a par, en todas las combinaciones posibles y las F2 de todos los cruzamientos dan origen a la nueva población. Asimismo, el esquema de retrocruzamiento modificado, en el cual ocho padres desadaptados (germoplasma exótico) son apareados simultáneamente con un padre adaptado, y posteriormente se cruzan sus descendencias de forma similar a como se describieron los cruzamiento múltiples (Vega, 1988; Laurentin, 2008).

Todos los cultivares comerciales, líneas élite, y portadores de los alelos favorables (incluidos aquellos obtenidos por introgresión de genes a partir de germoplasma exótico y piramidización génica) deben ser similares en hábitos de crecimiento, madurez, color y tamaño de semilla, así como bien adaptados. Por tanto, cada cruce se realiza solamente entre materiales de alto rendimiento, bien adaptados, receptores élite y parentales donantes. Es preferible el uso de cruzamientos multiparentales que un gran número de cruces sencillos o retrocruzas. Aunque, comparativamente esto requeriría mayor tiempo de hibridización para generar los cruzamientos multiparentales, el proceso permite la producción de recombinantes con alelos favorables para múltiples características. Asimismo, la producción de recombinantes no es posible mediante cruces simples y retrocruzas sin ciclos repetidos de selección para un carácter específico, uno a la vez. Por tanto, todos los alelos deseables se combinan en el primer paso, y se reduce el tiempo requerido para el desarrollo del cultivar. Los cruces simples entre los más prometedores o entre líneas con los mayores rendimientos, o entre cultivares de orígenes distintos dentro de la clase comercial, debería aportar cultivares de rendimiento aún mayor (Singh, 2001).

La selección de gametas en la F1, cuando se combina con el método de selección de generación temprana (F2-F4), debería contribuir a identificar poblaciones prometedoras y a las familias dentro de esas poblaciones. Estos se utilizarían posteriormente para desarrollar líneas superiores para la identificación de cultivares. Por otra parte, en el caso de estreses bióticos y abióticos que no se puedan seleccionar simultáneamente, se requerirá de diferentes localidades para seleccionar poblaciones prometedoras y familias dentro de esas poblaciones.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. MATERIAL VEGETAL

Se utilizaron 102 accesiones de *Phaseolus vulgaris* conservadas en forma de semillas, preseleccionadas por disponibilidad, acervo genético, razas, tipo de semilla, calidad nutritiva, zona de colecta, entre otros (González, G 2006; Pérez, M 2008; Medina *et al.*, 2013) (Cuadro 2). De estas, 81 procedían del Banco de Germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA – CENIAP) e incluían variedades locales, semidomesticadas y líneas avanzadas desarrolladas en los programas de mejoramiento genético del INIA. Mientras que 21 procedían del Instituto de Genética (IGen), Facultad de Agronomía (FAGRO), Universidad Central de Venezuela (UCV) e incluían cultivares comerciales y líneas avanzadas desarrolladas en los programas de mejoramiento genético de la UCV, Venezuela e introducidas del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Colombia. Ambos bancos de germoplasma ubicados en Maracay, estado Aragua.

### 2. CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA DE ACCESIONES DE CARAOTA CON BASE EN LOS DESCRIPTORES MORFOLÓGICOS RECOMENDADOS POR EL IPGRI.

La evaluación agromorfológica se realizó en el Campo Experimental del IGen, FAGRO, UCV. Cada accesión fue sembrada en campo en un hilo de 5 m con semillas separadas a 20 cm y una distancia de 0,60 m entre hilos. La caracterización agronómica consistió en una evaluación del material vegetal, teniendo presente tanto variables cualitativas como cuantitativas. La guía de evaluación se basó en los descriptores para *Phaseolus vulgaris* desarrollados por el IPGRI (2001). En total, se evaluaron 20 caracteres durante los estados fenológicos de plántula, floración, madurez fisiológica y cosecha:

1. Color del hipocótilo: evaluado en fase de plántula, clasificándose en verde (sin pigmentación), verde con pigmentación tenue y verde con pigmentación intensa.

Cuadro 2. Identificación de las accesiones de *Phaseolus vulgaris* utilizadas

N°	Entrada	Procedencia	Identificación	Tipo de cultivar	Banco
1	Tenerife		ICA Pijao	Comercial	UCV
2	Tacarigua		Ven 44	Comercial	UCV
3	I-1983	Carabobo	MGM-01-98-004	Variedad Local	INIA
4	I-1984	Carabobo	MGM-01-98-007	Variedad Local	INIA
5	I-1996	Carabobo	MGM-01-98-021	Variedad Local	INIA
6	I-1997	Carabobo	MGM-01-98-022	Variedad Local	INIA
7	I-1998	Carabobo	MGM-01-98-023	Variedad Local	INIA
8	I-2005	Aragua	DP-01-98-010	Variedad Local	INIA
9	I-2019	Aragua	MGM-02-99-06	Variedad Local	INIA
10	Manuare		BAT-304	Comercial	UCV
11	I-2031	Carabobo	MGM-03-99-10	Variedad Local	INIA
12	I-2043	Lara	MEM-01-00-08	Variedad Local	INIA
13	Corocito		SEFLOORCA	Comercial	INIA
14	I-2100	Lara	MEM-02-00-23	Variedad Local	INIA
15	I-2133	Cojedes	MGM-05-01-08	Variedad Local	INIA
16	Montalbán		BAT-58	Comercial	UCV
17	I-2139	Miranda	DP-03-01-004	Variedad Local	INIA
18	I-2152	Lara	MEM-03-01-10	Variedad Local	INIA
19	I-2153	Lara	MEM-03-01-11	Variedad Local	INIA
20	I-2155	Lara	MEM-03-01-14	Variedad Local	INIA
21	I-2162	Trujillo	CQ-04-01-01	Variedad Local	INIA
22	I-2164	Trujillo	CQ-05-01-02	Variedad Local	INIA
23	I-2180	Yaracuy	MS-03-01-09	Variedad Local	INIA
24	I-2208	Apure	AB-02-01-017	Variedad Local	INIA
25	I-2219	Lara	MEM-03-02-017	Variedad Local	INIA
26	I-2222	Lara	MEM-03-02-022	Variedad Local	INIA
27	I-2226	Sucre	MGM-08-02-001	Variedad Local	INIA
28	I-2231	Sucre	MGM-08-02-010	Variedad Local	INIA
29	I-2232	Sucre	MGM-08-02-012	Variedad Local	INIA
30	I-2239	Monagas	MGM-08-02-026	Variedad Local	INIA
31	I-2240	Monagas	MGM-08-02-027	Variedad Local	INIA
32	I-2242	Monagas	MGM-08-02-029	Variedad Local	INIA
33	I-2245	Monagas	MGM-08-02-032	Variedad Local	INIA
34	I-2247	Sucre	MGM-08-02-037	Variedad Local	INIA
35	I-2248	Sucre	MGM-08-02-038	Variedad Local	INIA
36	I-2254	Sucre	MGM-08-02-056	Variedad Local	INIA
37	I-2257	Sucre	MGM-08-02-068	Variedad Local	INIA
38	I-2261	Sucre	MGM-08-02-072	Variedad Local	INIA
39	I-2263	Sucre	MGM-08-02-077	Variedad Local	INIA
40	I-2264	Sucre	MGM-08-02-078	Variedad Local	INIA
41	I-2275	Sucre	MGM-08-02-096	Variedad Local	INIA
42	I-2276	Miranda	MGM-08-02-097	Variedad Local	INIA
43	I-2287	Barinas	MGM-10-02-010	Variedad Local	INIA
44	I-2309	Mérida	MGM-10-02-034	Variedad Local	INIA

Cuadro 2. Continuación

N°	Entrada	Procedencia	Identificación	Tipo de cultivar	Banco
45	I-2334	Mérida	MGM-10-02-062	Variedad Local	INIA
46	I-2350	Mérida	MGM-10-02-078	Variedad Local	INIA
47	I-2352	Mérida	MGM-10-02-082	Variedad Local	INIA
48	Magdaleno		SEHIVECA	Comercial	UCV
49	I-2356	Mérida	MGM-10-02-088	Variedad Local	INIA
50	I-2358	Mérida	MGM-10-02-090	Variedad Local	INIA
51	I-2360	Mérida	MGM-10-02-092	Variedad Local	INIA
52	I-2368	Mérida	MGM-10-02-102	Variedad Local	INIA
53	I-2371	Mérida	MGM-10-02-105	Variedad Local	INIA
54	I-2373	Mérida	MGM-10-02-107	Variedad Local	INIA
55	I-2374	Mérida	MGM-10-02-108	Variedad Local	INIA
56	I-2375	Mérida	MGM-10-02-109	Variedad Local	INIA
57	I-2377	Mérida	MGM-10-02-111	Variedad Local	INIA
58	I-2534	Táchira	DP-06-06-058	Variedad Local	INIA
59	I-2568	Táchira	DP-06-06-103	Variedad Local	INIA
60	I-2579	Táchira	DP-06-06-116	Variedad Local	INIA
61	I-2581	Táchira	DP-06-06-119	Variedad Local	INIA
62	I-2583	Táchira	DP-06-06-121	Variedad Local	INIA
63	I-2584	Táchira	DP-06-06-123	Variedad Local	INIA
64	I-2589	Táchira	NY-01-06-01	Variedad Local	INIA
65	I-2592	Táchira	NY-01-06-04	Variedad Local	INIA
66	I-2595	Táchira	NY-01-06-08	Variedad Local	INIA
67	I-2598	Táchira	NY-01-06-11	Variedad Local	INIA
68	I-2627	Táchira	NY-02-07-008	Variedad Local	INIA
69	I-2646	Aragua	DON-17-07-002	Variedad Local	INIA
70	I-2647	Aragua	DON-17-07-003	Variedad Local	INIA
71	I-2670	Aragua	CGM-01-07-004	Variedad Local	INIA
72	I-2681	Lara	DON-22-07-013	Variedad Local	INIA
73	I-2654	Colombia	DOR-45	Línea Avanzada CIAT	UCV
74	I-2655	Colombia	BAT-139	Línea Avanzada CIAT	UCV
75	I-2656	Colombia	BAT-871	Línea Avanzada CIAT	UCV
76	I-2657	Colombia	BAT-971	Línea Avanzada CIAT	UCV
77	I-2659	Colombia	DOR-24	Línea Avanzada CIAT	UCV
78	I-2660	Colombia	BAT-147	Línea Avanzada CIAT	UCV
79	I-2661	Colombia	BAT-913	Línea Avanzada CIAT	UCV
80	I-2662	Colombia	BAT-68	Línea Avanzada CIAT	UCV
81	I-2665	Colombia	BAT-1037	Línea Avanzada CIAT	UCV
82	I-2667	Colombia	DOR-44	Línea Avanzada CIAT	UCV
83	UCV MEM*L8		MEM 0301014 x Línea 8 F2:4	Línea Avanzada UCV	UCV
84	UCV 27		XAN154 x MEM3031013F2:7	Línea Avanzada UCV	UCV
85	UCV 56		XAN154 x MEM3031013F2:7	Línea Avanzada UCV	UCV
86	UCV 88		XAN154 x MEM3031013F2:7	Línea Avanzada UCV	UCV
87	UCV 96		XAN154 x MEM3031013F2:7	Línea Avanzada UCV	UCV

Cuadro 2. Continuación

N°	Entrada	Procedencia	Identificación	Tipo de cultivar	Banco
88	UCV 100		XAN154 x MEM3031013F2:7	Línea Avanzada UCV	UCV
89	Gen 3		DOR-440 x RIZ-86 (SA016F2-1-1-MS-6-3)	Línea Avanzada INIA	INIA
90	Gen 10		EMP-414 x NAG-8 (SA018F2-3-4-1-3-1-2)	Línea Avanzada INIA	INIA
91	Gen 12		EMP-414 x NAG-8 (SA018F2-3-5-MS-MS-MS)	Línea Avanzada INIA	INIA
92	Gen 16		XAN-222 x DOR-470 (SA024F2-19-2-5-10-6-3-2)	Línea Avanzada INIA	INIA
93	Gen 18		EMP-414 x DOR-500 (SA029F2-MS-MS-MS-MS)	Línea Avanzada INIA	INIA
94	Gen 19		SELECCIÓN 13	Línea Avanzada INIA	INIA
95	I-2606	Táchira	PB-01-06-006	Semi domesticada	INIA
96	I-2740	Mérida	JMP-01-08-002	Semi domesticada	INIA
97	I-2494	Lara	DON-12-06-010	Semi domesticada	INIA
98	I-2251	Sucre	MGM-08-02-044	Semi domesticada	INIA
99	I-2032	Carabobo	MGM-03-99-011	Semi domesticada	INIA
101	I-2034	Portuguesa	JA-01-00-009	Semi domesticada	INIA
100	I-2195	Falcón	AB-01-01-014	Semi domesticada	INIA
102	I-2146	Miranda	DP-03-01-019	Semi domesticada	INIA

2. Hábito de crecimiento: evaluado en plena floración, clasificándose en arbustivo determinado, arbustivo indeterminado, postrado indeterminado y trepador indeterminado.
3. Color del tallo: Pigmentación del tallo principal clasificándose en verde (sin pigmentación), verde con pigmentación tenue y verde con pigmentación intensa.
4. Color de las alas: en flores completamente abiertas observada a primera hora de la mañana (entre las 8 a 10 am), clasificándose en blanca, rosada, violeta claro o violeta oscuro.
5. Color del estandarte: en flores completamente abiertas observada a primera hora de la mañana (entre las 8 a 10 am), clasificándose en blanca, rosada, violeta claro o violeta oscuro.
6. Color de la vaina en estado inmaduro: se observará cuando el 50% de las vainas alcancen su máximo tamaño, clasificándose en verde, verde con pigmento amarillo, amarillo, amarillo con pigmento café rojizo, amarillo con pigmento morado, morado, morado con pigmento café, verde muy pigmentado de morado y café rojizo.
7. Perfil de la vaina: evaluado en 20 vainas secas según grado de curvatura del eje central, clasificándose en recto, medianamente curvo, curvado y recurvado.

8. Longitud de la vaina: Valor medio de diez vainas secas medidas desde la inserción del pedúnculo hasta el ápice, sin incluir el diente apical, medido en centímetros.
9. Número de semillas por vaina: Valor medio de diez vainas secas.
10. Número de vainas por planta: Valor medio de diez plantas.
11. Color primario de la semilla: color predominante en las semillas secas recientemente cosechadas, expresado como color blanco, beige, amarillo, marrón, rosado, rojo, púrpura, negro, gris.
12. Color secundario de la semilla: color secundario en las semillas secas recientemente cosechadas, expresado como color blanco, beige, amarillo, marrón, rosado, rojo, púrpura, negro, gris..
13. Intensidad del brillo de la semilla: opaco, intermedio, brillante.
14. Forma de la semilla tomando como criterio el coeficiente J (largo/ancho), valor medio de diez semillas y expresado en milímetros. Se clasificaran en esférica (1,16 a 1,42), elíptica (1,43 a 1,65), arriñonada pequeña (1,66 a 1,85), arriñonada media (1,86 a 2,00) y arriñonada grande ( $> 2,00$ ).
15. Forma de la semilla tomando como criterio el coeficiente H (grosor/ancho), valor medio de diez semillas y expresado en milímetros. Se clasificaran en achatada ( $\leq 0,69$ ), semi-abultada (0,70-0,79) y abultada ( $\geq 0,80$ ).
16. Peso de 100 semillas. Peso medio de 100 semillas medida en gramos. Se clasificaran en pequeña ( $< 25$ ), mediana (25-40) y grande ( $> 40$ ).
17. Peso total de semillas en diez plantas.
18. Días a emergencia: Número de días transcurridos desde la siembra en suelo húmedo hasta el momento en que haya emergido el 50% de la población estimada para la parcela.
19. Días a floración: Número de días transcurridos desde la siembra en suelo húmedo hasta el momento el 50% de la población estimada para la parcela tenga flores abiertas.
20. Días a la cosecha: Número de días transcurridos desde la siembra en suelo húmedo hasta que las plantas presenten el 90% de la población estimada para la parcela tenga vainas secas, listas para la cosecha.

### **2.1. Evaluación Morfológica**

Para los caracteres cualitativos, se realizó una descripción general de las características evaluadas. Los resultados se representaron gráficamente mediante el uso de histogramas de frecuencia relativa. A su vez, fueron analizados con el índice de Nei, que toma en cuenta el número de categorías y su frecuencia relativa. Para el procesamiento de los datos de los caracteres cuantitativos, se usó la estadística descriptiva (promedio, desviación estándar, coeficiente de variación) y análisis multivariados, a saber: análisis de componentes principales (ACP) y análisis de conglomerados (cluster), usando el programa estadístico Paleontological Statistics (PAST), versión 2.01 (Hammer *et al.*, 2001). El análisis de conglomerados se realizó utilizando el índice de la distancia Euclidiana, para agrupar las accesiones en función de todos los caracteres cuantitativos evaluados. El análisis de componentes principales permitió determinar los caracteres que más contribuían a la formación de los grupos.

### **3. IDENTIFICACIÓN DE GERMOPLASMA CON RESISTENCIA A LA BACTERIOSIS COMÚN (*Xanthomonas phaseoli*).**

La preparación del inóculo se realizó la Unidad de Protección Vegetal del INIA – CENIAP y los ensayos de resistencia en el umbráculo del IGen, FAGRO, UCV, ambos en Maracay, estado Aragua. La unidad experimental consistió de tres plantas por bolsa de polietileno con tierra estéril (capacidad de 5 kg), con tres repeticiones para un total de 9 plantas por tratamiento en un diseño de bloques completos al azar. Después de verificar los supuestos del modelo se realizó un análisis de varianza y, al obtener diferencias significativas entre genotipos, se realizó una prueba de medias múltiples de Duncan, a fin de identificar estadísticamente los grupos de accesiones con mayor resistencia. De las 102 accesiones seleccionadas, se utilizaron 97 para esta evaluación.

#### **3.1. Preparación de Inóculo**

Se utilizó la colonia de la cepa Tucutunemo proveniente de la localidad de Tucutunemo de los Valles de Aragua, por haber presentado mayor virulencia en comparación con otras cepas bacterianas (provenientes de las zonas de aislamiento Montalbán y CENIAP) y haber sido utilizada en estudios previos de resistencia a la bacteriosis común en caraota

(Castañeda, 2010; Lagarde *et al.*, 2010). Para la preparación del inóculo se tomaron 0,5 mg de la bacteria liofilizada, colocándola en agua destilada estéril durante de 5 – 6 minutos hasta que se formó la suspensión. Luego con un asa de platino se procedió a repicar 5 veces en forma de zig - zag en el medio de cultivo específico para *X. phaseoli*, constituido de extracto de carne, peptona y agar. Se incubó por varios días hasta que se evidenció crecimiento de las colonias, seleccionando la colonia representativa de *X. phaseoli*. Esta fue colocada en un medio de cultivo (agar nutritivo) por 24 h, a partir del cual se realizó la preparación de la suspensión definitiva, a la que se le agregó una gota de Tween 80, como adherente. Dicha suspensión se comparó con los tubos de McFarland hasta obtener finalmente la concentración deseada de  $10^8$  ufc/ml (unidades formadoras de colonias por mililitros), utilizando el tubo n° 3, según metodología de Contreras *et al.*, 2001.

### **3.2. Método de Inoculación**

Al obtener la suspensión del inóculo, se procedió a realizar una leve presión sobre las hojas protófilas en las plantas con la ayuda de un cojín de alfileres para permitir la entrada de la bacteria al tejido celular 15 días después de la siembra (dds), y dos aspersiones del inóculo con un aspersor de Bilvis sobre las heridas causadas. Las plantas y los testigos, susceptible (‘Tacarigua’) y resistente (XAN154), permanecieron bajo condiciones de cámara húmeda a 32°C y 95% HR en promedio durante 6 días.

### **3.3. Evaluación de Resistencia a *Xanthomonas phaseoli***

Se evaluaron las variables tamaño de la mancha foliar en milímetros (mm) y porcentaje del área foliar afectada (% AFA). Ambas evaluaciones fueron medidas desde el momento de la aparición de los síntomas, cada dos o tres días hasta 21 días después de la inoculación (ddi). Para el tamaño de la mancha se midió el diámetro mayor de la mancha en el punto de inoculación. Por su parte, el % AFA se estimó visualmente según una escala bosquejada para tal fin, tomando en cuenta el tamaño y forma de la hoja. Las mediciones se registraron en una planilla diseñada para llevar el control de ambas variables en cada planta, a partir de las cuales se estableció gráficamente la dinámica de avance de la enfermedad. Esto permitió además establecer el momento de máxima intensidad de la sintomatología.

Adicionalmente, dado que ambas variables (% y mm) fueron medidas con regularidad

durante el ensayo, también fueron utilizados para calcular el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) y el promedio obtenido de todas las evaluaciones realizadas en cada unidad experimental. La estimación del ABCPE comúnmente usada por fitomejoradores para comparar variedades por su resistencia a ciertas enfermedades, se logró aplicando el método de integración trapezoidal (Campbell y Maddel, 1990), usando la siguiente ecuación:

$$ABC = \sum_{i=1}^n [(X_{i+1} + X_i)/2] (t_{i+1} - t_i)$$

donde,

$X_i$  es la proporción de la enfermedad en la  $i$ ésima observación;

$t_{i+1} - t_i$  es el tiempo (días) entre dos lecturas;

$i$  es el número de observaciones, y

$n$  es el número de valuaciones.

Finalmente, con los datos obtenidos del momento de máxima intensidad de la sintomatología, el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) y el promedio de todas las evaluaciones realizadas en cada unidad experimental, para ambas variables (% y mm), se realizó análisis de varianza y la comparación de medias mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan como discriminante entre los materiales. Para ello se utilizó el paquete estadístico de Infostat versión 2014 (Di Rienzo *et al.*, 2014)

#### **4. IDENTIFICACIÓN DE GERMOPLASMA CON RESISTENCIA A LA PUDRICIÓN CARBONOSA (*Macrophomina phaseolina*).**

La preparación del inóculo se realizó en el Laboratorio de Toxicología del Instituto de Química. La siembra y desinfección de las hojas se ejecutó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos, mientras que la inoculación de los materiales fue efectuada en Laboratorio de Genética Molecular, pertenecientes al Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA). Todos en FAGRO, UCV, Maracay, estado Aragua. De las 102 accesiones seleccionadas, se utilizaron 94 para esta evaluación.

#### **4.1. Obtención de aislamientos puros de *Macrophomina phaseolina***

El aislamiento del hongo se realizó mediante la siembra directa de trozos de material biológico contaminado sobre medio de cultivo agarificado, siguiendo el procedimiento común del Laboratorio de Toxicología del Instituto de Química. Para ello, primeramente se lavaron con agua corriente hojas con evidente colonización por el hongo para eliminar restos de suelo, luego se cortaron con bisturí estéril trozos de aproximadamente 3x3 mm, se desinfectaron con etanol a 70% durante un minuto, luego con hipoclorito de sodio al 3% durante tres minutos, se lavaron con agua destilada estéril y secaron sobre papel de filtro estéril. Finalmente, se sembraron equidistantemente sobre el medio Agar Rosa de Bengala e incubaron a temperatura ambiente durante 8 días en alternancia de 12 horas de luz/oscuridad.

#### **4.2. Método de inoculación**

Se sembraron cinco semillas de todas las accesiones de caraota en condiciones de umbráculo. A los 10 días después de la siembra se extrajeron las hojas cotiledonares completamente expandidas y sin daños aparentes por plagas y/o enfermedades. Estas hojas fueron trasladadas al laboratorio en cápsulas de Petri con papel secante estéril humedecido con agua destilada estéril, bajo condiciones de alta humedad relativa. En campana de flujo laminar, las hojas fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio 2% durante 2 min, se enjuagaron dos veces en agua destilada estéril y secaron en papel secante esterilizada. Las hojas completas desinfectadas fueron colocadas individualmente y con el envés hacia arriba en cápsulas de Petri. En el envés de cada hoja se colocaron dos discos de PDA de 0,5 cm de diámetro con crecimiento de la cepa respectiva de *M. phaseolina*, en ambos extremos de la hoja a partir de la nervadura central y fue incubado en oscuridad a 30°C; según metodología propuesta por Bañuelos y Mayek (2008), para hojas cotiledonales desprendidas *in vitro*. Este método fue recomendado por los autores, por tratarse de una estrategia sencilla, económica y confiable para la medición del daño causado por cepas o aislamientos de *M. phaseolina* en caraota, produciendo los mismos resultados de discriminación entre reacciones de resistencia y susceptibilidad al hongo al compararse con otros métodos de inoculación de hoja desprendida y métodos convencionales en plántulas y semillas.

### **4.3. Evaluación de resistencia a *Macrophomina phaseolina***

La unidad experimental fue una hoja cotiledonal por cápsula de Petri con 4 repeticiones en un diseño de bloques al azar. Se midió la longitud (LH) y ancho de la hoja (AH), así como la longitud (LM) y ancho de la lesión (AM) (en cm) causada por el hongo a los cinco días de incubación. Igualmente se determinaron los índices LH/LM y AH/AM. Inicialmente se usó la estadística descriptiva para cada variable (promedio, mínimo, máximo, desviación estándar, curtosis y asimetría). Adicionalmente, se determinó la normalidad de las distribuciones de frecuencias, con el estadístico W de la prueba de Shapiro-Wilk (1965). Se utilizó una probabilidad menor a 0,05 para indicar la ausencia de ajuste a una distribución normal. Luego los datos se sometieron al análisis de varianza (ANAVAR). Para aquellas variables donde se obtuvieron diferencias significativas entre genotipos, se realizó una prueba de medias múltiples de Duncan.

## **5. CARACTERIZACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA MEDIANTE EL USO DE MARCADORES MOLECULARES TIPO MICROSATÉLITE.**

El estudio molecular fue realizado en el Laboratorio de Genética Molecular del Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA), FAGRO, UCV, Maracay, estado Aragua.

### **5.1. Extracción de ADN**

Se utilizaron 5 semillas al azar de cada accesión de 3 días de pre-germinadas, con previa eliminación del tegumento. Se maceraron con nitrógeno líquido y se procedió a efectuar la extracción de ADN con tampón CTAB (2%) según metodología de Murray y Thompson (1980) estandarizado en el Laboratorio de Genética Molecular del CIBA, reportado por Castañeda (2010). La calidad y cantidad del ADN se verificó en geles de agarosa al 0,8% en presencia de bromuro de etidio (0,5 mg/ml), en comparación con una concentración conocida de ADN fago Lambda. Los geles fueron visualizados en un transiluminador UV y se capturó la imagen en un analizador de imágenes BIO-RAD gel Doc XR. Con la información obtenida, las muestras de ADN fueron preparadas a una concentración final de 2,5ng/ $\mu$ l.

## 5.2. Marcadores Microsatélites

Para el estudio de la diversidad alélica de las accesiones se utilizaron 22 microsatélites de caraota (Yu *et al.*, 1999; Gaitan *et al.*, 2002; Blair *et al.*, 2006) (Cuadro 3).

## 5.3. Amplificación de PCR

En general se utilizaron las condiciones estandarizadas en el Laboratorio de Genética Molecular del CIBA, reportadas por Castañeda (2010), para el medio de reacción y programa del termociclador. Para la reacción PCR se utilizó una mezcla de reacción de 20  $\mu$ l en volumen (4  $\mu$ l de buffer Tris HCl 5X, 2  $\mu$ l de MgCl<sub>2</sub> (25  $\mu$ M), 0,4  $\mu$ l dNTPs (10  $\mu$ M), 0,2  $\mu$ l Primer F y 0,2  $\mu$ l Primer R (100  $\mu$ M), 0,2  $\mu$ l Taq polimerasa (5 Unid/  $\mu$ l), 10  $\mu$ l de ADN genómico a una concentración de 2,5 ng/ $\mu$ l y 1  $\mu$ l BSA (1 mg/ ml).

La amplificación de los microsatélites se realizó en un termociclador PTC-100 de Biorad, utilizando un programa de aproximadamente 2 horas de duración: 1 ciclo a 94°C/3 min; 1 ciclo a 92°C/15s, 50°C/15s, 72°C/15s; y 34 ciclos a 92 °C/15 s a 40 °C/40 s y a 72 °C/1 min y 20 s; y la extensión final a 72° C/7 min. Los productos de amplificación (PCR) se separaron por electroforesis vertical en geles de acrilamida al 4% con revelación en nitrato de plata. Luego se digitalizó la imagen con el analizador de imágenes (Chemidoc-BIORAD). El tamaño de todos los fragmentos se determinó por comparación de las bandas microsatélites con un marcador de peso molecular de 300pb (Promega) que fue colocado en el carril 25 de un gel con 52 carriles. Para el análisis solo se utilizaron los microsatélites que reprodujeron bandas bien definidas de buena resolución.

## 5.4. Evaluación molecular

Para el estudio de la diversidad genética se cuantificó el número de fragmentos amplificados a partir de la lectura en los geles de acrilamida por conteo directo para todos los SSR, y siguiendo la metodología de Hames y Rickwood (1981), se calculó la talla de dichos fragmentos. Se le asignó el alelo correspondiente a cada SSR por accesión y se preparó una matriz de genotipado que se utilizó para estimar el número de alelos por locus SSR, las frecuencias alélicas por locus y promedio. También se calculó el índice de polimorfismo (PIC), mediante la fórmula:

Cuadro 3. Marcadores moleculares microsatélites (SSR) utilizados para el estudio de la diversidad genética de 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Código SSR	Directo/Reverso	N° de Alelos	Rango de longitud (pb)	
			Mínimo	Máximo
BM139	TTAGCAATACCGCCATGAGAG ACTGTAGCTCAAACAGGGCAC	13	84	118
BM140	TGCACAACACACATTTAGTGAC CCTACCAAGATTGATTTATGGG	8	160	210
BM142	TTCCGCTAGTTGGATATTAGAG AGCCCGTTCCTTCGTTTAG	6	155	159
BM143	GGGAAATGAACAGAGGAAA ATGTTGGGAACTTTTAGTGTG	18	118	176
BM155	G TTCATGTTTGTTTGACAGTTCA CAGAAGTTAGTGTGGTTTGATACA	5	114	126
BM156	CTTGTCCACCTCCCATCATAGC TGCTTGCATCTCAGCCAGAATC	16	210	315
BM160	CGTGCTTGGCGAATAGCTTTG CGCGGTTCTGATCGTGACTTC	11	183	265
BM164	CCACCACAAGGAGAAGCAAC ACCATTCAGGCCGATACTCC	12	139	186
BM170	AGCCAGGTGCAAGACCTTAG AGATAGGGAGCTGGTGGTAGC	14	155	182
BM171	TGGCATTTCAGATTAACACTCC CTTCCTTGCTGTTTCCACTG	-	149	-
BM172	CTGTAGCTCAAACAGGGCACT GCAATACCGCCATGAGAGAT	11	82	110
BM175	CAACAGTTAAAGGTCGTCAAATTT CCACTCTTAGCATCAACTGGA	16	145	215
BM181	ATGCTGCGAGTTAATGATCG TGAGGAGCAAACAGATGAGG	9	182	193
BM183	CTCAAATCTATTCAGTGGTCAGC TCTTACAGCCTTGCAGACATC	11	134	160
BM184	AGTGCTCTATCAAGATGTGTG ACATAATCAATGGGTCAGT	10	150	168
BM189	CTCCCACTCTCACCCTCACT GCGCCAAGTGAACTAAGTAGA	6	107	116
BM197	TGGACTGGTCGATACGAAGC CCCAGAAGATTGAGAACACCAC	4	195	203
BM202	ATGCGAAAGAGGAACAATCG CCTTTACCCACACGCCTTC	7	138	158
BM205	CTAGACCAGGCAAAGCAAGC TGAGCTGGGATTTCAATTTCTG	9	135	154
AG1	CATGCAGAGGAAGCAGAGTG GAGCGTCGTCGTTTCGAT	7	126	142

Fuente: Gaitán-Solis *et al.*, 2002; Blair, *et al.*, 2006; Pérez, M 2008

$$PIC = 1 - \sum f_i^2$$

donde,  $f_i$  es la frecuencia del alelo  $i$  calculada para cada locus.

Asimismo, se calculó el número de fragmentos polimórficos en la población a fin de contabilizar la presencia o no de accesiones homogéneas y/o heterogéneas por cada marcador SSR. Por otra parte, para establecer las relaciones genéticas entre los materiales, se realizó un análisis de conglomerados basado en el índice de similaridad de Dice (1945), usando el método de ligamiento promedio no ponderado (UPGMA), a partir de una matriz binaria de presencia y ausencia de bandas. Adicionalmente se realizó un análisis de coordenadas principales. Los datos fueron procesados mediante el programa PAST versión 1,6. (Hammer *et al.*, 2001).

## **6. DISEÑO DE ESQUEMAS DE CRUZAMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE POBLACIONES PREMEJORADAS DE AMPLIA BASE GENÉTICA**

### **6.1. Extracción de ADN y amplificación de PCR**

Para la extracción de ADN de los híbridos obtenidos en el primer y segundo ciclo de cruzamiento, se usaron foliolos de plántulas 21 dds, siguiendo la misma metodología usada para semillas germinadas con ligeras modificaciones. En general se utilizaron las condiciones estandarizadas en el Laboratorio de Genética Molecular del CIBA, reportadas por Castañeda (2010), para el medio de reacción y programa del termociclador. Asimismo, se digitalizó la imagen con el analizador de imágenes (Chemidoc-BIORAD) y solo se utilizaron los microsátélites polimórficos que reprodujeron bandas bien definidas de buena resolución.

### **6.2. Selección de progenitores y diseño de cruzamiento**

Con base a la información obtenida en esta investigación sobre caracteres morfológicos, reacciones ante las enfermedades bacteriosis común de la caraota (*Xanthomonas phaseoli*) y pudrición carbonosa (*Macrophomina phaseolina*), así como la distancia genética, se seleccionaron ocho accesiones que fueron utilizadas como progenitores en un diseño multiparental. Se efectuaron siembras semanales durante tres semanas con el fin de

sincronizar la floración y disponer de suficiente cantidad de flores abiertas y en estado de botón, garantizando así la realización de los cruces. Para asegurar un muestreo adecuado de los genes necesarios o alelos favorables aportados por cada padre involucrado en los cruzamientos, la polinización dirigida se realizó planta a planta en pares, entre las hembras y machos, independientemente del sentido de cruce, siguiendo la metodología del CIAT (1982).

### **6.3. Riqueza alélica**

La riqueza alélica o diversidad cualitativa se evaluó en los diferentes tipos de cultivares de la población original en comparación con la estructura genética de los padres vistos en conjunto. Para ello, se cuantificó el número de alelos para cada microsatélite, así como el índice de polimorfismo (PIC), mediante la fórmula:

$$PIC = 1 - \sum f_i^2$$

donde,  $f_i$  es la frecuencia del alelo  $i$  calculada para cada locus.

Esto permitió calcular el total de alelos y rango de alelos para los 10 loci, así como el promedio de alelos/locus y promedio de PIC/locus. Así, también se evaluó el efecto de la selección de los padres sobre la diversidad genética presente en las poblaciones desarrolladas en comparación con los materiales comerciales y líneas avanzadas en los programas de mejoramiento de la UCV e INIA y los introducidos del CIAT.

### **6.4. Verificación del estado heterocigota de las plantas $F_1$**

Inicialmente, se identificaron aquellos SSR que resultaron ser polimórficos para cada par de parentales utilizados en el cruce durante el primer ciclo de cruzamiento y así seleccionar aquellos que permitieron discriminarlos por su patrón de bandas. En vista de que el SSR polimórfico presentó alelos distintos para cada progenitor, el estado heterocigota de la planta  $F_1$  fue posible corroborar por la presencia de dos bandas amplificadas. Esto permitió identificar cual de los cruces realizados fueron efectivos y si realmente se obtuvo una combinación de alelos entre los padres.

### 6.5. Diversidad genotípica de los cruzamientos múltiples.

A fin de evaluar la diversidad de la población se calculó la frecuencia esperada y observada en el segundo ciclo de cruzamiento. También se calculó el índice de endocría ( $F_{IS}$ ) mediante la fórmula:

$$F_{IS} = (H_e - H_o) / H_e$$

donde,

$H_e$  es la heterocigocidad esperada, calculada sobre la base de las frecuencias alélicas, y

$H_o$  se determina por el conteo directo de los heterocigotas en la población.

El valor de  $F_{IS}$  puede estar entre -1 y +1. Si se presenta un alto número de heterocigotas, el valor de  $F_{IS}$  sería menor de cero ( $F_{IS} < 0$ ), mientras que si el número de heterocigotas es deficiente, entonces el valor de  $F_{IS}$  sería superior a cero ( $F_{IS} > 0$ ) (Ramis *et al.*, 2005). Por tanto, para evidenciar un aumento en la base genética de la población diseñada en esa fase intermedia de cruzamiento, se esperaría que los valores del índice de endocría sean negativos.

### 6.6. Recombinantes

Otro aspecto importante para evaluar la variabilidad en la base genética de la población premeorada es la formación de nuevas combinaciones alélicas entre los loci de los diferentes microsatélites para la formación de nuevos genotipos. Para evaluarlo se comparó el número y proporción de los recombinantes esperados en el primer y segundo ciclo de cruzamiento con el uso de los cruzamientos biparentales y tetraparentales, así como una proyección de lo que se esperaría en un diseño multiparental con los ocho padres involucrados.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **1. CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA DE ACCESIONES DE CARAOTA CON BASE EN LOS DESCRIPTORES MORFOLÓGICOS RECOMENDADOS POR EL IPGRI.**

Los descriptores morfoagronómicos corresponden a los caracteres que son relevantes en la utilización de las especies cultivadas. Pueden incluir descriptores relacionados con componentes de rendimiento con el objeto de proveer a los fitomejoradores indicación del potencial de este carácter en el germoplasma conservado (Hidalgo, 2003). A continuación se presentan los descriptores de tipo cualitativo, seguido de los cuantitativos.

#### **1.1. Características Cualitativas**

Los caracteres cualitativos son altamente heredables, de fácil registro visual y con expresión constante en todos los ambientes. Sin embargo, no todas las características se expresan con la misma intensidad, más bien se pueden presentar diferentes grados de expresión que se traducen en categorías de variables y se registran mediante una escala de valores (Hidalgo, 2003). La descripción de los caracteres morfológicos cualitativos se señalan en el Cuadro 4.

Adicionalmente, dado que los datos utilizados en este estudio fueron de tipo ordinal y nominal, los resultados también se representaron gráficamente mediante el uso de histogramas de frecuencia relativa. A su vez, fueron analizados con el índice de Nei, que toma en cuenta el número de categorías y su frecuencia relativa. Dado que el valor de Nei oscila entre 0-1, habrá mayor diversidad en la medida que se presente mayor número de categorías y mayor uniformidad de la frecuencia de esas categorías.

A continuación se presentan los resultados obtenidos, inicialmente presentando la evaluación de las características de la planta (hábito de crecimiento, color de hipocótilo y del tallo), seguida de las características de la flor (color de alas y estandarte), características del fruto (color de vaina inmadura y perfil de vaina), y finalmente las características de la semilla (color, intensidad de brillo y forma).

Cuadro 4. Caracterización de las variables morfológicas cualitativas de las 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) evaluadas.

N°	Color hipocotilo <sup>1</sup>	Hábito <sup>2</sup>	Color Tallo <sup>1</sup>	Color flores (ala y estand) <sup>3</sup>	color vaina <sup>4</sup>	perfil vaina <sup>5</sup>	Color primario semilla <sup>6</sup>	Color sec semilla <sup>6</sup>	brillo semilla <sup>7</sup>	Forma semilla (J) <sup>8</sup>	Forma semilla (H) <sup>9</sup>	Tamaño semilla <sup>10</sup>
1	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver-mor	mcu	neg		opa	esf	acha	peq
2	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		opa	arr peq	semi abu	peq
3	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	arr peq	acha	peq
4	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	eli	acha	peq
5	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
6	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver-mor	mezcla	neg		opa	eli	acha	peq
7	ver	II	ver	ros	ver-ama	rec	ros	bei	int	eli	abu	med
8	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
9	ver pig int	I,II	ver pig int	vio osc	ver-mor	mcu	neg		opa	eli	acha	peq
10	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ama-mor	rec	neg		opa	eli	acha	peq
11	ver	II	ver	ros	ver-ama	mcu	ros	bei	int	eli	abu	med
12	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		opa	eli	acha	peq
13	ver pig int	II	pig int	vio osc	ama-mor	mcu	neg		opa	eli	acha	peq
14	ver pig int	I	ver pig int	vio osc	ver-mor	mcu	neg		opa/int/bri	arr pqña	semi abu	peq
15	ver pig int	II	pig int	vio osc	ama-mor	mcu	neg		opa	esf	acha	peq
16	ver pig int	II	pig int	vio cla	ama-mor	mcu	neg		opa	eli	semi abu	peq
17	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	mor	mcu	neg		opa	eli	acha	peq
18	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ama-mor	mezcla	neg		opa	arr peq	acha	peq
19	ver pig int	II	pig int	vio osc	ama-mor	rec	neg		opa	arr peq	acha	peq
20	ver pig int	III	ver pig int	vio osc	ver	mcu	neg		opa	arr peq	semi abu	peq
21	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver-mor	mezcla	neg		opa	eli	semi abu	peq
22	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ama-mor	mezcla	neg		opa	eli	semi abu	peq
23	ver	I	ver	ros	ver	rec	mar		bri	arr gde	acha	med
24	ver pig int	I,II	ver pig int	vio osc	ver	mcu	neg		opa	eli	semi abu	peq
25	ver pig int	I,II,III	ver pig int	vio osc	ama-mor	rec	neg		opa	eli	acha	peq
26	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	mcu	neg		opa	eli	acha	peq
27	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		opa/int	eli	semi abu	peq
28	ver pig int	II	ver pig int	vio cla	ver	rec	neg		opa	eli	acha	peq
29	ver pig int	III	ver pig int	vio osc	ver	mcu	neg		opa	eli	acha	peq
30	ver	II	ver	bla	ver-ama	mcu	bla		int	arr peq	semi abu	med
31	ver	II	ver	bla	ver	rec	mar		int	arr peq	acha	med
32	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	eli	acha	peq
33	ver	II	ver	bla	ver	rec	mar		int	arr peq	acha	med
34	ver	II	ver	ros	ama	rec	mar		int/bri	arr gde	acha	med
35	ver	II	ver pig int	bla	ver-mor	mezcla	roja		int	arr peq	acha	peq
36	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	cur	neg		opa	eli	acha	peq
37	ver	II	ver pig int	bla	ver	rec	mar		int	arr peq	acha	peq
38	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	arr peq	acha	peq

Cuadro 4. Continuación

N°	Color hipocotilo <sup>1</sup>	Hábito <sup>2</sup>	Color Tallo <sup>1</sup>	Color flores (ala y estand) <sup>3</sup>	color vaina <sup>4</sup>	perfil vaina <sup>5</sup>	Color primario semilla <sup>6</sup>	Color sec semilla <sup>6</sup>	brillo semilla <sup>7</sup>	Forma semilla (J) <sup>8</sup>	Forma semilla (H) <sup>9</sup>	Tamaño semilla <sup>10</sup>
39	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	arr peq	acha	peq
40	ver	I	ver	ros	ver-ama	mcu	mar		int	arr gde	semi abu	gde
41	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
42	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
43	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver-mor	mcu	neg		opa	eli	semi abu	peq
44	ver	II	ver	ros	ver-ama	rec	mar		int	eli	semi abu	med
45	ver	I	ver	ros	ver-ama	rec	ros		int	eli	abultada	med
46	ver	II	ver	bla	ver	mcu	pur	bei	op/int	arr media	acha	med
47	ver	I, II	ver	ros	ver-ama	mcu	mar		int	eli	abultada	med
48	ver pig int	II	ver pig int	vio cla	ver	rec	neg		opa	eli	acha	peq
49	ver	II	ver	bla	ver	rec	ros		int/bri	eli	semi abu	med
50	ver	II	ver	bla	ver-ama	rec	ros		int	arr peq	semi abu	med
51	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
52	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
53	ver	II	ver	ros	ver-ama	rec	ros		int	arr peq	semi abu	med
54	ver	I, II	ver	ros	ver-ama	rec	ros		int	eli	abultada	med
55	ver	II	ver	ros	ver-ama	rec	ros		int	eli	semi abu	med
56	ver	I	ver	bla	ver-ama	rec	mar		op/int/bri	eli	semi abu	med
57	ver	II	ver	bla	ver-ama	mcu	bla		int	arr peq	semi abu	peq
58	ver pig int	I	ver pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
59	ver pig int	I	ver pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
60	ver pig int	I	ver pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
61	ver pig int	I	ver pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
62	ver pig int	I	ver pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		int	eli	acha	med
63	ver pig int	I	ver pig int	vio osc	ver	mezcla	neg		opa	eli	semi abu	peq
64	ver	I	ver	bla	ver-ama	rec	mar		opa	arr gde	semi abu	med
65	ver	I	ver	bla	ver-ama	rec	pur		int	arr gde	semi abu	med
66	ver	I	ver	ros	ver-ama	rec	mar		bri	arr gde	semi abu	med
67	ver	I	ver	bla	ver-ama	mcu	bla		int	arr peq	abultada	peq
68	ver	I	ver	ros	ver	rec	pur		bri	eli	semi abu	med
69	ver pig int	I	ver pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
70	ver pig int	II	pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
71	ver pig int	II	pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		opa	eli	acha	peq
72	ver pig int	I	ver pig int	vio cla	ama	rec	neg		bri	arr peq	semi abu	med
73	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		opa	eli	acha	peq
74	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
75	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	eli	acha	peq
76	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq

Cuadro 4. Continuación

Nº	Color hipocotilo <sup>1</sup>	Hábito <sup>2</sup>	Color Tallo <sup>1</sup>	Color flores <sup>3</sup> (ala y estand)	color vaina <sup>4</sup>	perfil vaina <sup>5</sup>	Color primario semilla <sup>6</sup>	Color sec semilla <sup>6</sup>	brillo semilla <sup>7</sup>	Forma semilla (J) <sup>8</sup>	Forma semilla (H) <sup>9</sup>	Tamaño semilla <sup>10</sup>
77	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ama-mor	mcu	neg		opa	eli	semi abu	peq
78	ver pig int	I	ver pig int	vio cla	ver	rec	neg		opa	arr peq	acha	peq
79	ver pig int	II	ver pig int	vio cla	ama-mor	rec	neg		opa	arr peq	semi abu	peq
80	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ama-mor	rec	neg		opa	eli	acha	peq
81	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ama-mor	rec	neg		opa	arr peq	acha	peq
82	ver pig int	II	pig int	vio osc	mor	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
83	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		opa	eli	acha	peq
84	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
85	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	mcu	neg		opa	eli	acha	peq
86	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	mcu	neg		opa	eli	semi abu	peq
87	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
88	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ama-mor	rec	neg		opa	arr peq	semi abu	peq
89	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
90	ver pig int	II	ver pig int	vio cla	ver	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
91	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	eli	acha	peq
92	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
93	ver pig int	II	ver pig int	vio cla	ver	mcu	neg		opa	arr peq	semi abu	peq
94	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
95	ver pig int	II	ver	ros	ama	cur	pur		bri	eli	semi abu	med
96	ver	I	ver	bla	ver-mor	rec	mar	pur	opa	arr gde	semi abu	med
97	ver pig int	II	pig int	vio osc	ver-mor	mcu	neg		opa	eli	acha	peq
98	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver-mor	rec	neg		opa	eli	semi abu	peq
99	ver pig int	IV	ver pig int	vio osc	ver	rec	bei		opa	eli	acha	peq
100	ver pig int	IV	pig int	vio osc	ver	mcu	neg		opa	eli	semi abu	peq
101	ver pig int	II	ver pig int	vio osc	ver	rec	neg		opa	arr peq	semi abu	peq
102	ver pig int	IV	ver pig int	vio osc	ama-mor	rec	neg		opa	arr peq	semi abu	peq

1: ver=verde, ver pig int= verde con pigmentación tenue, ver pig int= verde con pigmentación intensa

2: I= arbustivo determinado, II= arbustivo indeterminado, III= prostrado indeterminado, IV= trepador indeterminado

3: bla= blanco, ros= rosado, vio cla= violeta claro, vio osc= violeta oscuro

4: ver: verde, ver-ama= verde con pigmento amarillo, ama= amarillo, ama-mor= amarillo con pigmento morado, mor= morado, ver-mor= verde muy pigmentado de morado.

5: rec= recto, mcu= medianamente curvo, cur= curvado, rvo= recurvado.

6: bla= blanco, bei= beige, ama= amarillo, mar= marrón, ros= rosado, roj= rojo, pur= púrpura, neg= negro, gri=gris.

7: opa= opaco, int= intermedio, bri= brillante.

8: esf= esférica, eli= elíptica, arr peq= arriñonada pequeña, arr med= arriñonada mediana, arr gde= arriñonada grande.

9: acha= achatada, semi ab= semi abultada, abu= abultada.

10: peq= pequeña, med= mediana, gde= grande.

Las variedades locales y semi-domesticadas mostraron la mayor diversidad de tipos de hábitos de crecimiento con valores de índice de Nei de 0,53 y 0,59, respectivamente, encontrándose que en las variedades locales una misma accesión puede presentar diferentes tipos de hábitos de crecimiento (señalados como segregantes) (Figura 1, Cuadro 5). Además, en las líneas avanzadas y variedades comerciales se destaca el hábito de crecimiento arbustivo indeterminado, en un 96% y 100%, respectivamente. Ese resultado era de esperarse por el efecto de la selección hacia plantas erectas que se ha venido realizando en los diferentes programas de mejoramiento genético, al considerar la preferencia de los agricultores (Angola y Hernández, 2010; León, 2015). Resultados similares fueron encontrados en Kenya, donde la presión de selección va dirigida hacia hábito de crecimiento determinado en accesiones de caraota tipo vainita, por estar asociado con plantas de mejor calidad de vainas y reducción en la labor de manejo y cosecha (Arunga *et al.*, 2015). Mientras que en España predomina el hábito de crecimiento trepador indeterminado en un 60% de las variedades (Rodiño, 2000).

En cuanto al color del hipocótilo (Figura 2, Cuadro 6), la mayor diversidad se encontró en las variedades locales, con un índice de Nei de 0,478. Puede observarse predominio del color verde con pigmentación morada tenue en variedades locales (61%) y semi-domesticadas (88%). En las líneas avanzadas y comerciales no se observó el color verde, más bien el 100% de estas presentaron el color verde con pigmentación morada tenue. En ninguno de los casos se observó color de hipocótilo verde con pigmentación intensa. En un trabajo realizado con 107 poblaciones nativas en México (Castillo *et al.*, 2006), los colores del hipocótilo fueron de diferentes tonalidades de verde en las variedades de semilla clara, y morados en las semillas de color negro. Asimismo, Arunga *et al.* (2015) asoció el hipocótilo pigmentado con flores moradas y semillas negras. Por otra parte, el color del tallo (Figura 3, Cuadro 7) presentó su mayor diversidad de colores en las variedades semi-domesticadas (índice de Nei=0,625) seguido de las variedades locales (Nei=0,533) y variedades comerciales (Nei=0,444), donde el color verde con pigmentación intensa estuvo presente en todos los tipos de cultivares. En las líneas avanzadas el 96% de las accesiones presentaron color de tallo verde con pigmentación tenue.

La evaluación de las características morfológicas cualitativas de la flor, tanto alas como estandarte (Figura 4, Cuadro 8), muestran la mayor diversidad de color en las variedades

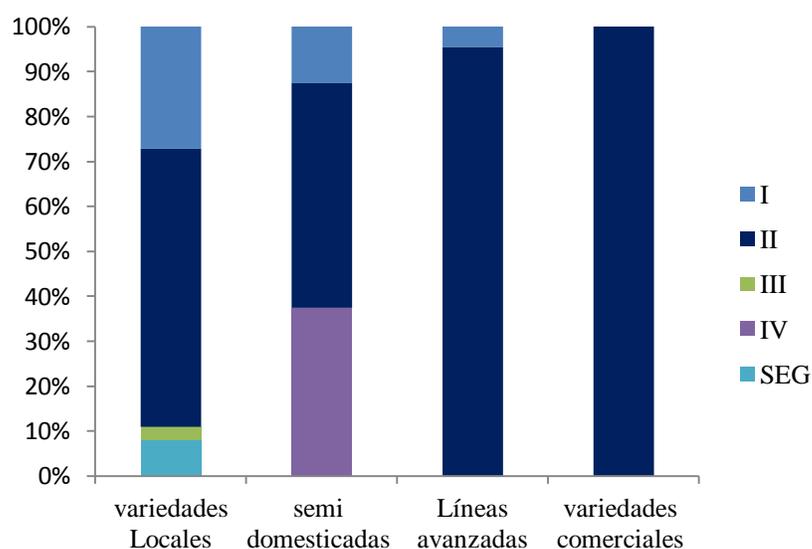


Figura 1. Histograma del carácter cualitativo Hábito de Crecimiento en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Cuadro 5. Frecuencia relativa de las categorías para Hábito de Crecimiento en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Categorías*	Variedades Locales	Semi domesticadas	Líneas avanzadas	Variedades comerciales
I	0,27	0,13	0,05	
II	0,62	0,50	0,96	1,00
III	0,03			
IV		0,38		
Seg	0,08			
<b>Índice de Nei</b>	<b>0,53</b>	<b>0,59</b>	<b>0,09</b>	<b>0</b>

\* I= arbustivo determinado, II= arbustivo indeterminado, III= postrado indeterminado,

IV= trepador indeterminado, Seg = Segregantes o mezclas

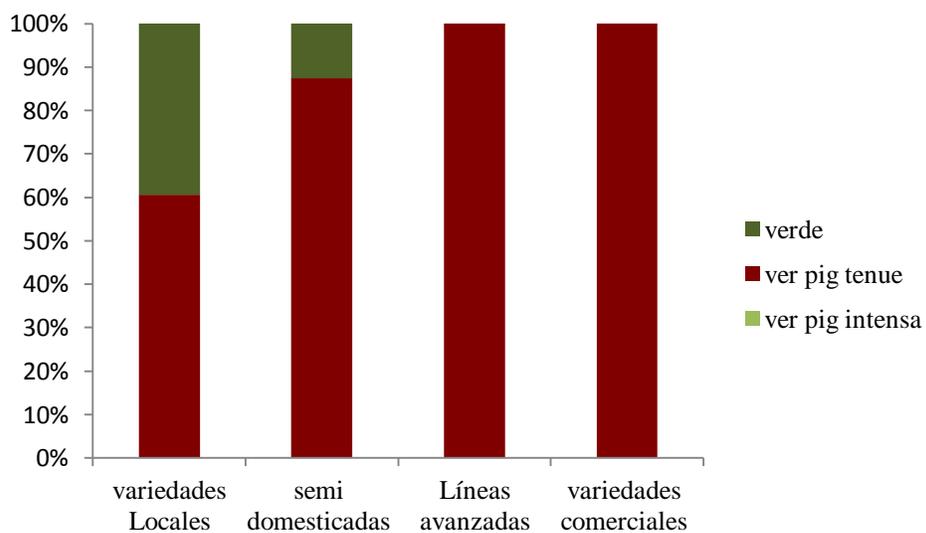


Figura 2. Histograma del carácter cualitativo Color de Hipocótilo en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Cuadro 6. Frecuencia relativa de las categorías para Color de Hipocótilo en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Categorías	Variedades Locales	Semi domesticadas	Líneas avanzadas	Variedades comerciales
verde	0,39	0,13		
verde con pigmentación tenue	0,61	0,88	1,00	1,00
verde con pigmentación intensa				
<b>Índice de Nei</b>	<b>0,478</b>	<b>0,219</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

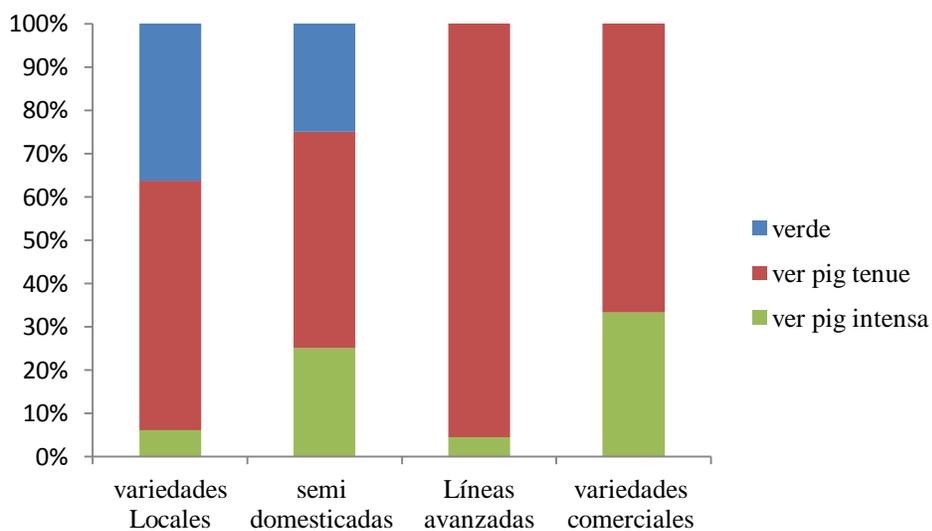


Figura 3. Histograma del carácter cualitativo Color de Tallo en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Cuadro 7. Frecuencia relativa de las categorías para Color de Tallo en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Categorías	Variedades locales	Semi domesticadas	Líneas avanzadas	variedades comerciales
verde	0,36	0,25		
verde con pigmentación tenue	0,58	0,50	0,96	0,67
verde con pigmentación intensa	0,06	0,25	0,05	0,33
<b>Índice de Nei</b>	<b>0,533</b>	<b>0,625</b>	<b>0,086</b>	<b>0,444</b>

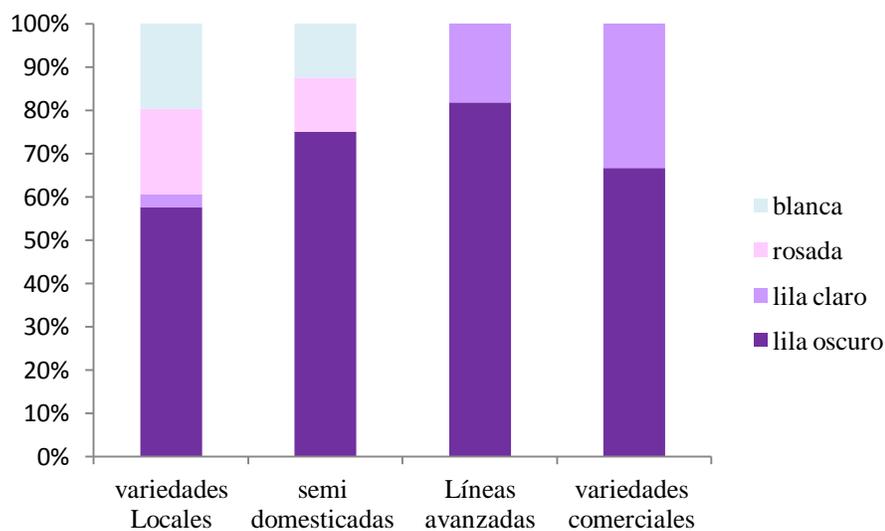


Figura 4. Histograma del carácter cualitativo Color de Flor en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Cuadro 8. Frecuencia relativa de las categorías para Color de Flor en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Categorías	Variedades Locales	Semi domesticadas	Líneas avanzadas	Variedades comerciales
blanca	0,20	0,13		
rosada	0,20	0,13		
lila claro	0,03		0,18	0,33
lila oscuro	0,58	0,75	0,82	0,67
<b>Índice de Nei</b>	<b>0,590</b>	<b>0,406</b>	<b>0,298</b>	<b>0,444</b>

locales (índice de Nei de 0,59) con presencia de todos los colores: blanco (20%), rosado (20%), lila claro (3%) y lila oscuro (58%). Le sigue en diversidad las comerciales (0,444) y semi-domesticadas (0,406), con un menor valor de índice de Nei en las líneas avanzadas de 0,298, predominando el color lila oscuro en un 67%, 75% y 82% de las accesiones, respectivamente. En todas las accesiones evaluadas del presente trabajo el color de la flor fue uniforme en toda la corola. Resultados similares fueron obtenidos por Castillo *et al.* (2006) y Rodiño (2000).

En relación a las características morfológicas cualitativas del fruto, el menor valor de índice de Nei, a diferencia de las características de la planta y de la flor, lo presentó las variedades locales para color de vaina inmadura (Figura 5, Cuadro 9), con un valor de 0,272. Sin embargo fue en el único tipo de cultivar donde la vaina presentó siete colores diferentes. En la mayoría de los casos predominó el color verde (valores de frecuencia oscilaron entre 0,36 y 0,59), con excepción de las variedades comerciales, donde el color amarillo con pigmento morado alcanzó la frecuencia más alta de 0,5. En las accesiones evaluadas no se observaron vainas de color amarillo con pigmento café rojizo, morado con pigmento café, ni color café rojizo. En un trabajo con accesiones de caraota tipo vainita realizado en Kenya, también encontraron un bajo nivel de diversidad en color de vaina inmadura con predominio de color verde (Arunga *et al.*, 2015). Asimismo, en 290 poblaciones locales de caraota procedentes de distintas zonas de España, la mayoría de las vainas de las variedades estudiadas fueron de color verde (87%) (Rodiño, 2000). Los valores de índice de Nei para perfil de vaina (Figura 6, Cuadro 10) oscilaron entre 0,5 y 0,6, observándose una gran diversidad y presencia de segregantes o mezclas para todos los tipos de cultivares, con representación de todas las categorías en las variedades locales y semidomesticadas.

Finalmente, la evaluación de las características morfológicas cualitativas de la semilla se señalan en las Figuras 7-11. Los mayores valores de diversidad fueron encontrados en las variedades locales con valores de índice de Nei por encima de 0,53 para todas las variables. En relación al color primario (Cuadro 11), no se observaron semillas amarillas ni grises, y casi una total ausencia de color secundario (Cuadro 12), con una frecuencia muy baja ( $\leq 0,13$ ). Todas las categorías de intensidad de brillo de las semillas (Cuadro 13) fueron observadas en las variedades locales, donde se presentó la mayor diversidad (índice 0,591)

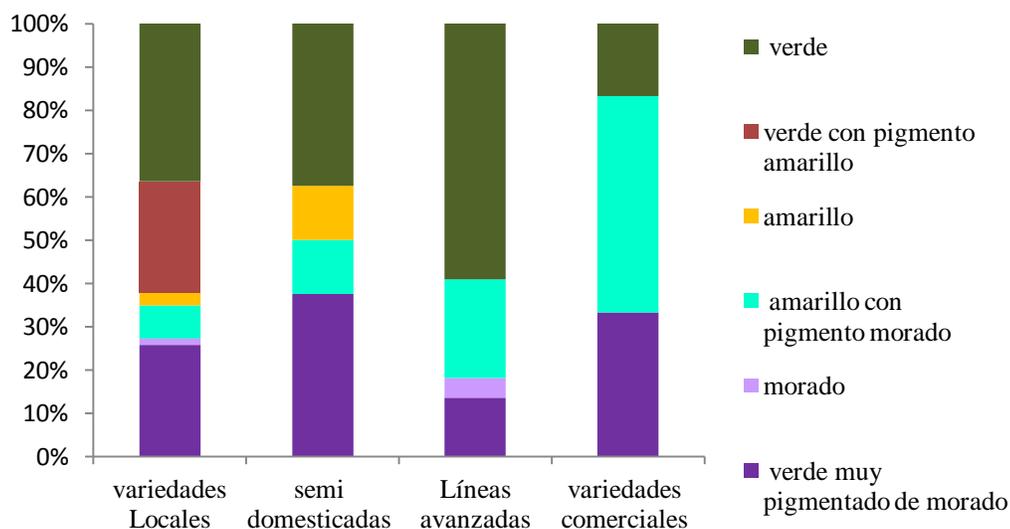


Figura 5. Histograma del carácter cualitativo Color de Vaina Inmadura en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Cuadro 9. Frecuencia relativa de las categorías para Color de Vaina Inmadura en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Categorías	Variedades Locales	Semi domesticadas	Líneas avanzadas	Variedades comerciales
verde	0,36	0,38	0,59	0,17
verde con pigmento amarillo	0,26			
amarillo	0,03	0,13		
amarillo con pigmento morado	0,08	0,13	0,23	0,50
morado	0,02		0,05	
verde muy pigmentado de morado	0,26	0,38	0,14	0,33
<b>Índice de Nei</b>	<b>0,272</b>	<b>0,688</b>	<b>0,579</b>	<b>0,611</b>

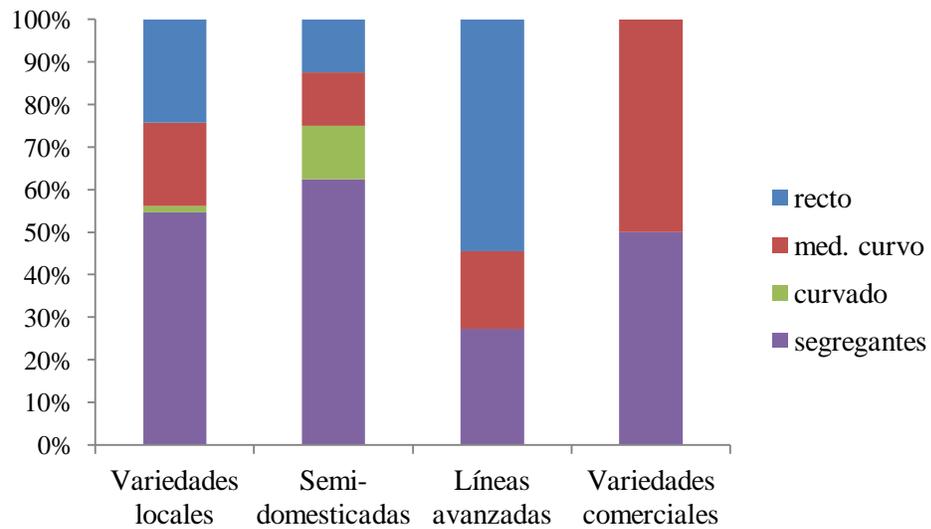


Figura 6. Histograma del carácter cualitativo Perfil de Vaina en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Cuadro 10. Frecuencia relativa de las categorías para Perfil de Vaina en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Categorías	Variedades locales	Semi-domesticadas	Líneas avanzadas	Variedades comerciales
recto	0,24	0,13	0,55	
medianamente curvo	0,20	0,13	0,18	0,50
curvado	0,02	0,13		
segregantes	0,55	0,63	0,27	0,50
<b>Índice de Nei</b>	0,604	<b>0,563</b>	0,595	0,500

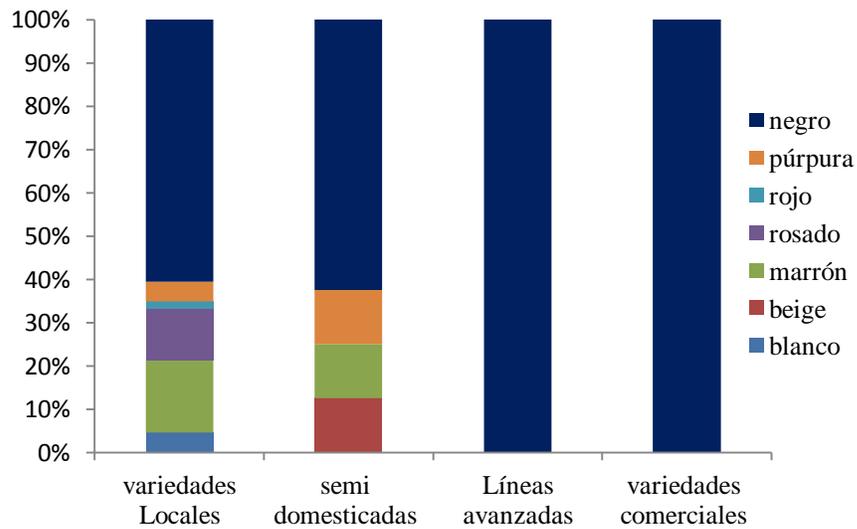


Figura 7. Histograma del carácter cualitativo Color Primario de Semilla en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Cuadro 11. Frecuencia relativa de las categorías para Color Primario de Semilla en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Categorías	Variedades Locales	Semi domesticadas	Líneas avanzadas	Variedades Comerciales
blanco	0,05			
beige		0,13		
marrón	0,17	0,13		
rosado	0,12			
rojo	0,02			
púrpura	0,05	0,13		
negro	0,61	0,63	1,00	1,00
<b>Índice de Nei</b>	<b>0,586</b>	<b>0,563</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>

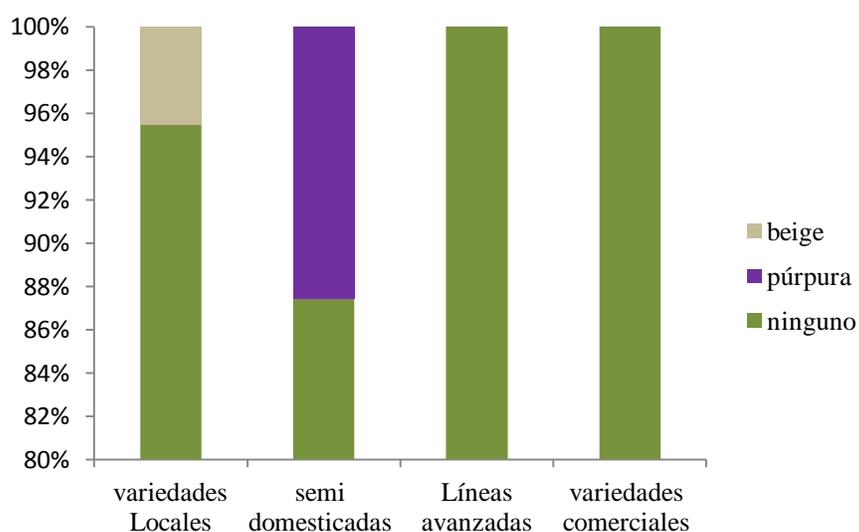


Figura 8. Histograma del carácter cualitativo Color Secundario de Semilla en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Cuadro 12. Frecuencia relativa de las categorías para Color Secundario de Semilla en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Categorías	Variedades Locales	Semi domesticadas	Líneas avanzadas	Variedades comerciales
beige	0,05			
púrpura		0,13		
ninguno	0,95	0,87	1	1
<b>Índice de Nei</b>	<b>0,095</b>	<b>0,227</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>

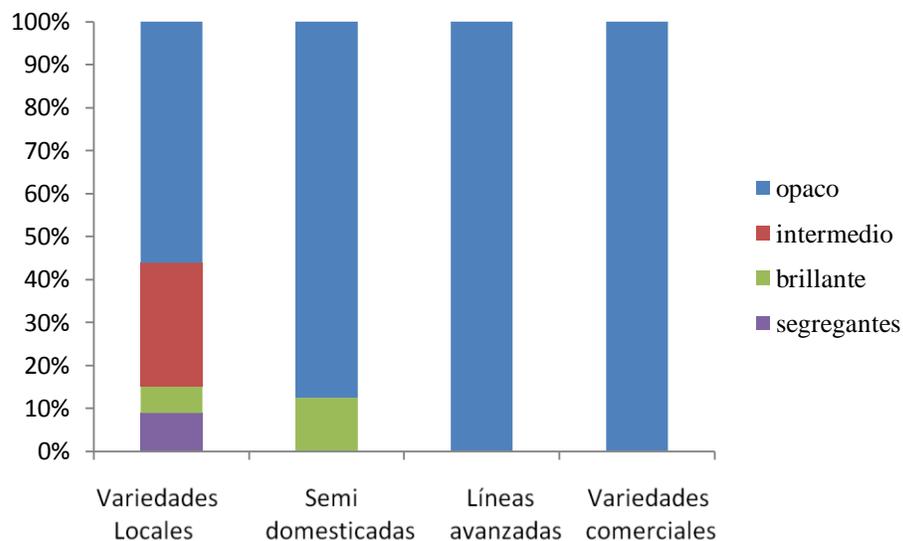


Figura 9. Histograma del carácter cualitativo Intensidad de Brillo de Semilla en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Cuadro 13. Frecuencia relativa de las categorías para Intensidad de Brillo de Semilla en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Categorías	Variedades Locales	Semi domesticadas	Líneas avanzadas	Variedades comerciales
opaco	0,56	0,88	1,00	1,00
intermedio	0,29			
brillante	0,06	0,13		
segregantes	0,09			
<b>Índice de Nei</b>	<b>0,591</b>	<b>0,219</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>

y fue el único tipo de cultivar con segregantes o mezclas. Se destacan las semillas opacas, con una frecuencia  $\geq 0,56$  para todos los tipos de cultivares. La forma de la semilla más común tomando en cuenta los criterios J (largo/ancho) y H (grosor/ancho) fue la elíptica y la semi abultada (Cuadros 14 y 15). En un estudio realizado con poblaciones nativas de caraota común en México, también se observaron variantes en forma, tamaño, color y tipo variegado de semilla con mezclas de dos o tres variedades (Castillo *et al.*, 2006), con predominio de la semilla truncada (51,4%), seguida por la arriñonada (17,8%). Según los autores, las mezclas son ventajosas porque les brindan un margen de seguridad agricultores. En las variedades estudiadas de España, hubo mayor presencia de semillas grandes y medianas, con una gran variabilidad en la forma y color de las semillas, predominando las semillas arriñonadas (44%) y blancas (48%) (Rodiño, 2000). En el presente trabajo, es de hacer notar que el 100% de las líneas avanzadas y comerciales presentaron semillas de color negro e intensidad opaca, con predominio de forma elíptica (frecuencia  $\geq 0,67$ ). Esto muy probablemente se deba a que en Venezuela, la preferencia mayoritaria es por las caraotas de grano negro, opacas y pequeñas (Voysest, 2000, Pérez *et al.*, 2013), a diferencia de España, donde en general se prefiere el grano blanco de tamaño grande (Rodiño, 2000). Estos resultados evidencian una mayor diversidad de características morfológicas cualitativas en las variedades locales y las semi-domesticadas para características de la planta (hábito de crecimiento, color de hipocótilo y color del tallo), así como color de las flores y características de la semilla (color, intensidad de brillo y forma), en comparación con las líneas avanzadas y comerciales. Esto parece reflejar que los niveles de diversidad seleccionados por los productores de caraota durante el proceso inicial de domesticación, aún se preservan en sus cultivares locales. Asimismo, se puede destacar la presencia de segregantes, para algunas características como hábito de crecimiento, perfil de vaina e intensidad de brillo en la semilla, lo que parece reflejar mezcla de semillas por parte de los productores en sus variedades locales. Este tipo de cultivar también se destacó por la presencia de la mayoría de las variables para todas las características, incluso en aquellos casos donde su valor de diversidad fue menor, como el caso color de vaina inmadura. Adicionalmente, se puede deducir que las líneas avanzadas y comerciales en Venezuela dirigen sus programas de mejoramiento genético hacia el hábito de crecimiento arbustivo

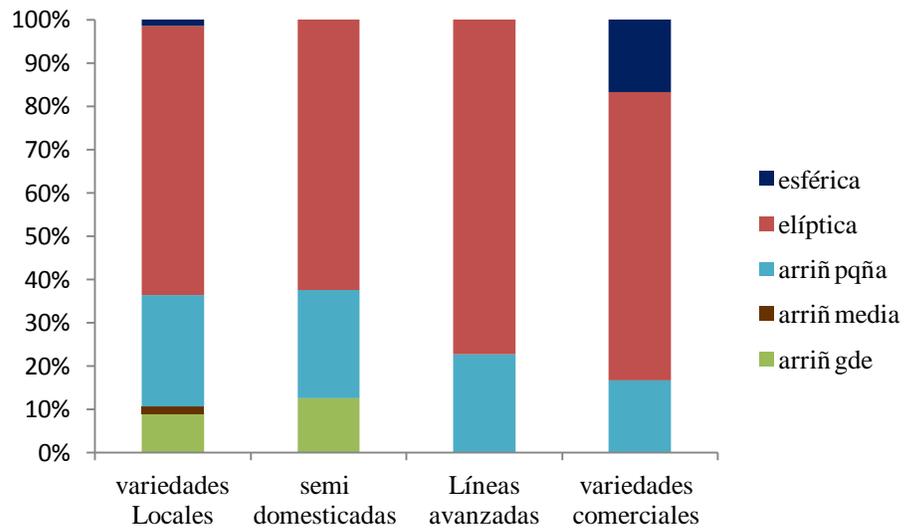


Figura 10. Histograma del carácter cualitativo Forma de Semilla (J=largo/ancho) en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Cuadro 14. Frecuencia relativa de las categorías para Forma de Semilla (J=largo/ancho) en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Categorías	Variedades locales	Semi domesticadas	Líneas avanzadas	Variedades comerciales
esférica	0,02			0,17
elíptica	0,62	0,63	0,77	0,67
arriñonada grande	0,09	0,13		
arriñonada media	0,02			
arriñonada pequeña	0,26	0,25	0,23	0,17
<b>Índice de Nei</b>	<b>0,539</b>	<b>0,531</b>	<b>0,351</b>	<b>0,501</b>

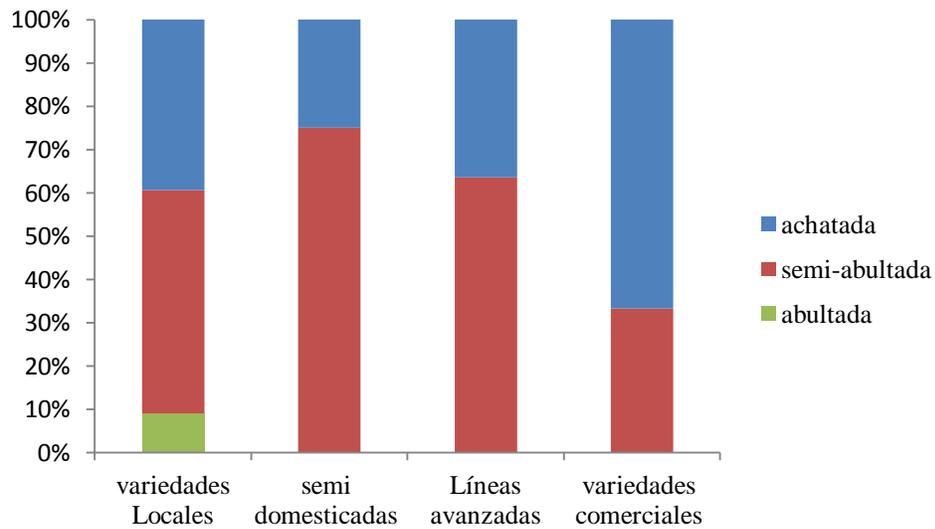


Figura 11. Histograma del carácter cualitativo Forma de Semilla (H=grosor/ancho) en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Cuadro 15. Frecuencia relativa de las categorías para Forma de Semilla (H=grosor/ancho) en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.)

Categorías	Variedades Locales	Semi domesticadas	Líneas Avanzadas	Variedades Comerciales
achatada	0,39	0,25	0,36	0,67
semi-abultada	0,52	0,75	0,64	0,33
abultada	0,09			
<b>índice de Nei</b>	<b>0,571</b>	<b>0,375</b>	<b>0,463</b>	<b>0,444</b>

indeterminado, semillas de color negro e intensidad opaca, con predominio de forma elíptica.

## **1.2. Características Cuantitativas**

Para el análisis de datos cuantitativos la aplicación de estadísticos simples permite estimar y describir el comportamiento de las diferentes accesiones en relación con cada carácter. En el presente estudio, se utilizaron las más comunes, a saber: el promedio, la media aritmética, el coeficiente de variación y la desviación estándar ya que proporcionan una idea general de la variabilidad del germoplasma. Posteriormente se realizaron dos análisis multivariados: el análisis de conglomerados y el análisis de componentes principales, ya que para la caracterización de los recursos fitogenéticos, estos permiten una descripción de las accesiones tomando en cuenta simultáneamente varias características, sin dejar de considerar la relación existente entre ellas (Hidalgo, 2003). Se incluye la evaluación conjunta de ambos análisis multivariados destacando la diversidad morfológica por tipo de cultivar.

### **1.2.1. Estadísticos Simples**

En el Cuadro 16 se presentan los estadísticos descriptivos de los ocho caracteres cuantitativos evaluados. Las variables longitud de vaina y número de semillas/vaina presentaron la menor dispersión de los datos según su desviación estándar. Mientras que la variable peso de semilla de 10 plantas mostró la desviación más alta. Asimismo, las variables que mostraron menor coeficiente de variación fueron días a cosecha y días a floración, con un valor de 5,42% y 9,8%, respectivamente. Mientras que los mayores coeficientes de variación fueron peso de semillas de 10 plantas (34,94%) y número de vainas por planta (31,32%). En un estudio realizado por González *et al.* (2007), al evaluar 86 accesiones de caraota del banco de germoplasma INIA-CENIAP, también obtuvo un bajo coeficiente de variación para longitud de vaina de 10,64% y el mayor coeficiente de variación para número de vainas por planta (44,57%). Asimismo, Rodiño (2000) en España, destacó que la mayor amplitud de los intervalos se observaron principalmente en caracteres relacionados con las vainas y el grano.

Cuadro 16. Estadísticos descriptivos para las variables cuantitativas de los genotipos de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) evaluados.

Variable	Media	D.E.	CV	Mín	Máx
Longitud vaina	8,42	0,9	10,69	4,52	10,97
N° semillas / vaina	4,8	1,03	21,43	2,1	7,1
N° Vainas/ planta	7,42	2,32	31,32	0,7	14,2
Peso semillas de 10 plantas	43,46	15,19	34,94	17,75	89,18
Peso de 100 semillas	21,44	6,32	29,49	13,42	41,21
Días a emergencia	6,27	1,09	17,32	5	9
Días a floración	43,56	4,27	9,8	35	51
Días a cosecha	82,09	4,45	5,42	70	89

### 1.2.2. Análisis Multivariado

El análisis de los caracteres cuantitativos evaluados, generó un dendrograma construido a partir de las distancias euclidianas con tres niveles de truncadura para el análisis (Figura 12). El primer nivel de truncadura, identificado con la letra A (a un valor de distancia (d) de 0,27), muestra la formación de un grupo con sólo dos variedades locales, muy alejado de los otros grupos. El segundo nivel de truncadura, designado en el cluster con la letra B, permite la formación de dos subgrupos, el subgrupo B1 (d=0,19) y el subgrupo B2 (d=0,16). Asimismo, el tercer nivel de truncadura, identificado como C, se encuentra subdividido en C1 y C2, a una distancia de 0,16 y 0,20, respectivamente.

La variación de la distancia euclideana entre las accesiones de caraota estudiadas, indican que existe variabilidad amplia por caracteres cuantitativos, lo cual permitió agrupar los materiales en tres grupos genéticos bien definidos. De los ocho caracteres, más adelante se discutirá cuales fueron los más discriminantes en la formación de dichos grupos por presentar la mayor contribución en la cuantificación de la variabilidad morfológica.

En la Figura 13 se muestra la proyección de las accesiones de caraota en los primeros dos componentes principales de acuerdo a los caracteres cuantitativos evaluados. Los coeficientes de correlación entre caracteres incluidos en el análisis y los tres primeros componentes principales, así como los valores propios, miden la importancia de cada uno de los componentes en términos de varianza absoluta (Cuadro 17). Solo se consideraron los primeros tres componentes porque explicaron el 71% de la variación total, de estos, el primero (CP1) contribuyó en un 35%, el segundo (CP2) en un 23% y el tercero

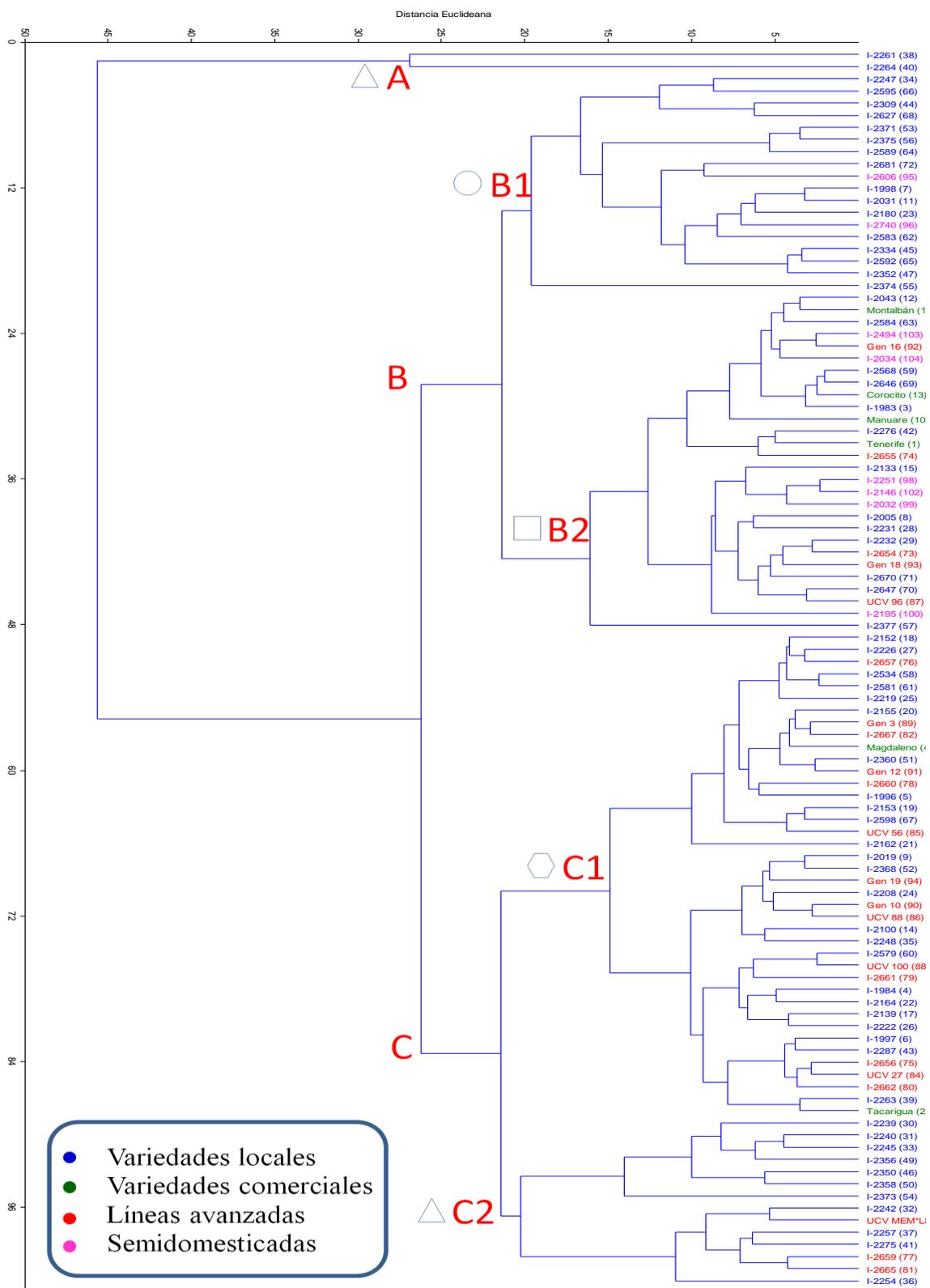


Figura 12. Dendrograma del análisis de agrupamiento UPGMA, basada en la distancia Euclideana, para caracteres morfológicos cuantitativos de 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris*).

Semillas medianas a grandes  
 Mayor días a emergencia  
 Floración temprana

Semillas pequeñas  
 Mayor peso de semillas  
 Mayor longitud de vainas  
 Mayor número de vainas por planta

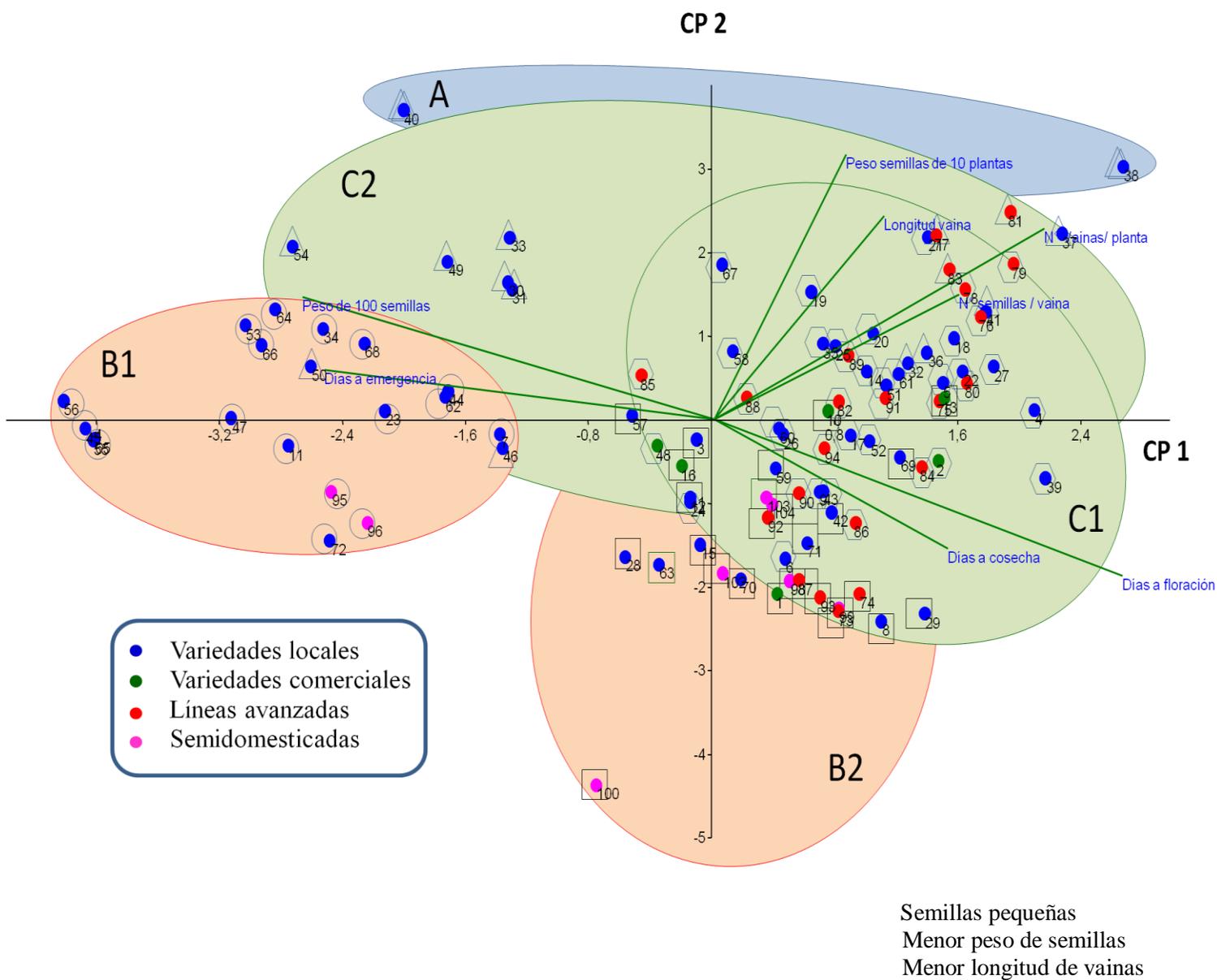


Figura 13. Dispersión de las accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris*) en los dos primeros componentes principales.

(CP3) con 14%. Esto nos indica que en los tres primeros componentes existen descriptores que discriminan bien la población de accesiones evaluadas. Estudios similares realizados con mil accesiones de *Phaseolus vulgaris* L (CIAT, 1979), también demostraron que sólo tres componentes principales fueron necesarios para expresar el 83% de la variabilidad total. Asimismo, el análisis por componentes principales de 14 variables cuantitativas realizadas en 22 colectas de caraota arbustiva, procedentes del banco de germoplasma de Corpoica en Mosquera, Colombia, mostró cómo los tres primeros componentes explicaron el 88,49% de la variación (Cerón *et al.*, 2001). Y, González *et al* (2007) reportó que hasta el tercer componente explicó el 98,99% de la variabilidad con caracteres asociados al rendimiento. En la Figura 13 también se observa el grado de asociación entre las variables. De acuerdo con la separación angular de sus proyecciones, la mejor asociación está constituida por número de vainas por planta con número de semillas por vaina.

Cuadro 17. Contribución relativa de los caracteres cuantitativos evaluados a los tres primeros componentes

CP	Valor propio	Proporción de la varianza	Proporción de la varianza acumulada	Importancia relativa de los caracteres							
				LV	NSV	NVP	PS10P	P100S	DE	DF	DC
CP1	2,79	0,35	0,35	0,22	0,27	<b>0,39</b>	0,17	<b>-0,46</b>	<b>-0,44</b>	<b>0,46</b>	0,26
CP2	1,82	0,23	0,58	0,4	0,22	0,37	<b>0,61</b>	0,28	0,09	-0,33	-0,29
CP3	1,1	0,14	0,71	<b>0,42</b>	<b>0,63</b>	<b>-0,43</b>	-0,38	-0,02	-0,18	-0,13	-0,22
Proporción de la varianza				0,62	0,72	0,89	0,93	0,74	0,6	0,83	0,4

Asimismo, el Cuadro 17 también muestra los vectores característicos de los tres primeros componentes con los coeficientes de cada variable, los que a su vez, representaron mayor importancia dentro de cada vector. La distribución de los coeficientes del primer vector propio, indica que días a floración y número de vainas por planta fueron las variables que más contribuyeron de forma positiva a dicho componente (con coeficiente de 0,46 y 0,39, respectivamente), mientras que las variables peso de 100 semillas y días a emergencia fueron las que más contribuyeron de forma negativa (-0,46 y -0,44, respectivamente). La

contribución positiva del número de vainas por planta indica que las accesiones de semillas de mayor tamaño se presentaron en plantas con menor número de vainas.

La variable que explicó en mayor proporción la variabilidad en el segundo componente fue peso total de semillas en 10 plantas, con coeficiente de 0,61. En consecuencia, fue posible distinguir las accesiones de caraota que formaron los grupos según su peso. Por otra parte, en el tercer componente principal se destacaron variables relacionadas al estado de la vaina, a saber: número de semillas por vaina, número de vainas por planta y longitud de vaina, con coeficientes de 0,63, -0,43 y 0,42, respectivamente. Así, este componente permitió distinguir las accesiones con menor número de vainas pero con vainas de mayor longitud y mayor contenido de semillas.

De acuerdo con esto, se pueden identificar y destacar en la gráfica de dispersión (biplot) de las accesiones estudiadas los grupos obtenidos previamente en el análisis de conglomerados, lo que permitió identificar los caracteres cuantitativos que más influyen en el agrupamiento y las características que distinguen a cada grupo. De allí, se puede observar que el grupo A, formado por dos variedades locales se encuentran en los dos cuadrantes superiores, muy por encima del eje de coordenadas. Se caracterizan por ser las accesiones que presentaron los mayores valores de peso de semillas de diez plantas (con 89,2 y 79,5 g, respectivamente), altos valores de longitud de vaina (por encima de 8,9) y los más altos valores de número de vainas por planta, destacándose la accesión I-2261 por presentar el mayor número de vainas por planta de todas las accesiones evaluadas. También se caracterizaron por poseer un alto número de semillas por vaina (6 en promedio) y con periodo de crecimiento tardío, con mayores días a cosecha.

Los subgrupos B1 y B2 se diferencian principalmente por el tamaño de sus semillas (evaluadas como peso de 100 semillas) y días a floración. El subgrupo B1 distribuido en los dos cuadrantes izquierdos cerca del eje horizontal, agrupa 20 accesiones, integrado por 18 variedades locales y dos semidomesticadas. Este grupo se caracterizó por poseer las semillas mas grandes con un valor de 30,3 gr en promedio, el más corto periodo de días a floración (promedio 37,33 días) y las plantas con menor número de vainas, con un valor de 4,84 en promedio. Es de hacer notar que las dos accesiones semidomesticadas presentes en este grupo, a saber: I-2606 e I-2740, son procedentes de los estados Táchira y Mérida. De acuerdo con Medina *et al.* (2013), estas accesiones presentan faseolina T y se asocian con

el acervo Andino, el cual se caracteriza por el mayor tamaño de sus semillas. Voysest (2000) menciona que uno de los caracteres más usados en la clasificación de caraota en lo que a tipo de semilla se refiere es su tamaño, ya que determina el mayor o menor grado de aceptabilidad por parte del productor y consumidor.

Mientras que el subgrupo B2, ubicado principalmente en el cuadrante inferior derecho y en menor medida en el izquierdo, contiene 28 accesiones. Es un grupo muy diverso en cuanto a los tipos de cultivares ya que presenta 12 variedades locales, 6 semidomesticadas, 4 variedades comerciales y 5 líneas avanzadas. Este grupo presenta las accesiones de semillas más pequeñas (17,35 gr/100 semillas), mas alto periodo de días a floración (46,5 en promedio) y menor peso de semillas de diez plantas (17,35 gr). Es de hacer notar que las variedades comerciales desarrolladas en nuestro país han sido obtenidas por selección masal de cultivares locales e introducidos (Voysest, 2000), predominando las semillas pequeñas por estar asociadas con el acervo mesoamericano y por presentar una mayor adaptación a las tierras bajas y cálidas de la mayoría de las regiones donde se cultiva caraota en Venezuela. Asimismo, las semidomesticadas presentes en este grupo también reflejan el tamaño pequeño de semillas por estar asociadas con este centro de domesticación (Medina *et al.*, 2013).

Por otra parte, el Grupo C1 se encuentra distribuido en los dos cuadrantes derechos con 11 variedades locales y 3 líneas avanzadas. Mientras que el Grupo C2 está conformado por 24 variedades locales, 14 líneas avanzadas y dos comerciales, ubicándose en los dos cuadrantes superiores. Las accesiones involucradas presentaron valores de peso de semillas de diez plantas con valores intermedios a altos (promedio de 48,7 gr y 63,69 gr, respectivamente), diferenciándose principalmente por el tamaño de sus semillas, siendo en general más grandes las del Grupo C2 (26,1 gr/100 semillas) en comparación con el Grupo C1 (18,27 gr/100 semillas). La presencia de la mayoría de líneas avanzadas en estos cuadrantes, evidencian que los programas de mejoramiento genético en Venezuela en general se dirigen a un proceso de selección de plantas que toma en cuenta los componentes de rendimiento.

Tomando en cuenta la distribución de los tipos de cultivares en la gráfica de dispersión de puntos, pudo observarse que las variedades locales se distribuyeron en todos los cuadrantes con una mayor amplitud a lo largo del eje vertical y horizontal, lo que sugiere una mayor

diversidad en este tipo de cultivar en cuanto a tamaño y peso de semilla, días a emergencia, días a floración y número de vainas por planta. Muy probablemente esta diversidad ha sido favorecida por el intercambio de semillas en mercados regionales (Morros, 2001). El conjunto de accesiones semidomesticadas se distribuyeron en amplitud a lo largo del CP 1, pero en los cuadrantes inferiores, lo que denota el menor peso de sus semillas y la menor longitud de vainas por planta. Las diferencias observadas en su tamaño fueron atribuidas a su centro de domesticación. Por otra parte, las líneas avanzadas presentan mayores valores en sus componentes de rendimiento en comparación con las variedades comerciales, denotando que actualmente los programas de mejoramiento en Venezuela toman en cuenta estos factores de rendimiento en sus procesos de selección.

En general los resultados muestran que en las accesiones de caraota utilizadas en este estudio, las variables cuantitativas relacionadas con estructuras reproductivas fueron importantes y discriminatorias, aspecto que también se refleja en la alta proporción de la varianza obtenida para la mayoría de las variables utilizadas (Cuadro 5). Asimismo, Cerón *et al.* (2001) señalaron que la mayoría de los componentes principales que aportaron en gran parte a la variación total, estaban estrechamente relacionados con el rendimiento, los cuales también incluyeron los caracteres días a floración, días a cosecha, peso de 100 semillas, número de semillas por vaina, longitud de vaina, entre otros. Resultados similares fueron obtenidos por Arunga *et al.* (2015), Medina *et al.* (2013) y González *et al.* (2007), quienes también destacaron la importancia de estos caracteres para la discriminación de grupos.

### **1.3. Selección de progenitores según caracteres morfológicos**

Tomando en cuenta que el éxito de los programas de mejoramiento, depende del conocimiento sobre la diversidad genética a utilizar y la habilidad para incorporarla en las cruas, se considera de primordial importancia el rescate de las variedades locales y de los materiales nativos, con el fin de preservar la diversidad y hacer uso de estos acervos genéticos en la ampliación de la base genética de los cultivares comerciales o líneas avanzadas existentes. Así pues, de acuerdo a la evaluación de los caracteres morfológicos realizada, se pueden destacar algunas accesiones que podrían seleccionarse como progenitores en el diseño de una población básica.

Dentro de las variedades locales, se destaca la accesión I-2261 por presentar el mejor comportamiento agronómico en cuanto a peso de semillas, longitud de vainas, número de vainas por planta y número de semillas por vaina. Del mismo modo, la variedad local I-2239 por presentar mayor diversidad en sus caracteres morfológicos cualitativos, con hábito de crecimiento I, flores blancas y semillas de color blanco con intensidad de brillo intermedio. Tomando en cuenta que la recombinación entre caracteres de los acervos Andinos y Mesoamericanos, podrían proporcionar una fuente única de combinaciones de genes con el fin de ampliar la base genética del cultivo (Voyses, 2000), adicionalmente, y de acuerdo con Medina *et al.* (2013), esa variedad local también presenta Faseolina T. Es interesante destacar, que esta misma variedad fue identificada por González *et al.* (2007) como uno de los materiales con mayor número de caracteres favorables.

En relación a las líneas avanzadas, se seleccionaron dos líneas desarrolladas en Venezuela por encontrarse adaptadas a las condiciones de nuestro país, una procedente del programa de mejoramiento genético de la UCV y otra del programa del INIA, a saber la UCV56 e Gen 12. Estas líneas avanzadas son de color negro, opacas, forma elíptica, hábito de crecimiento II y además, bajo las condiciones de este estudio, presentaron los mayores valores de tamaño y peso de semillas, respectivamente.

## **2. IDENTIFICACIÓN DE GERMOPLASMA CON RESISTENCIA A LA BACTERIOSIS COMÚN (*Xanthomonas phaseoli*).**

### **2.1. Desarrollo de la enfermedad**

A los siete días después de la inoculación se empezaron a evidenciar los síntomas características de la enfermedad bacteriosis común de la caraota. En la lámina foliar, a partir de los puntos de inoculación, se formaron manchas acuosas, que fueron creciendo de forma irregular a lo largo del periodo de observación, de color marrón rodeadas de un halo amarillento, que en algunos casos ocasionaron la caída de las hojas. En las Figuras 14 y 15, aunque solo se muestran los resultados de algunos genotipos, representan las tendencias observadas de todas las accesiones evaluadas para el desarrollo de la enfermedad, medido por el porcentaje de área foliar afectada (%AFA) y por el tamaño de la mancha (mm), respectivamente. En general se observaron que todas las accesiones presentaron síntomas

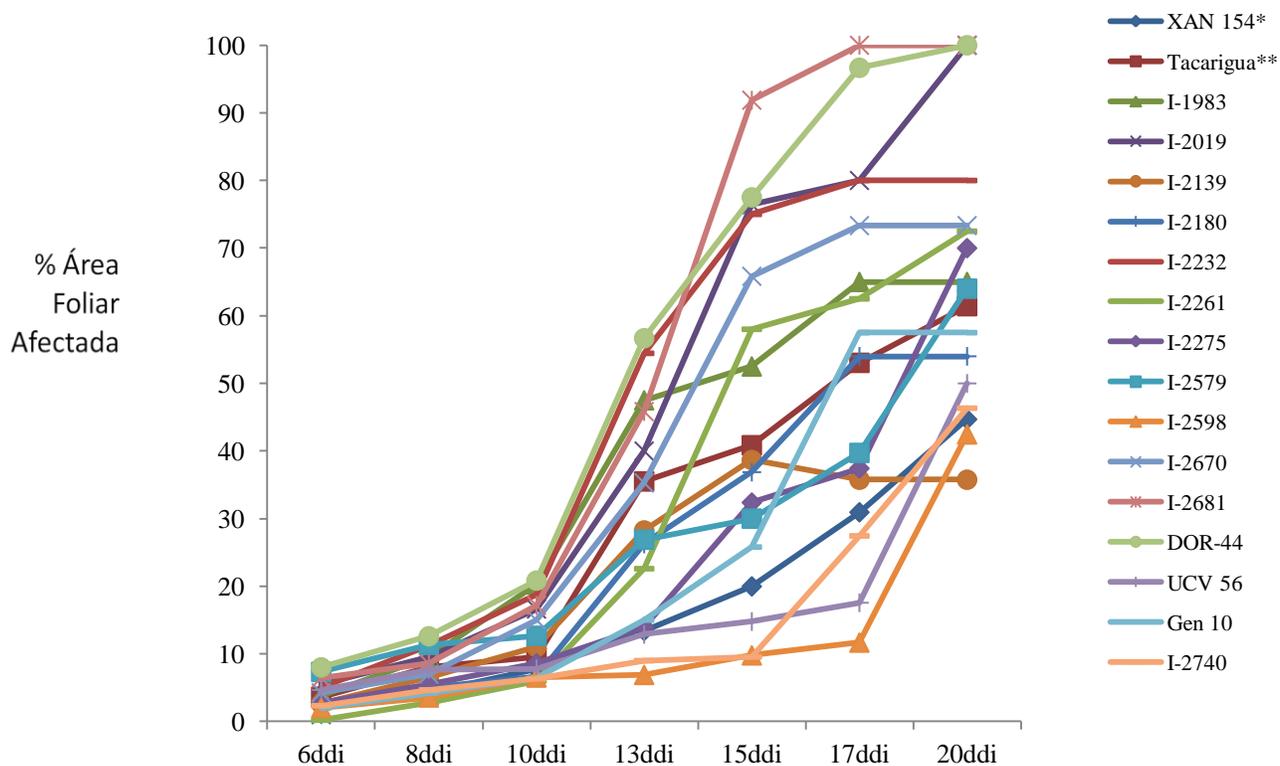


Figura 14. Desarrollo del área foliar afectada (%AFA) en accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculadas con *Xanthomonas phaseoli* a diferentes días después de la inoculación (ddi). \*Testigo resistente, \*\*: Testigo susceptible.

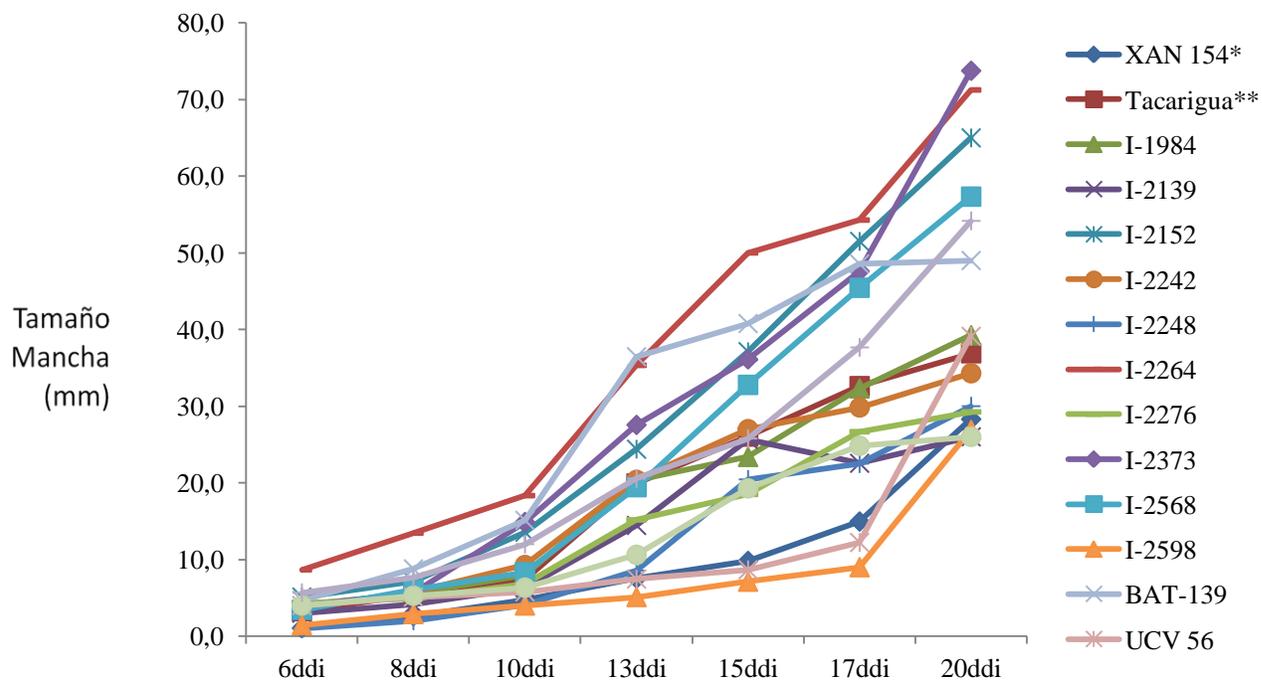


Figura 15. Desarrollo del tamaño de la mancha (mm) en accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculadas con *Xanthomonas phaseoli* a diferentes días después de la inoculación (ddi). \*Testigo resistente, \*\*: Testigo susceptible.

de la enfermedad durante todo el periodo de observación, sin embargo, hubo gran variabilidad en ambas variables durante el avance de la enfermedad.

Algunas accesiones presentaron síntomas leves con un área foliar afectada que alcanzó valores por debajo del 20% y el tamaño de la mancha no sobrepasó los 15mm, hasta los 17 días después de la inoculación (ddi). Hacia el final del desarrollo de la enfermedad alcanzaron un valor igual o menor del 50% AFA y un tamaño de mancha que no sobrepasó los 13mm, con un comportamiento similar al testigo resistente (XAN 154). Otro grupo de accesiones presentaron un desarrollo progresivo a lo largo de toda la enfermedad llegando a afectar hasta un 70% AFA y 50 mm de tamaño de mancha hacia el final del desarrollo de la enfermedad, con un comportamiento similar al testigo susceptible (Tacarigua). Resultados similares fueron obtenidos en una población F2:4 (Castañeda, 2010) y F3 (Lagarde *et al.*, 2010) de caraota, donde la población también mostró respuestas variables con algunos genotipos similares a los testigos. En ambas investigaciones, las familias evaluadas fueron obtenidas a partir del cruce entre un progenitor susceptible y uno resistente a *Xanthomonas phaseoli*.

Por otra parte, producto de este ensayo, en las Figuras 14 y 15, también se observan accesiones que presentaron un crecimiento exponencial de área foliar afectada a partir de tan solo 13 ddi alcanzando valores del 100% hacia el final de la enfermedad y cuyos tamaños de mancha alcanzaron valores que sobrepasaron los 55mm, mostrando niveles de muy alta a severa susceptibilidad a la enfermedad. Asimismo, Movil *et al.* (2005) en un estudio sobre la reacción de la bacteria en 19 genotipos de caraota, realizando observaciones diarias para evaluar el desarrollo de la enfermedad a través de la pendiente de la curva de crecimiento, pudo evidenciar genotipos muy susceptibles con un desarrollo acelerado de la enfermedad, otros altamente resistentes con un mayor tiempo de aparición del síntoma y menor pendiente, y otros con un comportamiento intermedio.

## **2.2. Análisis de la varianza**

En vista de la ocurrencia de distintos niveles de sintomatología observados durante el desarrollo de la enfermedad, se realizó el análisis de la varianza (ANAVAR) a fin de identificar posibles diferencias estadísticas entre accesiones. Para ambas variables (% y mm), se tomó en cuenta el momento de máxima intensidad de la sintomatología, el área

bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) y el promedio obtenido de las evaluaciones realizadas en cada unidad experimental.

### ***2.2.1. Máxima intensidad de la sintomatología***

El momento de máxima intensidad de la sintomatología para el periodo de observación considerado fue a los 20 ddi. Posterior a esa fecha, debido a la defoliación o marchitamiento producido como consecuencia de la enfermedad, ambas variables se mantuvieron relativamente constantes. Resultados similares fueron obtenidos por Castañeda (2010) reportando como máximo desarrollo de la enfermedad a los 25 ddi y Lagarde *et al.* (2010), a los 19 ddi. Tal como se muestra en el Cuadro 18, solo se observaron diferencias altamente significativas entre las accesiones para diámetro de mancha ( $p \leq 0,01$ ). En este caso, en la prueba de medias de Duncan (Cuadro 19) no se observó una clara definición entre grupos, pero sí dos extremos muy marcados y valores intermedios. Las variedades locales I-2248, I-2139 e I-2598 mostraron los más bajos tamaños de mancha con valores menores de 26 mm, siendo estadísticamente iguales que el testigo resistente (XAN 154), cuyo tamaño de mancha promedio fue de 29,57 mm. La mayoría de las accesiones tuvieron un tamaño de mancha intermedio con valores que variaron de 28,17 a 63,33 mm. Un tercer grupo estuvo conformado por tres variedades locales con los mayores valores de mancha foliar (superiores a los 66 mm), estadísticamente diferentes del primer grupo. Los coeficientes de variación fueron 37,97 y 30,77 para %AFA y diámetro de mancha, respectivamente.

### ***2.1.2. Área bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (ABCPE)***

Al realizar un análisis de varianza para evaluar los valores expresados en % y mm utilizados para calcular el ABCPE, se observaron diferencias altamente significativas ( $p \leq 0,01$ ) entre las accesiones para todas las variables (Cuadro 18). Al ser discriminados con la prueba de medias de Duncan en la variable ABCPE (%) se establecieron tres grupos (Cuadro 20): uno representado por aquellos materiales con valores desde 151,2 hasta 220,1%; estadísticamente diferente del último grupo con valores de 703,6 a 777,9%. Asimismo, la mayoría de las accesiones presentaron valores intermedios entre 250,7 y

Cuadro 18. Análisis de la varianza del área foliar afectada (%) y diámetro de mancha (mm) tomando en cuenta el momento de máxima intensidad de la sintomatología (20 ddi), el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) y el promedio obtenido de seis evaluaciones en accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en respuesta a *Xanthomonas phaseoli*.

Fuente de variación	Grados de Libertad	Cuadrados Medios					
		20 ddi		ABCPE		Promedio	
		%	mm	%	mm	%	mm
Accesiones	96	712,19 <sup>ns</sup>	239,35 <sup>**</sup>	48531,5 <sup>**</sup>	15811,11 <sup>**</sup>	214,79 <sup>**</sup>	70,69 <sup>**</sup>
Bloques	2	822,88 <sup>ns</sup>	2210,06 <sup>**</sup>	134637 <sup>**</sup>	7328,17	684,17 <sup>**</sup>	28,53
Error	193	701,98	195,53	28020,7	9505,1	128,04	0,66
Total	291						
CV (%)		37,97	30,77	38,56	33,13	36,38	31,81
Media		69,96	45,44	442,55	294,27	31,1	20,6

%: porcentaje de área foliar afectada; mm: diámetro de la mancha en milímetros;

ddi: días después de la inoculación;

ABCPE: área bajo la curva del progreso de la enfermedad;

\*\*Diferencia altamente significativa; <sup>ns</sup>: no significativa

661,5%. Dentro del primer grupo se encuentra el testigo resistente con una diversidad de tipo de cultivares, representados por una variedad local (I-2598), una semidomesticada (I-2740) y una línea avanzada (UCV 56). Por otra parte, al tomar en cuenta el tamaño de la mancha en la prueba de medias (Duncan) realizada para los valores de ABCPE (mm), se obtuvieron igualmente tres grupos, el primero estadísticamente diferente del último, y la mayoría con valores intermedios. El primer grupo estuvo conformado por la variedad local I-2598, junto con una línea avanzada de Venezuela (UCV-56), una del CIAT (I-2659), una semidomesticada (I-2740), otra variedad local (I-2248) y el testigo resistente. Los valores promedios de ABCPE (mm) dentro de este grupo estuvieron comprendidos entre 107 y 183mm; a diferencia del tercer grupo con los valores más altos de tamaño de mancha foliar (460,7 -513,3 mm) (Cuadro 21).

### 2.2.3. Promedio de las evaluaciones

Al incluir los promedios de todas las evaluaciones de %AFA de cada unidad experimental también se obtuvieron diferencias altamente significativas entre las accesiones ( $p \leq 0,01$ ) (Cuadro 18). Los valores de la prueba de medias de Duncan oscilaron entre 11,63 y 53,45%

Cuadro 19. Prueba de medias (DUNCAN) para la variable Tamaño de Mancha (mm) para la evaluación de la resistencia de accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) por su reacción ante *Xanthomonas phaseoli*.

Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo
35	24,67	A	69	43,33	ABCD	79	50	ABCD
17	26,67	A	39	43,33	ABCD	41	50,33	ABCD
67	26,9	A	47	43,77	ABCD	23	50,43	ABCD
8	28,17	AB	80	43,97	ABCD	44	50,93	ABCD
1	29,57	AB	3	44	ABCD	56	51,37	ABCD
49	30,4	AB	64	44,6	ABCD	11	51,67	ABCD
87	30,43	AB	83	44,77	ABCD	34	52,33	ABCD
58	31,33	AB	90	45	ABCD	63	52,5	ABCD
24	32	AB	97	45	ABCD	82	53	ABCD
86	32	AB	38	45	ABCD	46	53,17	ABCD
42	33,17	ABC	43	45	ABCD	29	53,23	ABCD
98	33,33	ABC	20	45,57	ABCD	66	53,6	ABCD
96	33,4	ABC	99	45,77	ABCD	92	54,17	ABCD
84	33,6	ABC	37	45,93	ABCD	62	54,33	ABCD
77	34,5	ABCD	75	46,33	ABCD	12	54,33	ABCD
32	36,1	ABCD	9	46,5	ABCD	45	55	ABCD
94	36,33	ABCD	70	46,6	ABCD	65	55	ABCD
73	36,67	ABCD	51	46,67	ABCD	5	56	ABCD
102	37,17	ABCD	22	46,67	ABCD	33	56,33	ABCD
2	37,27	ABCD	88	47	ABCD	15	57,23	ABCD
21	38,17	ABCD	71	47	ABCD	59	57,33	ABCD
100	38,77	ABCD	93	47,17	ABCD	52	57,67	ABCD
85	39,1	ABCD	101	47,5	ABCD	31	57,9	ABCD
91	39,1	ABCD	50	47,5	ABCD	72	58	ABCD
4	39,17	ABCD	60	47,5	ABCD	7	60,33	ABCD
19	40,93	ABCD	61	47,5	ABCD	53	60,93	ABCD
36	41,67	ABCD	18	48,1	ABCD	55	63,07	ABCD
81	42,3	ABCD	26	48,33	ABCD	68	63,33	ABCD
78	42,5	ABCD	74	48,57	ABCD	14	66,5	BCD
76	42,67	ABCD	30	48,67	ABCD	40	71,93	CD
27	42,75	ABCD	6	48,67	ABCD	54	73,5	D
28	42,77	ABCD	95	48,75	ABCD			
89	43,23	ABCD	57	49,73	ABCD			

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Cuadro 20. Prueba de medias (DUNCAN) para la variable Área Bajo la Curva de Progreso de la Enfermedad (%) para la evaluación de la resistencia de accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) por su reacción ante *Xanthomonas phaseoli*.

Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo
67	151,23	A	89	390,6	ABCDEF	65	493,23	ABCDEF
1	212,59	AB	70	397,63	ABCDEF	88	499,8	ABCDEF
96	219,43	AB	12	398,1	ABCDEF	7	508,17	ABCDEF
85	220,13	AB	73	399,37	ABCDEF	59	512,83	ABCDEF
62	250,73	ABC	11	401,03	ABCDEF	18	512,89	ABCDEF
64	253,8	ABC	75	401,43	ABCDEF	47	513,1	ABCDEF
33	276,9	ABCD	83	403,57	ABCDEF	8	515,93	ABCDEF
56	292	ABCDE	24	407,13	ABCDEF	5	522,47	ABCDEF
35	294,3	ABCDE	84	408,03	ABCDEF	40	525,1	ABCDEF
87	294,87	ABCDE	34	409,73	ABCDEF	81	531,03	ABCDEF
37	300,77	ABCDE	98	413,93	ABCDEF	101	531,3	ABCDEF
39	309,77	ABCDEF	44	419,67	ABCDEF	20	534,19	ABCDEF
41	312,63	ABCDEF	43	423,83	ABCDEF	45	554,85	ABCDEF
94	313,83	ABCDEF	51	424,77	ABCDEF	50	564,2	ABCDEF
77	333,87	ABCDEF	15	426,27	ABCDEF	3	564,7	ABCDEF
66	335,9	ABCDEF	69	427,37	ABCDEF	58	567,93	ABCDEF
63	335,93	ABCDEF	17	427,86	ABCDEF	26	585,7	ABCDEF
61	344,6	ABCDEF	2	434,66	ABCDEF	97	587,1	ABCDEF
86	348,27	ABCDEF	6	434,87	ABCDEF	22	597,57	ABCDEF
95	357,5	ABCDEF	99	435,9	ABCDEF	71	614,37	ABCDEF
91	358	ABCDEF	53	436,53	ABCDEF	9	621,1	ABCDEF
90	358,4	ABCDEF	57	441,77	ABCDEF	19	626,47	ABCDEF
68	361,6	ABCDEF	27	443,6	ABCDEF	30	628,37	BCDEF
102	367,57	ABCDEF	42	446,03	ABCDEF	21	653,6	BCDEF
46	370,9	ABCDEF	49	451,47	ABCDEF	74	654,87	BCDEF
93	372,47	ABCDEF	14	457,6	ABCDEF	79	661,5	BCDEF
80	383,83	ABCDEF	54	463,33	ABCDEF	100	703,6	CDEF
76	384,3	ABCDEF	52	465,9	ABCDEF	78	744,83	CDEF
60	387,1	ABCDEF	92	468,1	ABCDEF	72	754,43	EF
55	387,83	ABCDEF	4	470,07	ABCDEF	29	758,2	EF
36	388,33	ABCDEF	31	472,6	ABCDEF	82	777,85	F
23	389,13	ABCDEF	32	475,6	ABCDEF			
28	389,13	ABCDEF	38	481,15	ABCDEF			

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Cuadro 21. Prueba de medias (DUNCAN) para la variable Área Bajo la Curva de Progreso de la enfermedad (mm) para la evaluación de la resistencia de accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) por su reacción ante *Xanthomonas phaseoli*.

Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo
67	107,03	A	33	269,67	ABCDE	9	331,67	ABCDE
85	153,83	AB	75	270,3	ABCDE	49	331,77	ABCDE
1	160,89	AB	70	271,8	ABCDE	97	335,3	ABCDE
77	172,6	AB	2	271,81	ABCDE	68	335,8	ABCDE
35	179,57	AB	4	272,4	ABCDE	65	336,2	ABCDE
96	183	AB	32	273,93	ABCDE	53	340,83	ABCDE
87	190,1	ABC	83	276,83	ABCDE	26	342,43	ABCDE
94	195,57	ABC	38	277,35	ABCDE	71	342,63	ABCDE
86	205,6	ABCD	51	281,6	ABCDE	95	346,85	ABCDE
24	206,67	ABCD	98	281,97	ABCDE	59	350,27	ABCDE
17	211	ABCD	36	283,9	ABCDE	47	359	ABCDE
43	221,4	ABCD	88	284,53	ABCDE	21	363,57	ABCDE
63	222,1	ABCD	6	289,23	ABCDE	11	364,27	ABCDE
42	222,53	ABCD	8	289,23	ABCDE	55	365,57	ABCDE
41	224,27	ABCD	27	290,9	ABCDE	5	367,03	ABCDE
93	225,5	ABCD	60	291,2	ABCDE	3	367,35	ABCDE
62	229,53	ABCD	15	301,8	ABCDE	50	368,53	ABCDE
64	230,55	ABCD	58	302,63	ABCDE	31	368,63	ABCDE
102	232,33	ABCD	66	308,7	ABCDE	14	372,8	ABCDE
61	232,53	ABCD	23	309,03	ABCDE	18	375,87	ABCDE
39	234,2	ABCD	28	309,37	ABCDE	82	375,9	ABCDE
90	235,65	ABCD	37	310,17	ABCDE	30	382,7	BCDE
99	248,5	ABCDE	101	310,4	ABCDE	22	394,13	BCDE
76	251,67	ABCDE	34	310,4	ABCDE	7	402,3	BCDE
69	253,2	ABCDE	52	314,9	ABCDE	79	405,33	BCDE
57	256,3	ABCDE	81	318,75	ABCDE	29	417,03	BCDE
73	261,33	ABCDE	78	319,67	ABCDE	54	422,83	BCDE
89	262,57	ABCDE	19	321,8	ABCDE	74	426,87	BCDE
84	263,33	ABCDE	100	322,57	ABCDE	45	460,65	CDE
91	263,7	ABCDE	46	323,4	ABCDE	72	474	DE
56	264,03	ABCDE	44	328,3	ABCDE	40	513,33	E
80	265,13	ABCDE	20	328,57	ABCDE			
12	266,27	ABCDE	92	329,37	ABCDE			

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

donde la variedad local I-2598 presentó el menor valor promedio de %AFA (Cuadro 22). Tomando en cuenta la escala visual arbitraria (con nueve grados del daño) propuesta por López (2003), donde 1=completamente resistente y 9=susceptibilidad severa, es de hacer notar que esta variedad local es la única accesión que corresponde al valor 2 de la escala, (equivalente a resistencia alta), y solo estuvo conformado junto al testigo resistente en el primer grupo.

Las accesiones con los mayores valores de promedio de %AFA, pertenecientes al último grupo, estuvo conformada por dos variedades locales (I-2232 e I-2681), una semidomesticada (I-2195) y dos líneas avanzadas del CIAT (I-2660 e I-2667). Todas las demás accesiones tuvieron valores intermedios comprendidos entre 16,37 y 45,27%, aunque no fueron estadísticamente diferentes. Finalmente, los valores expresados en diámetro de mancha utilizados para calcular el promedio de todos los valores en mm, al ser discriminados con la prueba de medias de Duncan también indicaron diferencias altamente significativas entre ellos ( $p \leq 0,01$ ), con valores comprendidos entre 8,03 y 36 mm, destacándose nuevamente la variedad local I-2598 por presentar el menor valor promedio del tamaño de mancha y conformando el primer grupo junto al testigo resistente, otra variedad local (I-2848) y dos líneas avanzadas (UCV-56 e I-2659). Así como en las evaluaciones anteriores, la mayoría de las accesiones conformaron un grupo intermedio (con valores entre 11,53 y 29,87mm) (Cuadro 23).

### **2.3. Selección de progenitores por su reacción ante *Xanthomonas phaseoli***

Como puede apreciarse, la variación en cuanto al comportamiento de las accesiones ante el patógeno permitió establecer diferencias en la resistencia, destacándose algunas accesiones que podrían seleccionarse como progenitores en el diseño de una población básica por presentar alelos de resistencia y/o tolerancia ante el patógeno *Xanthomonas phaseoli*. Se destacan algunos genotipos que conformaron un primer grupo, al ser discriminados con la prueba de medias Duncan ( $p \leq 0,01$ ), por presentar los menores valores de porcentaje de área foliar (%) y tamaño de mancha (mm), tomando en cuenta el momento de máxima intensidad de la sintomatología (20ddi), el ABCPE y el promedio obtenido de todas las evaluaciones en cada unidad experimental.

Cuadro 22. Prueba de medias (DUNCAN) para la variable Promedio de Área Foliar Afectada (%) para la evaluación de la resistencia de accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) por su reacción ante *Xanthomonas phaseoli*.

Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo
67	11,63	A	84	27,9	ABCDE	65	33,77	ABCDE
1	15,37	AB	55	27,93	ABCDE	8	35	ABCDE
96	16,37	ABC	12	28,3	ABCDE	7	35,2	ABCDE
85	16,43	ABC	73	28,33	ABCDE	88	35,43	ABCDE
64	18,35	ABC	83	28,5	ABCDE	18	35,82	ABCDE
62	18,73	ABC	11	28,5	ABCDE	47	35,87	ABCDE
35	20,5	ABCD	24	28,53	ABCDE	59	36,03	ABCDE
33	20,7	ABCD	75	28,6	ABCDE	5	36,07	ABCDE
56	21,1	ABCD	98	28,87	ABCDE	81	36,23	ABCDE
87	21,13	ABCD	70	29,33	ABCDE	101	37,27	ABCDE
37	21,63	ABCDE	17	29,56	ABCDE	40	37,3	ABCDE
39	21,8	ABCDE	34	29,57	ABCDE	45	37,9	ABCDE
41	22,6	ABCDE	44	29,77	ABCDE	20	38,18	ABCDE
94	23,53	ABCDE	2	29,9	ABCDE	3	38,4	ABCDE
63	23,97	ABCDE	43	30,1	ABCDE	58	39,37	ABCDE
77	24,13	ABCDE	6	30,1	ABCDE	50	40,47	ABCDE
66	24,5	ABCDE	51	30,27	ABCDE	26	40,63	ABCDE
61	24,6	ABCDE	69	30,47	ABCDE	22	41,03	ABCDE
95	24,6	ABCDE	99	30,63	ABCDE	97	41,23	ABCDE
90	24,9	ABCDE	27	30,8	ABCDE	71	42,63	ABCDE
86	24,93	ABCDE	15	30,8	ABCDE	19	43,23	ABCDE
102	25,27	ABCDE	42	31,03	ABCDE	9	43,77	ABCDE
91	25,53	ABCDE	49	31,2	ABCDE	30	44,23	BCDE
46	25,8	ABCDE	53	31,67	ABCDE	79	44,27	BCDE
68	26,43	ABCDE	57	31,7	ABCDE	74	44,53	BCDE
28	26,8	ABCDE	54	31,97	ABCDE	21	45,27	BCDE
23	26,87	ABCDE	14	32,5	ABCDE	100	47,87	CDE
36	27,03	ABCDE	31	32,83	ABCDE	78	51,13	DE
93	27,17	ABCDE	32	33,1	ABCDE	29	51,7	DE
89	27,27	ABCDE	4	33,2	ABCDE	72	52,2	DE
80	27,37	ABCDE	38	33,55	ABCDE	82	53,45	E
76	27,8	ABCDE	52	33,57	ABCDE			
60	27,87	ABCDE	92	33,7	ABCDE			

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Cuadro 23. Prueba de medias (DUNCAN) para la variable Promedio Diámetro de Mancha (mm) para la evaluación de la resistencia de accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) por su reacción ante *Xanthomonas phaseoli*.

Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo
67	8,03	A	32	18,97	ABCDE	9	22,97	ABCDE
1	11,53	AB	4	19	ABCDE	97	23,07	ABCDE
85	11,77	AB	70	19,07	ABCDE	92	23,37	ABCDE
35	12,37	AB	38	19,25	ABCDE	71	23,47	ABCDE
77	12,45	AB	75	19,27	ABCDE	65	23,6	ABCDE
96	12,93	ABC	12	19,3	ABCDE	95	23,6	ABCDE
87	13,5	ABC	98	19,37	ABCDE	26	23,7	ABCDE
94	13,9	ABC	83	19,4	ABCDE	68	24,27	ABCDE
24	14,57	ABCD	8	19,47	ABCDE	53	24,37	ABCDE
86	14,6	ABCD	33	19,7	ABCDE	21	24,6	ABCDE
17	14,7	ABCD	36	19,77	ABCDE	47	24,63	ABCDE
42	15,67	ABCD	51	19,83	ABCDE	59	24,73	ABCDE
93	16,3	ABCD	88	20,07	ABCDE	3	25	ABCDE
43	16,3	ABCD	27	20,2	ABCDE	50	25,2	ABCDE
102	16,4	ABCD	6	20,3	ABCDE	11	25,33	ABCDE
41	16,47	ABCD	58	20,67	ABCDE	5	25,67	ABCDE
63	16,53	ABCD	60	20,7	ABCDE	31	25,83	ABCDE
39	16,63	ABCD	28	21,13	ABCDE	18	25,93	ABCDE
64	16,75	ABCD	23	21,7	ABCDE	55	25,97	ABCDE
90	16,75	ABCD	15	21,77	ABCDE	14	26,2	ABCDE
61	16,77	ABCD	100	21,83	ABCDE	30	26,33	ABCDE
62	17,03	ABCD	101	21,87	ABCDE	82	26,35	ABCDE
69	17,63	ABCD	49	21,97	ABCDE	22	26,77	BCDE
99	17,7	ABCDE	34	22,07	ABCDE	79	27,27	BCDE
76	17,93	ABCDE	19	22,13	ABCDE	7	28	BCDE
73	18	ABCDE	66	22,17	ABCDE	29	28,57	BCDE
84	18,1	ABCDE	78	22,2	ABCDE	74	28,97	BCDE
91	18,37	ABCDE	37	22,2	ABCDE	54	29,87	BCDE
89	18,4	ABCDE	81	22,35	ABCDE	45	31,15	CDE
57	18,47	ABCDE	52	22,47	ABCDE	72	32,5	DE
56	18,7	ABCDE	20	22,7	ABCDE	40	36	E
80	18,73	ABCDE	46	22,77	ABCDE			
2	18,83	ABCDE	44	22,8	ABCDE			

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Dentro del grupo de variedades locales, la I-2248 e I-2139 presentaron los menores tamaños de mancha a los 20ddi; y la I-2248 el menor tamaño evaluado como ABCPE y promedio. Se destaca la variedad local I-2598 porque además de presentar los menores tamaños para todas las variables mencionadas, también lo fue %AFA en ABCPE y promedio. La semidomesticada I-2740 también alcanzó bajos niveles de ABCPE en % y mm. Dentro del grupo de líneas avanzadas, la línea del CIAT I-2659 presentó bajos tamaños de mancha foliar, junto a la línea avanzada UCV-56, quién además presentó bajos valores de ABCPE (%). Es de hacer notar que la UCV-56 corresponde a un material seleccionado de familias  $F_{2:7}$  producto del cruce entre un progenitor susceptible y uno resistente a *X. phaseoli*, y ya está adaptado a nuestras condiciones ambientales. Por tanto, de acuerdo con estos resultados se seleccionan como progenitores en el diseño de una población básica por su reacción ante *Xanthomonas phaseoli*, las variedades locales I-2139 e I-2598, y la línea avanzada UCV-56.

### **3. IDENTIFICACIÓN DE GERMOPLASMA CON RESISTENCIA A LA PUDRICIÓN CARBONOSA (*Macrophomina phaseolina*).**

#### **3.1. Estadística Descriptiva**

Los estadísticos descriptivos para las variables ancho de hoja (AH), ancho de mancha (AM), índice ancho de hoja/ancho de mancha (AH/AM); longitud de hoja (LH), longitud de mancha (LM) e índice longitud de hoja/longitud de mancha (LH/LM) asociadas a la resistencia y/o tolerancia a *Macrophomina phaseolina* se presentan en el Cuadro 24. Los valores de AH oscilaron entre 15 y 74 mm con una media de 41,04 mm y desviación estándar de 10,97 mm. Asimismo, los valores de AM alcanzaron valores máximos de 74 mm con una media de 37,32. Por su parte, los valores de asimetría y curtosis, así como el obtenido con la prueba de Shapiro y Wilks para ambas variables, son aceptables para poder afirmar que cumplen con el supuesto de normalidad. Sin embargo, al evaluar el índice AM/AH, el valor de asimetría es negativo, reflejando que los valores se tienden a reunir más hacia la parte derecha de la media (aspecto que se ve reflejado con un valor de media de 0,92 muy cercano al valor máximo de 1). Asimismo, el alto valor positivo obtenido en el coeficiente de curtosis, de 8,31, denota la gran concentración de estos valores en torno a la media, y la prueba de Shapiro y Wilks con

0,37; denota que para esta variable los datos no siguen una distribución normal. Por tanto el índice AH/AM parece reflejar que los valores de la mancha foliar producida como respuesta ante la presencia del hongo *Macrophomina phaseolina*, en su mayoría alcanzó los mismos valores del ancho de la hoja.

Cuadro 24. Estadística descriptiva para las variables ancho de hoja, ancho de mancha, índice ancho de hoja/ ancho de mancha; longitud de hoja, longitud de mancha e índice longitud de hoja/longitud de mancha en accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculadas con *Macrophomina phaseolina* con el método de la hoja cotiledonar desprendida.

Variable	Min (mm)	Max (mm)	Media (mm)	D.E.	curtosis	Asimetría	W*
AH	15	74	41,04	10,97	-0,06	0,16	0,98
AM	0	74	37,32	14	0,88	-0,64	0,95
AM/AH	0	1	0,92	0,24	8,31	-3,11	0,37
LH	18	92	54,9	15,03	-0,39	-0,01	0,98
LM	0	85	39,57	16,13	0,81	-0,04	0,95
LH/LM	0	1	0,71	0,26	1,11	-1,12	0,85

AH: ancho de hoja; AM: ancho de mancha; AH/AM: índice ancho de hoja/ancho de mancha; LH: longitud de hoja; LM: longitud de mancha, LH/LM: longitud de hoja/longitud de mancha  
\*Shapiro y Wilks.

En relación a las variables LH y LM obtuvieron una media de 54,9 mm y 39,57 mm; y una desviación estándar de 15,03 mm y 16,13 mm; respectivamente. Sus valores de asimetría cercanos a cero denotan una distribución simétrica de sus valores. El valor mínimo y máximo de LH/LM refleja una amplia variabilidad entre las accesiones evaluadas con una distribución asimétricamente negativa de sus valores. Aunque la mayor cantidad de datos se aglomeran por encima de la media con valores máximos de 1 que evidencian hojas totalmente invadidas por el patógeno, también se observan valores de 0 que denotan la ausencia del patógeno, aspecto importante a tomar en cuenta para la selección de posibles progenitores por su resistencia y/o tolerancia a la enfermedad. Para todos los casos, la prueba de Shapiro y Wilks así como los valores de

curtosis y asimetría permiten afirmar que estas variables cumplen con el supuesto de normalidad.

### 3.2. Análisis de Varianza

En el Cuadro 25 se presentan los cuadrados medios del análisis de varianza para cada una de las variables según el diseño experimental. Se encontraron diferencias altamente significativas entre las accesiones para ancho y largo de hoja ( $p \leq 0,01$ ), con un coeficiente de variación de 16,93 y 17,11%, respectivamente. Al ser discriminados por la prueba de medias de Duncan (Cuadro 26), se observan tres grupos de ancho de hoja: aquellos con los valores más bajos (menores de 26 mm), los intermedios con valores comprendidos entre 26,7 y 54,2 mm, y un último grupo que incluyó valores que oscilaron de 56,3 a 62,8 mm. Asimismo, para longitud de hoja, los valores de medias incluyeron tamaños que fluctuaron desde 26,29 mm hasta 81,29 mm (Cuadro 27). En un estudio sobre variabilidad genética en acervos primarios de caraota, Medina *et al.* (2013) destacaron un alto coeficiente de variación en la longitud de hojas así como una asociación positiva entre la longitud y el ancho de las mismas. Así que este resultado refleja la diversidad del tamaño de las hojas dentro de las accesiones incluidas en este estudio.

mayor cantidad de datos se aglomeran por encima de la media con valores máximos de 1 que evidencian hojas totalmente invadidas por el patógeno, también se observan valores de 0 que denotan la ausencia del patógeno, aspecto importante a tomar en cuenta para la selección de posibles progenitores por su resistencia y/o tolerancia a la enfermedad. Para todos los casos, la prueba de Shapiro y Wilks así como los valores de curtosis y asimetría permiten afirmar que estas variables cumplen con el supuesto de normalidad.

Para la variable largo de mancha, también se encontraron diferencias altamente significativas entre los genotipos. De acuerdo a la prueba de Duncan ( $p \leq 0,05$ ) se formaron tres grupos, uno con valores intermedios y dos claramente contrastantes con promedios por debajo de 20 y por encima de 55 mm, respectivamente (Cuadro 28). En el caso del ancho de las manchas (Cuadro 29), tal como se mencionó anteriormente, fueron muy similares al ancho de las hojas. Quizás por esto, Bañuelos y Mayek (2008) al comparar los síntomas de la pudrición carbonosa en hojas de caraota utilizando esta misma técnica, discriminó entre

Cuadro 25. Cuadrados medios del Análisis de la Varianza para las variables Largo de la hoja (LH), Ancho de la Hoja (AH), Largo de la mancha (LM), Ancho de la mancha (AM) y el índice LM/LH, para la evaluación de la resistencia de genotipos de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculados con *M. phaseolina*, con el método de la hoja cotiledonar desprendida.

Fuente de Variación	gl	Cuadrados medios				
		AH	AM	LH	LM	LH/LM
<b>Accesiones</b>	93	241,46**	257,24**	430,89**	303,15**	0,08**
<b>Bloques</b>	3	1101,88**	3341,14**	2963,28*	5316,1**	0,41**
<b>Error</b>	197	48,29	119,38	88,28	163,11	0,05
<b>Total</b>	293					
<b>CV (%)</b>		16,93	29,27	17,11	32,27	32,41

la reacción de resistencia y la de susceptibilidad, comparando solo la longitud de la lesión, sin tomar en cuenta el ancho de las mismas. En este caso solo utilizaron para su evaluación dos genotipos distintos. En un estudio similar, Moreno (2016) señala que al utilizar discos de PDA de 0,5 cm con el hongo *Macrophomina phaseolina* para inocular hojas cotiledonares de tamaños diversos, es probable que el hongo creciera más rápido y abarque toda la superficie de la hoja en menos tiempo en las hojas más pequeñas en comparación con las más grandes. Aunque no encontraron diferencias significativas para las variables longitud y ancho de las hojas entre los genotipos utilizados en su evaluación, sí lograron evidenciar diferencias de tamaño entre las repeticiones para un mismo genotipo, por lo que recomiendan para futuras evaluaciones utilizar hojas de tamaños similares.

Asimismo, el índice LH/LM también arrojó diferencias altamente significativas entre los genotipos ( $p \leq 0,05$ ). Al ser discriminados con la prueba de medias de Duncan se establecieron tres grupos (Cuadro 30): uno representado por aquellos materiales con índices cuyos valores promedio se encontraron desde 0,21 hasta 0,4 mm; estadísticamente diferente

Cuadro 26. Prueba de medias (DUNCAN) de la variable Ancho de Hoja (AH) para la evaluación de la resistencia de accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculados con *Macrophomina phaseolina*, con el método de la hoja cotiledonar desprendida.

Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo
25	22,68	A	6	36,75	ABCDEFGHIJKLM	99	43,25	FGHIJKLMNOPQRS
97	23,82	AB	26	36,75	ABCDEFGHIJKLM	73	43,92	GHIJKLMNOPQRS
75	25,82	ABC	29	37	ABCDEFGHIJKLMN	14	44,25	GHIJKLMNOPQRS
85	26,68	ABCD	41	37,25	ABCDEFGHIJKLMN	98	44,25	GHIJKLMNOPQRS
90	26,82	ABCD	74	37,75	BCDEFGHIJKLMNO	35	44,5	GHIJKLMNOPQRST
96	27,92	ABCDE	82	38,5	CDEFGHIJKLMNO	59	44,58	GHIJKLMNOPQRST
16	28,18	ABCDEF	15	38,75	CDEFGHIJKLMNO	56	45,25	HIJKLMNOPQRST
21	29,68	ABCDEFGF	58	38,82	CDEFGHIJKLMNO	7	45,5	HIJKLMNOPQRST
28	29,82	ABCDEFGF	68	38,82	CDEFGHIJKLMNO	83	46	IJKLMNOPQRST
5	30,75	ABCDEFGFH	67	38,82	CDEFGHIJKLMNO	42	46	IJKLMNOPQRST
8	31,25	ABCDEFGHI	77	39	CDEFGHIJKLMNOP	32	46,75	JKLMNOPQRSTU
10	31,25	ABCDEFGHI	24	39,58	CDEFGHIJKLMNOP	22	46,75	JKLMNOPQRSTU
92	31,32	ABCDEFGHI	50	39,68	CDEFGHIJKLMNOP	47	47,5	KLMNOPQRSTU
45	31,32	ABCDEFGHI	53	39,68	CDEFGHIJKLMNOP	44	48,58	LMNOPQRSTUW
4	31,5	ABCDEFGHI	88	39,82	CDEFGHIJKLMNOP	62	49,5	MNOPQRSTUW
87	31,82	ABCDEFGHIJ	2	39,92	CDEFGHIJKLMNOP	79	49,68	MNOPQRSTUW
19	31,92	ABCDEFGHIJ	17	40,25	CDEFGHIJKLMNOP	69	49,75	MNOPQRSTUW
80	32,18	ABCDEFGHIJ	1	40,5	CDEFGHIJKLMNOP	43	49,75	NOPQRSTUW
27	32,18	ABCDEFGHIJ	12	40,63	CDEFGHIJKLMNOP	94	51,92	NOPQRSTUW
89	32,2	ABCDEFGHIJ	13	40,68	CDEFGHIJKLMNOP	40	52,68	OPQRSTUW
91	32,82	ABCDEFGHIJK	61	40,75	CDEFGHIJKLMNOP	65	54,18	PQRSTUW
33	32,82	ABCDEFGHIJK	36	41,18	DEFGHIJKLMNOP	54	54,18	PQRSTUW
93	33,32	ABCDEFGHIJK	81	41,25	DEFGHIJKLMNOP	38	56,25	QRSTUW
11	33,82	ABCDEFGHIJKL	3	41,32	DEFGHIJKLMNOP	70	57,25	RSTUW
39	33,82	ABCDEFGHIJKL	84	41,5	DEFGHIJKLMNOP	34	57,25	RSTUW
57	35,75	ABCDEFGHIJKLM	63	41,5	DEFGHIJKLMNOP	23	57,75	STUW
48	35,75	ABCDEFGHIJKLM	78	42	EFGHIJKLMNOPQ	100	57,82	STUW
9	36	ABCDEFGHIJKLM	76	42,18	EFGHIJKLMNOPQ	30	58,82	TUW
95	36,25	ABCDEFGHIJKLM	60	42,75	EFGHIJKLMNOPQR	31	60,75	UW
37	36,5	ABCDEFGHIJKLM	46	43	EFGHIJKLMNOPQR	66	62,75	W
71	36,5	ABCDEFGHIJKLM	51	43	EFGHIJKLMNOPQR			
49	36,75	ABCDEFGHIJKLM	20	43	EFGHIJKLMNOPQR			

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Cuadro 27. Prueba de medias (DUNCAN) de la variable Longitud de Hoja (LH) para la evaluación de la resistencia de accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculados con *Macrophomina phaseolina*, con el método de la hoja cotiledonar desprendida.

Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo
92	26,29	A	41	49,5	ABCDEFGHIJKLM	44	59,65	DEFGHIJKLMNOPQ
85	30,21	AB	13	50,21	ABCDEFGHIJKLM	84	60	DEFGHIJKLMNOPQ
25	33,21	ABC	95	50,32	ABCDEFGHIJKLMN	99	60,32	DEFGHIJKLMNOPQ
5	36,75	ABCD	6	50,5	ABCDEFGHIJKLMNO	63	61,25	DEFGHIJKLMNOPQ
45	38,29	ABCDE	82	50,5	ABCDEFGHIJKLMNO	51	61,25	DEFGHIJKLMNOPQ
75	38,79	ABCDEF	17	50,75	ABCDEFGHIJKLMNO	78	62	DEFGHIJKLMNOPQ
90	40,74	ABCDEFG	29	51	ABCDEFGHIJKLMNO	60	62	DEFGHIJKLMNOPQ
68	41,29	ABCDEFG	37	51,25	ABCDEFGHIJKLMNO	7	62	DEFGHIJKLMNOPQ
49	41,5	ABCDEFG	16	51,29	ABCDEFGHIJKLMNO	14	62,25	DEFGHIJKLMNOPQ
24	41,65	ABCDEFG	3	51,29	ABCDEFGHIJKLMNO	22	62,5	DEFGHIJKLMNOPQ
8	41,75	ABCDEFG	47	52	BCDEFGHIJKLMNO	43	64,5	EFGHIJKLMNOPQ
9	42	ABCDEFG	36	52,21	BCDEFGHIJKLMNO	32	64,75	FGHIJKLMNOPQ
80	42,21	ABCDEFG	89	52,29	BCDEFGHIJKLMNO	42	65,25	GHIJKLMNOPQ
53	42,21	ABCDEFG	50	52,71	BCDEFGHIJKLMNO	35	65,25	GHIJKLMNOPQ
19	42,29	ABCDEFG	33	52,79	BCDEFGHIJKLMNO	73	65,99	GHIJKLMNOPQ
10	42,5	ABCDEFGH	59	52,99	BCDEFGHIJKLMNO	69	67	GHIJKLMNOPQ
27	42,71	ABCDEFGH	71	53	BCDEFGHIJKLMNO	79	68,71	HIJKLMNOPQ
26	43,75	ABCDEFGHI	28	53,79	BCDEFGHIJKLMNO	65	68,71	HIJKLMNOPQ
39	43,79	ABCDEFGHI	76	54,71	BCDEFGHIJKLMNOP	54	69,21	IJKLMNOPQ
67	43,79	ABCDEFGHI	56	54,75	BCDEFGHIJKLMNOP	62	70	JKLMNOPQ
97	43,79	ABCDEFGHI	74	55	BCDEFGHIJKLMNOP	94	70,32	JKLMNOPQ
12	44,87	ABCDEFGHIJ	88	55,29	BCDEFGHIJKLMNOP	30	71,29	KLMNOPQ
96	45,5	ABCDEFGHIJK	20	55,5	BCDEFGHIJKLMNOP	34	71,5	KLMNOPQ
93	46,29	ABCDEFGHIJK	58	55,79	BCDEFGHIJKLMNOPQ	23	72,5	LMNOPQ
87	46,29	ABCDEFGHIJK	15	56,25	CDEFGHIJKLMNOPQ	40	72,71	MNOPQ
48	46,5	ABCDEFGHIJKL	81	56,25	CDEFGHIJKLMNOPQ	38	76,32	NOPQ
4	47,5	ABCDEFGHIJKLM	46	56,5	CDEFGHIJKLMNOPQ	31	76,5	OPQ
2	48,65	ABCDEFGHIJKLM	61	56,75	CDEFGHIJKLMNOPQ	70	79,5	PQ
11	48,79	ABCDEFGHIJKLM	1	57	CDEFGHIJKLMNOPQ	66	79,75	PQ
91	48,79	ABCDEFGHIJKLM	77	58,25	CDEFGHIJKLMNOPQ	100	81,29	Q
57	49	ABCDEFGHIJKLM	98	58,5	CDEFGHIJKLMNOPQ			
21	49,21	ABCDEFGHIJKLM	83	58,75	CDEFGHIJKLMNOPQ			

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Cuadro 28. Prueba de medias (DUNCAN) de la variable Longitud de Mancha (LM) para la evaluación de la resistencia de accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculados con *Macrophomina phaseolina*, con el método de la hoja cotiledonar desprendida.

Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo
12	10,24	A	41	36,25	ABCDEF	84	44,75	ABCDEF
85	19,29	AB	50	36,29	ABCDEF	70	45	ABCDEF
90	22,82	ABC	48	36,5	ABCDEF	57	45	ABCDEF
49	24,25	ABCD	19	36,71	ABCDEF	43	45,25	ABCDEF
1	25,5	ABCDE	5	36,75	ABCDEF	58	45,71	ABCDEF
25	25,79	ABCDE	76	36,79	ABCDEF	3	45,71	ABCDEF
20	26,25	ABCDE	27	36,79	ABCDEF	7	45,75	ABCDEF
14	27,25	ABCDE	59	38,23	ABCDEF	81	46,25	BCDEF
92	28,21	ABCDE	36	38,29	ABCDEF	69	46,75	BCDEF
9	29	ABCDE	15	39	ABCDEF	95	47,56	BCDEF
10	29,5	ABCDE	23	39,25	ABCDEF	16	48,21	BCDEF
94	31,23	ABCDE	93	39,71	ABCDEF	44	48,23	BCDEF
91	31,71	ABCDEF	61	39,75	ABCDEF	13	48,29	BCDEF
82	31,75	ABCDEF	35	40	ABCDEF	37	49,5	BCDEF
8	32	ABCDEF	46	40	ABCDEF	28	49,71	BCDEF
31	32,25	ABCDEF	97	40,21	ABCDEF	34	49,75	BCDEF
21	32,79	ABCDEF	45	40,21	ABCDEF	56	50,25	BCDEF
24	32,9	ABCDEF	53	40,29	ABCDEF	47	50,25	BCDEF
4	33	ABCDEF	83	40,5	ABCDEF	11	50,71	BCDEF
68	33,21	ABCDEF	88	40,71	ABCDEF	32	50,75	BCDEF
98	33,25	ABCDEF	73	41,23	ABCDEF	79	51,79	BCDEF
89	33,3	ABCDEF	22	41,25	ABCDEF	66	53,25	BCDEF
74	34	ABCDEF	29	41,5	ABCDEF	60	53,5	BCDEF
87	34,21	ABCDEF	67	41,71	ABCDEF	77	54,5	BCDEF
17	34,25	ABCDEF	65	41,79	ABCDEF	40	56,79	CDEF
6	35	ABCDEF	99	42,18	ABCDEF	42	57,5	CDEF
26	35,25	ABCDEF	71	42,25	ABCDEF	38	57,56	CDEF
39	35,71	ABCDEF	2	43,56	ABCDEF	30	60,21	DEF
75	35,71	ABCDEF	51	43,75	ABCDEF	100	60,71	EF
96	35,75	ABCDEF	62	43,75	ABCDEF	54	67,29	F
80	35,79	ABCDEF	33	44,21	ABCDEF			
78	36,25	ABCDEF	63	44,5	ABCDEF			

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ )

Cuadro 29. Prueba de medias (DUNCAN) de la variable Ancho de Mancha (AM) para la evaluación de la resistencia de accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculados con *Macrophomina phaseolina*, con el método de la hoja cotiledonar desprendida.

Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo
12	11,29	A	22	34,25	ABCDEFGHI	88	42,56	BCDEFGHIJ
25	19,94	AB	87	34,56	ABCDEFGHI	60	42,75	BCDEFGHIJ
49	20,5	AB	23	34,75	BCDEFGHI	43	43	BCDEFGHIJ
14	23,5	ABC	33	35,56	BCDEFGHI	46	43	BCDEFGHIJ
85	23,94	ABC	91	35,56	BCDEFGHI	98	43	BCDEFGHIJ
93	25,06	ABC	48	35,75	BCDEFGHI	51	43	BCDEFGHIJ
16	25,44	ABCD	57	35,75	BCDEFGHI	3	44,06	BCDEFGHIJ
1	26	ABCDE	94	35,75	BCDEFGHI	38	44,08	BCDEFGHIJ
82	26	ABCDE	74	36,5	BCDEFGHI	99	44,91	CDEFGHIJ
97	26,56	ABCDE	37	36,5	BCDEFGHI	73	45,08	CDEFGHIJ
21	26,94	ABCDE	11	36,56	BCDEFGHI	31	45,25	CDEFGHIJ
20	27	ABCDE	39	36,56	BCDEFGHI	56	45,25	CDEFGHIJ
6	28,25	ABCDEF	26	36,75	BCDEFGHI	7	45,5	CDEFGHIJ
9	28,5	ABCDEF	53	36,94	BCDEFGHI	32	45,5	CDEFGHIJ
75	28,56	ABCDEF	71	37,25	BCDEFGHI	24	45,75	CDEFGHIJ
96	28,75	ABCDEF	29	37,25	BCDEFGHI	59	45,75	CDEFGHIJ
89	29,44	ABCDEF	41	37,25	BCDEFGHI	42	46	CDEFGHIJ
80	29,44	ABCDEF	95	37,42	BCDEFGHI	100	46,56	CDEFGHIJ
90	29,56	ABCDEF	13	37,94	BCDEFGHIJ	79	46,94	CDEFGHIJ
27	30,44	ABCDEFG	36	38,44	BCDEFGHIJ	69	47,25	CDEFGHIJ
5	30,75	ABCDEFG	15	38,75	BCDEFGHIJ	65	47,44	CDEFGHIJ
19	30,75	ABCDEFG	77	39	BCDEFGHIJ	47	47,5	CDEFGHIJ
17	31	ABCDEFGH	76	39,44	BCDEFGHIJ	62	49,5	DEFGHIJ
10	31,25	ABCDEFGH	83	40,5	BCDEFGHIJ	44	49,75	EFGHIJ
8	31,25	ABCDEFGH	61	40,75	BCDEFGHIJ	40	49,94	EFGHIJ
4	31,5	ABCDEFGH	2	41,08	BCDEFGHIJ	54	51,44	FGHIJ
28	32,56	ABCDEFGHI	81	41,25	BCDEFGHIJ	34	54	GHIJ
68	33,06	ABCDEFGHI	63	41,5	BCDEFGHIJ	66	55	HIJ
50	33,44	ABCDEFGHI	84	41,5	BCDEFGHIJ	70	56,25	IJ
35	33,5	ABCDEFGHI	67	41,56	BCDEFGHIJ	30	61,56	J
45	34,06	ABCDEFGHI	58	41,56	BCDEFGHIJ			
92	34,06	ABCDEFGHI	78	42	BCDEFGHIJ			

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Cuadro 30. Prueba de medias (DUNCAN) del índice Longitud Hoja/Longitud Mancha (LH/LM) para la evaluación de la resistencia de accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculados con *Macrophomina phaseolina*, con el método de la hoja cotiledonar desprendida.

Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo	Trat	Medias	Grupo
12	0,21	A	61	0,71	BCDEFG	60	0,84	BCDEFG
31	0,4	AB	43	0,71	BCDEFG	33	0,84	BCDEFG
14	0,42	ABC	82	0,71	BCDEFG	96	0,84	BCDEFG
1	0,45	ABCD	87	0,71	BCDEFG	44	0,85	BCDEFG
94	0,45	ABCD	51	0,71	BCDEFG	27	0,86	BCDEFG
99	0,48	ABCDE	85	0,71	BCDEFG	30	0,86	BCDEFG
20	0,49	ABCDE	46	0,72	BCDEFG	42	0,87	BCDEFG
23	0,53	ABCDEF	63	0,72	BCDEFG	29	0,87	BCDEFG
49	0,56	ABCDEF	79	0,72	BCDEFG	19	0,88	BCDEFG
70	0,56	ABCDEF	36	0,73	BCDEFG	93	0,89	CDEFG
98	0,56	ABCDEF	7	0,73	BCDEFG	3	0,9	CDEFG
35	0,58	ABCDEFG	88	0,73	BCDEFG	56	0,91	CDEFG
78	0,58	ABCDEFG	41	0,73	BCDEFG	2	0,91	DEFG
65	0,59	ABCDEFG	84	0,74	BCDEFG	57	0,92	DEFG
91	0,62	ABCDEFG	10	0,75	BCDEFG	75	0,92	DEFG
74	0,62	ABCDEFG	100	0,76	BCDEFG	28	0,93	DEFG
62	0,63	ABCDEFG	40	0,76	BCDEFG	77	0,94	DEFG
73	0,63	ABCDEFG	59	0,77	BCDEFG	53	0,94	DEFG
83	0,65	ABCDEFG	68	0,77	BCDEFG	13	0,94	DEFG
17	0,66	ABCDEFG	38	0,78	BCDEFG	54	0,94	DEFG
66	0,66	ABCDEFG	71	0,78	BCDEFG	97	0,94	DEFG
22	0,66	ABCDEFG	4	0,79	BCDEFG	67	0,96	EFG
89	0,66	ABCDEFG	32	0,79	BCDEFG	37	0,96	EFG
6	0,67	ABCDEFG	39	0,8	BCDEFG	16	0,96	EFG
21	0,67	ABCDEFG	48	0,8	BCDEFG	47	0,96	EFG
76	0,68	BCDEFG	24	0,8	BCDEFG	95	0,99	FG
90	0,68	BCDEFG	25	0,81	BCDEFG	5	1	FG
34	0,69	BCDEFG	81	0,81	BCDEFG	92	1,06	G
50	0,69	BCDEFG	58	0,82	BCDEFG	45	1,06	G
15	0,7	BCDEFG	8	0,82	BCDEFG	11	1,06	G
9	0,7	BCDEFG	26	0,82	BCDEFG			
69	0,71	BCDEFG	80	0,83	BCDEFG			

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

del último grupo, con valores de 0,89 a 1. Asimismo, la mayoría de las accesiones presentaron valores intermedios entre 0,42 y 0,88 estadísticamente similares entre sí. Tomando en cuenta el menor tamaño de la mancha y la consistencia entre las repeticiones, dentro del primer grupo se destaca la variedad local I-2240. Asimismo dentro del grupo intermedio, se encuentran las variedades locales I-2647, I-2592 e I-2583, las líneas avanzadas I-2660, Gen 12 e I-2655 y las semidomesticadas I-2032 e I-225. En un estudio similar<sup>1</sup>, se consideró que algunos factores como la variabilidad dentro del genotipo, así como el vigor y la edad de la semilla, permiten encontrar hojas cotiledonares pequeñas y hojas cotiledonares grandes que podrían afectar el crecimiento del hongo. Por ello, consideraron lo confiable de usar el índice LH/LM y AH/AM (Cuadro 31) para la evaluación de genotipos por su respuesta ante el hongo por ser independiente del tamaño de la hoja. El uso de este índice (LH/LM) fue útil para la discriminación de resultados, porque además de los factores ya mencionados, se debe mencionar el hecho de que en este estudio se incluyen diversos tipos de accesiones como variedades locales y semidomesticadas donde puede presentarse diversidad en el tamaño de las hojas cotiledonares. Las diferencias estadísticas entre genotipos por su longitud y ancho de hoja obtenidos así lo demuestran.

### **3.3. Selección de progenitores por su reacción ante *Macrophomina phaseolina* en combinación con los estudios morfológicos y su reacción ante *Xanthomonas phaseoli*.**

En diversos trabajos se ha reportado la identificación de accesiones de caraota resistentes a *Macrophomina phaseolina* (Songa *et al.*, 1997; Mayek *et al.*, 2002; Mayek *et al.*, 2009). Sin embargo, dado que la resistencia a la enfermedad puede variar dependiendo del ambiente y el cultivar, Songa *et al.* (1997) recomiendan que cada país debe realizar un sondeo de sus materiales y desarrollar variedades resistentes que estén adaptadas a su ambiente. Por ello es importante la identificación de genotipos portadores de alelos favorables a la enfermedad en nuestras condiciones climáticas, que puedan ser utilizados en un programa de premejoramiento genético. Adicionalmente, se requieren estudios relativos al análisis de la herencia de la resistencia genética a este hongo en germoplasma de caraota, para su incorporación efectiva de la resistencia a este patógeno en

Cuadro 31. Medias del índice Ancho Hoja/Ancho Mancha (AH/AM) para la evaluación de la resistencia de accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculados con *Macrophomina phaseolina*, con el método de la hoja cotiledonar desprendida.

Trat	Medias	Trat	Medias	Trat	Medias
12	0,35	85	0,94	29	1
14	0,5	25	0,94	4	1
49	0,57	13	0,94	26	1
23	0,6	16	0,94	15	1
20	0,64	21	0,94	8	1
31	0,65	34	0,94	10	1
1	0,66	74	0,94	96	1
94	0,67	69	0,95	95	1
35	0,73	19	0,95	24	1
93	0,75	98	0,97	44	1
6	0,75	32	0,98	2	1
22	0,75	70	0,98	73	1
17	0,75	84	1	59	1
82	0,75	60	1	99	1
100	0,8	61	1	97	1
68	0,82	71	1	90	1
9	0,83	78	1	91	1
38	0,84	77	1	3	1
50	0,86	62	1	92	1
83	0,86	63	1	75	1
66	0,86	81	1	39	1
65	0,87	57	1	67	1
43	0,87	46	1	45	1
27	0,91	42	1	58	1
89	0,93	41	1	33	1
53	0,94	37	1	87	1
76	0,94	7	1	88	1
54	0,94	47	1	28	1
36	0,94	56	1	30	1
40	0,94	51	1	11	1
80	0,94	48	1		
79	0,94	5	1		

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

materiales de este cultivo. En este sentido, Mayek *et al.* (2009) determinaron, en condiciones de infestación natural en campo, que dos pares de genes dominantes con efectos complementarios (epístasis doble recesiva) gobiernan la resistencia.

Los resultados de este estudio revelaron una variación en cuanto al comportamiento de las accesiones por su respuesta ante este patógeno. Las diferencias estadísticamente significativas entre genotipos en cuanto a las variables AH y LH refleja la diversidad del tamaño de las hojas dentro de las accesiones por los distintos tipos de cultivares usados. En estudios similares, este aspecto pudo afectar el tamaño de las manchas (AM y LM), por verse influenciado por el tamaño del disco utilizado como inóculo (Moreno, 2016). Por otra parte, el índice LH/LM también permitió establecer diferencias significativas entre el comportamiento de las accesiones ante el patógeno y es un dato más confiable para la evaluación de genotipos por ser independiente del tamaño de la hoja.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se señalaron algunas accesiones que presentan alelos favorables por mostrar lesiones de menor tamaño según los valores obtenidos con este índice (LH/LM) y que podrían seleccionarse como progenitores en el diseño de una población básica. Se destaca la variedad local I-2240 porque al ser discriminado con la prueba de medias Duncan ( $p \leq 0,05$ ), presentó el menor valor promedio. Asimismo, también se mencionaron las variedades locales I-2647, I-2592 e I-2583, las líneas avanzadas I-2660, Gen 12 e I-2655 y las semidomesticadas I-2032 e I-225 por su menor valor del índice y consistencia entre las repeticiones. Según publicación realizada por Mayek *et al.* (2002), en programas de mejoramiento genético de caraota donde la pudrición carbonosa sea una enfermedad importante a combatir, solo los genotipos con alta producción de biomasa aérea junto con resistencia a la pudrición carbonosa deberían ser utilizados como progenitores. En este sentido, de acuerdo con las evaluaciones morfológicas realizadas en este estudio, se descartan como posibles progenitores las semidomesticadas por presentar muy bajo peso de semillas y hojas muy pequeñas. Asimismo, se decidió no incluir a las variedades locales I-2647 e I-2592, por su bajo número de vainas por planta. Por otra parte, dentro de las tres líneas avanzadas mencionadas solo se seleccionará la Gen 12, ya que de acuerdo a la evaluación por su reacción ante *Xanthomonas phaseoli*, las otras dos presentaron alta susceptibilidad a la bacteria.

Por tanto, en combinación con los estudios morfológicos y su reacción ante *Xanthomonas phaseoli* realizados, en el diseño de la población básica se seleccionan como progenitores por su aporte de alelos favorables a la resistencia ante el hongo *Macrophomina phaseolina*, las variedades locales I-2240 e I-2583 y la línea avanzada Gen 12.

#### **4. CARACTERIZACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA MEDIANTE EL USO DE MARCADORES MOLECULARES TIPO MICROSATÉLITE.**

##### **4.1. Diversidad Genética**

Para el análisis de diversidad, de los 21 microsatélites utilizados, 10 fueron seleccionados por obtener productos de amplificación con buena resolución, reproducibilidad y capacidad de registro de patrón de bandas. Estos fueron los SSR: BM 139, BM140, BM 143, BM 155, BM 156, BM 160, BM 164, BM 197, BM 202 y AG-1 con los que se logró un total de 901 bandas registradas, de las cuales ninguna resultó monomórfica permitiendo la caracterización y evaluación de la diversidad genética en las 102 accesiones de caraota utilizadas. Estos resultados difieren de León (2015) quién en un estudio sobre cultivares locales y mejorados de caraota, obtuvo bandas monomórficas con el uso de cuatro de estos marcadores, atribuido por la autora al color de la semilla ya que los 30 cultivares por ella evaluados, eran todos de semilla negra. Por otra parte, tanto Pérez, M (2008), como Blair *et al.* (2006) en estudios de diversidad con 96 y 44 accesiones de caraota, respectivamente, encontraron polimorfismo con el uso de estos microsatélites.

En el Cuadro 32, se presentan las frecuencias, pares de base (pb), contenido de información polimórfica (PIC) y tipo de alelo obtenido para cada SSR en todas las accesiones de caraota evaluadas. En la población en general, el total de alelos fue de 35 alelos, con un promedio de 3,5 alelos/locus en un rango de 2 a 5. Asimismo, se observó que los valores de PIC variaron de un alelo a otro con un valor medio de 0,486 en un rango de 0,30 y 0,71, siendo SSR BM 143 y BM 156 los que presentaron mayor diversidad de genotipos (valor de 0,71 cada uno). De estos, BM 143 presentó el mayor número de alelos (5). Resultados similares fueron obtenidos por León (2015) quien también presentó el mayor contenido de información polimórfica con el uso de estos SSR (0,66 y 0,67, respectivamente) y con valores de PIC similares a los reportados por Blair *et al.* (2006) para estos mismos marcadores (0,887 y 0,818, respectivamente). En relación al número de alelos por locus,

Cuadro 32. Número, talla, frecuencia, contenido de información polimórfica y tipo de alelo en 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) con el uso de 10 marcadores microsatélites.

SSR	N° de alelos	Alelo	Talla (pb)	Frecuencia	PIC	Genotipos Homogéneos	Genotipos Heterogéneos	Genotipos con alelos nulos*
BM 139	4	A1	125	0,002	0,42	77	0	25
		A2	113	0,033				
		A3	101	0,002				
		A4	68	0,548				
BM 140	3	B1	81,78	0,002	0,3	99	3	0
		B2	82,42	0,015				
		B3	82,76	0,686				
BM 143	5	D1	166,13	0,034	0,71	71	0	31
		D2	153,62	0,007				
		D3	146,16	0,013				
		D4	129,5	0,024				
		D5	107,63	0,216				
BM 155	2	E1	137,1	0,503	0,41	85	13	4
		E2	131,6	0,085				
BM 156	4	F1	281,61	0,046	0,71	96	0	6
		F2	261,46	0,012				
		F3	246,39	0,078				
		F4	238	0,158				
BM 160	5	G1	280,57	0,002	0,33	101	0	1
		G2	247,33	0				
		G3	230,4	0,001				
		G4	214,62	0,01				
		G5	184,77	0,659				
BM 164	4	H1	184,6	0,006	0,36	87	7	8
		H2	174,21	0,016				
		H3	144,74	0,62				
		H4	202,52	0				
BM 197	2	I1	211,06	0,135	0,46	98	0	4
		I2	201,24	0,4				
BM 202	3	J1	165,05	0,207	0,62	67	1	34
		J2	158,07	0,145				
		J3	137,35	0,027				
AG-1	3	K1	138,28	0,016	0,54	93	3	6
		K2	135,6	0,371				
		K3	130,38	0,071				
Total	35					874	27	119
Promedio	3,5				0,486			
Porcentaje						85,7%	2,7%	11,6%

\*: Se consideraron como alelos nulos aquellos que no amplificaron después de repetir el procedimiento dos veces (Blair *et al.*, 2007).

este trabajo es similar al obtenido en estudios de diversidad genética con accesiones de Venezuela (León, 2015; Pérez, M 2008), pero difiere del obtenido por Blair *et al.* (2006) con un mayor número de fragmentos amplificados, hasta de 18 bandas con el SSR BM 143. Esto posiblemente sea debido a la gran diversidad de genotipos utilizados, ya que incluyeron combinaciones parentales entre especies, entre cultivares, entre accesiones de ambos centros de origen (mesoamericanos y andinos), y entre accesiones silvestres de países como Argentina, Colombia y México, con variedades locales de Colombia.

En general, se evidenció que el tamaño de los fragmentos, medida en pares de base de alelos, está en un rango de talla dentro de los descritos por los diversos autores ya citados (León, 2015; Pérez, M 2008; y Blair *et al.*, 2006). En relación al tipo de fragmento obtenido, las accesiones mostraron una sola banda para la mayoría de los marcadores, con un total de 874 fragmentos homogéneos (85,7%), lo cual era de esperarse por tratarse de una especie autógama donde es posible alcanzar un altísimo nivel de homocigosis con un mínimo porcentaje de heterocigosis. El hecho de que una accesión muestre más de un fragmento para un marcador microsatélite en particular (representado por el 2,7% de la población evaluada), no implica que necesariamente la accesión sea heterocigota, ya que existe la posibilidad de inferir que la accesión proviene de mezclas de semillas realizadas por los agricultores en la zona donde se realizó la colecta. Resultados similares fueron obtenidos por Pérez, M (2008), quién manifiesta que la presencia de accesiones heterogéneas dan indicios a tres posibles procesos de domesticación por los agricultores: las accesiones provienen de la introgresión de genes, son productos de múltiples mezclas realizadas durante el intercambio entre productores o las accesiones de un productor provienen de una mezcla previa de semillas. Dado que la caraota común es una especie predominantemente autógama, se esperaría mayor variabilidad entre las accesiones que dentro de la propia accesión.

#### **4.2. Análisis de similaridad genética y agrupamientos**

La similitud de las 102 accesiones de caraota a través del análisis de conglomerados formó seis grupos con un nivel de similaridad genética de Dice de 0,23 a 1,0 (Figura 16). Cada

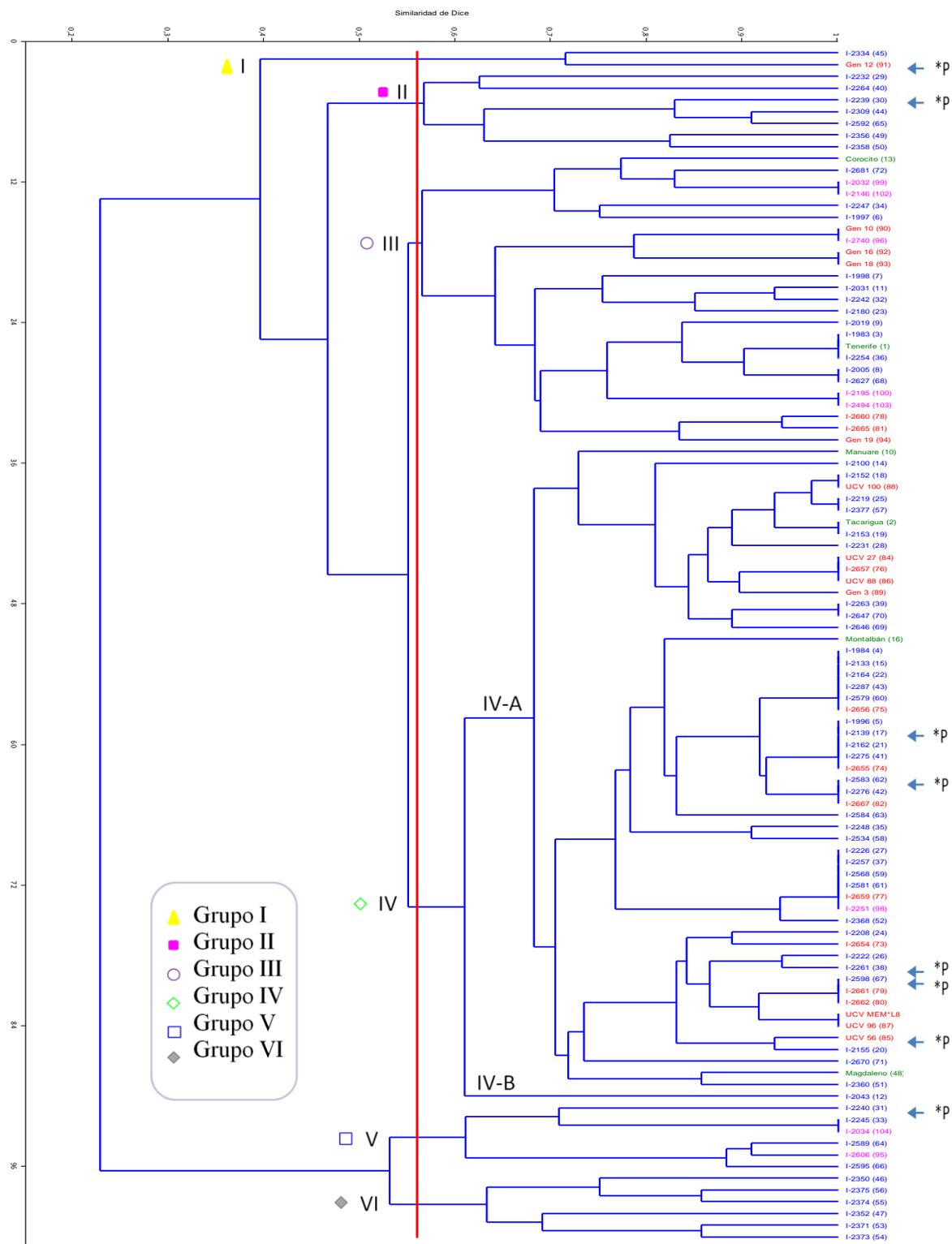


Figura 16. Dendrograma de las similitudes genéticas de 102 accesiones de caraota (*P. vulgaris* L.) con 10 marcadores SSR, utilizando coeficiente de Dice y cálculo de agrupamiento por el método UPGMA. \*P: seleccionado como parental por presentar alelos de interés.

conglomerado permitió diferenciar claramente grupos de genotipos, unos de otros. El Grupo I se ubicó a una distancia de similitud de 0,395 y estuvo conformado por dos accesiones, una variedad local (I-2334) y una línea avanzada del INIA (Gen 12). El Grupo II, a una distancia de similaridad de 0,465 estuvo compuesto solo por variedades locales, cuatro procedentes de la zona andina, uno de Monagas y dos del estado Sucre.

El Grupo III está representado por 13 variedades locales conservados por los agricultores en diversas zonas agrícolas del país, ubicados en los estados Aragua, Carabobo, Mérida, Miranda, Monagas, Sucre, Táchira y Yaracuy, a una similaridad genética de 0,565. También incluyó dos semidomesticadas (procedentes de Carabobo y Miranda), una comercial (Corocito), dos líneas avanzadas del CIAT y una del INIA. Es de hacer notar que tanto la variedad comercial como la línea del INIA provienen de selecciones obtenidas a partir de líneas introducidas del CIAT.

El Grupo IV, a un nivel de 0,61 fue subdividido en dos subgrupos, el subgrupo IV A y IV B, este último con un solo genotipo, la variedad local I-2043. El subgrupo IV A es el agrupamiento que contiene la mayor cantidad de accesiones con representación de 27 variedades locales, todas las líneas avanzadas de la UCV y la mayor cantidad tanto de líneas avanzadas del CIAT como de cultivares comerciales. Es interesante destacar que las líneas introducidas del CIAT presentaron una alta similitud genética con grupos de variedades locales y las líneas avanzadas de la UCV con valores de similitud  $\geq 0,89$ . Esto es de esperarse porque dichas líneas presentan un antecedente genético común ya que todas provienen del cruce entre una línea del CIAT y una variedad local.

Es un punto notable que en los programas de mejoramiento las variedades comerciales pueden comportarse como cultivares tradicionales y por ello son aceptados por los productores de caraota para su cultivo. De la misma manera las comerciales presentan semejanza genética debido a que provienen de selecciones dentro de líneas introducidas del CIAT. La conformación de este subgrupo expresa la tendencia observada por León (2115) donde se evidenció similitud genética entre las líneas avanzadas y comerciales con un valor de similitud de 0,65.

Finalmente, doce accesiones que incluyeron diez variedades locales y dos semidomesticadas fueron agrupadas en los Grupos V y VI, con una distancia de similaridad de 0,53 entre ellos, se separan del resto de los grupos con un nivel de similitud muy bajo de

0,23. Esto denota claramente la distancia genética de estos dos grupos de accesiones con relación al resto de los genotipos.

El hecho de que una gran cantidad de variedades locales, comerciales y líneas avanzadas estén presentes dentro de un mismo subgrupo da una clara indicación de la estrechez genética presente en los cultivares comerciales de caraota utilizados en Venezuela, aspecto que ha sido reportado por Gutiérrez y Rincón (2011). También refleja que las comerciales y líneas avanzadas desarrolladas en los programas de mejoramiento en Venezuela comparten uno o varios ancestros de los programas de mejoramiento de las líneas introducidas del CIAT. Sin embargo, es interesante notar que en general las líneas avanzadas de la UCV se encuentran en grupos separados respecto a las líneas del INIA, lo que denota que presentan ancestros distintos. Adicionalmente, la presencia de variedades locales en todos los grupos conformados demuestra su potencial como fuente de diversidad, y la presencia de semidomesticadas en grupos tan distantes como el III y V, manifiesta una gran diversidad entre ellas; aspectos a tomar en cuenta para ampliar la base genética del cultivo.

Complementariamente, en el análisis de Coordenadas Principales se pueden identificar y destacar los grupos de accesiones obtenidos previamente en el análisis de conglomerados (Figura 17). De las 102 accesiones evaluadas se observó que las coordenadas 1 y 2 permitieron separar los grupos identificados como I, IV, V y VI en el análisis de conglomerados, en una primera dimensión que explicó el 20,4% de la varianza. Asimismo, las coordenadas 2 y 3 permitieron separar en una segunda dimensión al grupo II del grupo III, con un 8% de la varianza. Igualmente, el grupo IV, con el mayor número de accesiones, fue predominantemente separado por la tercera dimensión de análisis de coordenadas principales, explicando el 7,31% de la varianza.

#### **4.3. Criterios a considerar en la selección de progenitores según su distancia genética**

En un programa de mejoramiento genético, generalmente los progenitores se seleccionan sobre la base de su divergencia genética. Al cruzar materiales genéticamente distanciados en planes específicos de cruzamientos se puede lograr mediante hibridación una población segregante donde se pone de manifiesto una gran variabilidad genética útil para el desarrollo de una población básica. En otros cultivos, de reproducción sexual autógama

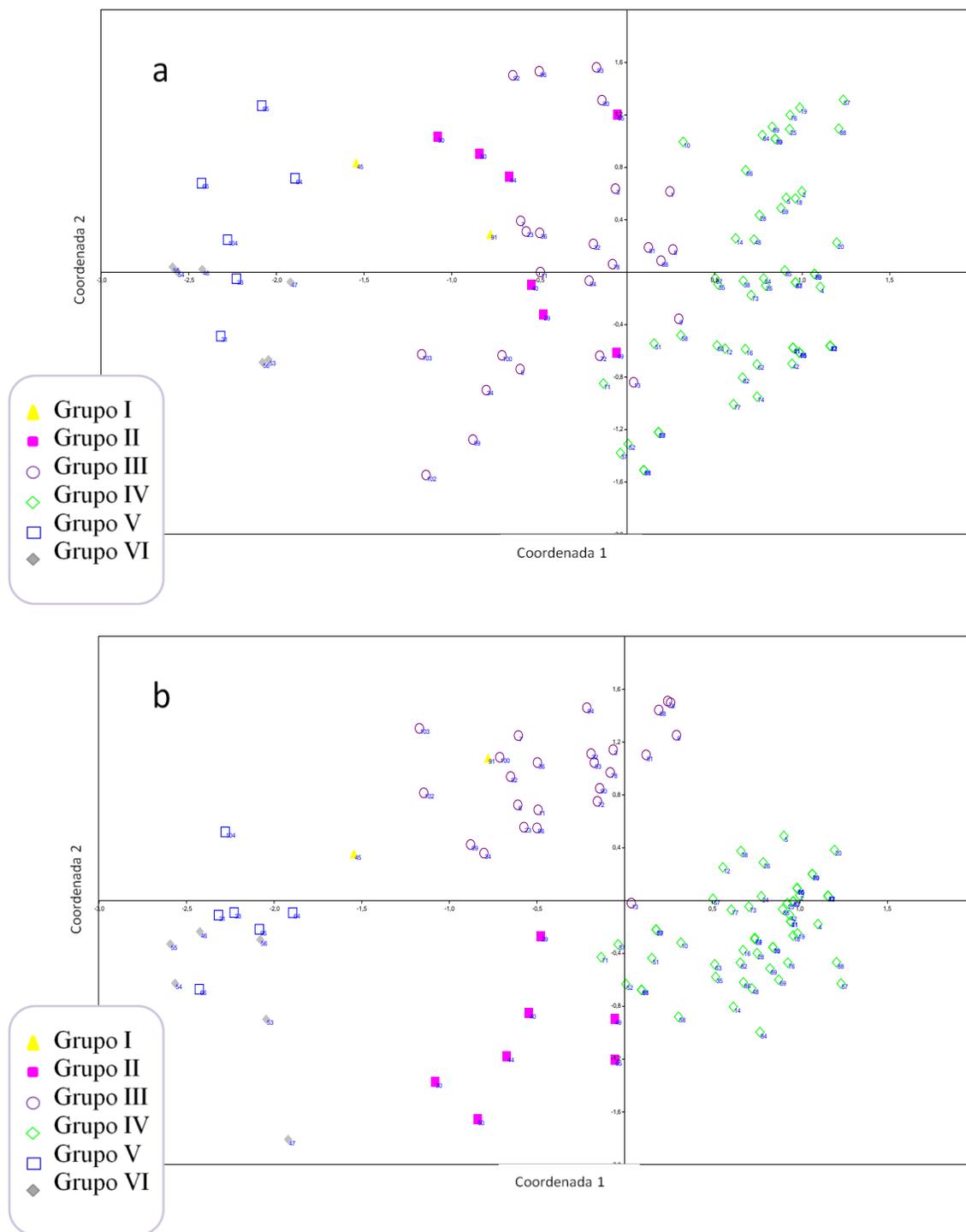


Figura 17. Análisis de Coordenadas Principales destacando los grupos de accesiones obtenidos previamente en el Análisis de Conglomerados en 102 accesiones de caraota (*P. vulgaris* L.) con 10 marcadores SSR, donde **a** separa claramente los Grupos I, IV, V y VI; y **b** los Grupos II y III

como el arroz, se ha reportado que la selección de padres a partir de cada grupo formado en un análisis de conglomerados y su posterior cruzamiento en cruces dialélicos, han resultado altamente productivos (Allgholipour *et al.*, 2014). Por tanto, para esta investigación se incluirá como criterio de selección que las accesiones a ser utilizadas como parentales se encuentren en los diferentes grupos conformados según al análisis de conglomerados y análisis de coordenadas principales.

Del mismo modo, también se ha reportado que la recombinación entre caracteres de los acervos Andinos y Mesoamericanos, podrían proporcionar una fuente única de combinaciones de genes con el fin de ampliar la base genética del cultivo (Voyssest, 2000). Así que también se incluirá en la selección de progenitores, una variedad local (I-2239) procedente del centro de origen andino con presencia de Faseolina T, según estudio realizado previamente en acervos primarios de caraota por Medina *et al.* (2013). Según Blair *et al.* (2006), el mayor grado de polimorfismo en *P. vulgaris* con el uso de marcadores microsatélites se encontró cuando se realizaron combinaciones parentales entre accesiones procedentes de los dos centros de origen.

Adicionalmente, el cruzamiento entre materiales genéticos procedentes de localidades geográficas distantes entre sí, garantizan una gran divergencia genética, lo cual permitiría mediante la recombinación en la F1 la obtención de una mayor cantidad de genotipos en las poblaciones F2 y por tanto una mayor cantidad de posibilidades de selección (Laurentin, 2008). En estudios de diversidad genética a través de marcadores moleculares microsatélites con distintos cultivares locales representantes de todas las regiones productoras del país, Pérez, M (2008) encontró que la mayor diversidad de alelos se presentó en la región andina, centro-occidental y oriental. Así que este aspecto también fue considerado para la selección de parentales, dado que en esta investigación se incluyeron variedades locales de distintas zonas geográficas de Venezuela.

Finalmente, como contrapartida, la selección de parentales para el diseño de una población básica debe poseer dos características principales. No solo debe aportar variabilidad genética, como se ha venido considerando, sino también debe contar con la presencia de alelos de interés para los genes que controlan diferentes características importantes (Ramis, 2008). Por tanto, también se van a tomar en cuenta las accesiones que ya fueron previamente seleccionadas en la presente investigación, por su reacción ante

*Macrophomina phaseolina* y *Xanthomonas phaseoli*, en combinación con los estudios morfológicos y se identifican en la Figura 16. Los detalles de estas accesiones seleccionadas como parentales y criterios de selección se señalan en el siguiente punto.

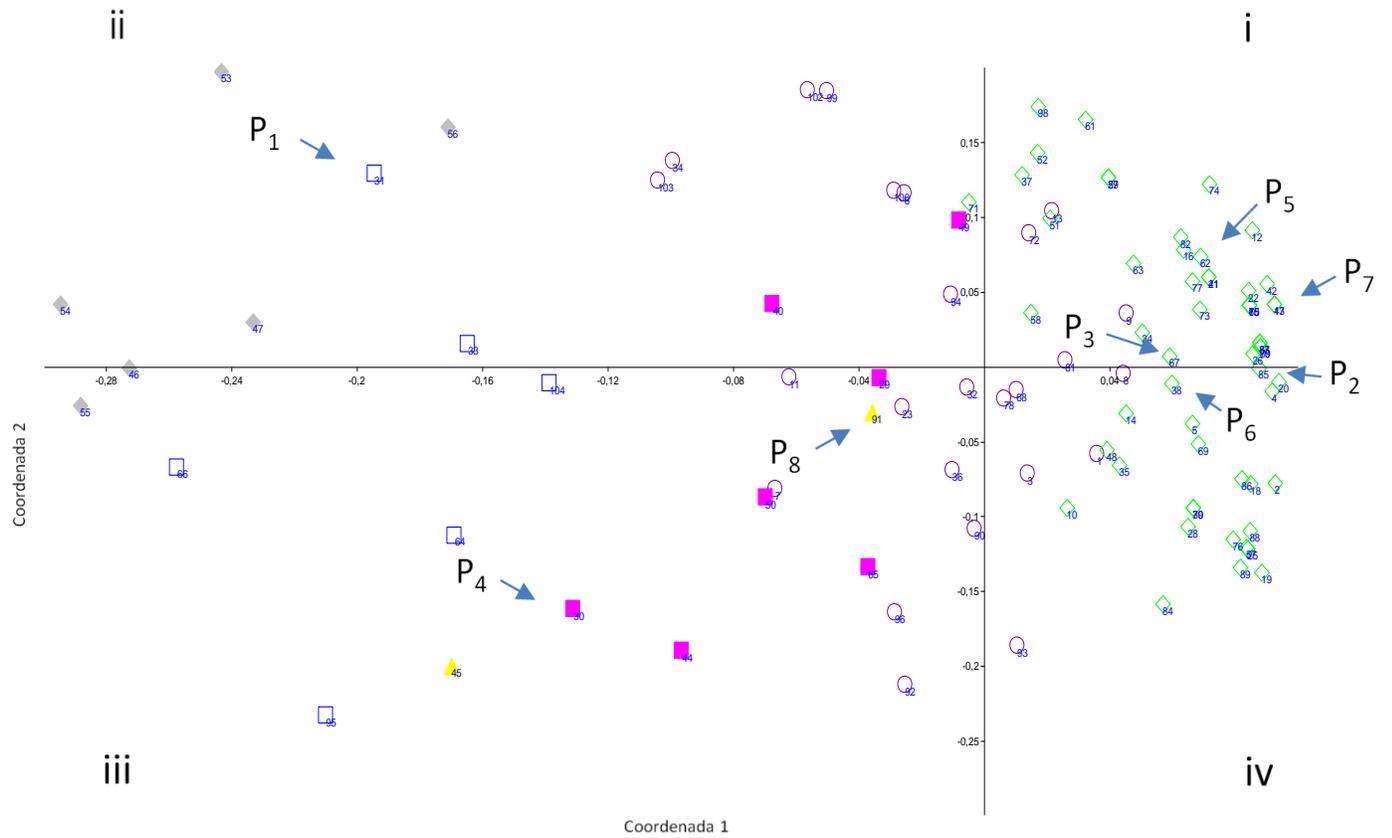
## **5. DISEÑO DE ESQUEMAS DE CRUZAMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE POBLACIONES DE AMPLIA BASE GENÉTICA CON CARACTERÍSTICAS DE INTERÉS PARA LOS PROGRAMAS DE MEJORAMIENTO DE CARAOTA.**

### **5.1. Selección de progenitores y diseño de cruzamiento**

A partir de las 102 accesiones de caraota evaluadas, inicialmente se seleccionaron ocho para el diseño de una población premejorada de amplia base genética por la presencia de alelos favorables, de acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo. Estos incluyeron variedades locales y líneas avanzadas escogidas por sus características morfológicas (diversidad de caracteres cualitativos, alto peso de semillas, longitud de vainas, número de vainas por planta y número de semillas por vaina). También por su resistencia a la bacteria *Xanthomonas phaseoli* (bajo tamaño de mancha foliar y/o % área foliar evaluado a los 20 dds, ABCPE y/o promedio) y tolerancia al hongo *Macrophomina phaseolina* (menores valores de AH, AM, LH, LM y LH/LM). Adicionalmente se tomó en cuenta la distancia genética entre esas accesiones, lugar donde se realizó la colecta (zona oriental, central y andina) y tipo de faseolina (según Medina *et al*, 2013).

Por tanto, para el diseño de cruzamientos simples se seleccionaron como parentales aquellos que por sus características favorables se encontraron en grupos genéticos distintos en el análisis de conglomerados (Figura 16) o en cuadrantes diferentes según su posición en el gráfico biplot producto del análisis de coordenadas principales (Figura 18), de manera que por cada generación de cruces se logre la reproducción de recombinantes con alelos favorables para múltiples características. Las accesiones seleccionadas como progenitores y criterio de selección se señalan en el Cuadro 33.

Con los materiales seleccionados se realizó un diseño de cruzamiento simultáneo de múltiples caracteres mediante la hibridación de los ocho parentales, cruzados en sucesivas generaciones de cruzamientos simples y cruzamientos dobles en dos ciclos de cruzamiento,



Parentales	Grupo Genético (Cluster)	Cuadrante (ACoordP)	Parentales	Grupo Genético (Cluster)	Cuadrante (ACoordP)
P <sub>1</sub>	V	ii	P <sub>5</sub>	IV	i
P <sub>2</sub>	IV	iv	P <sub>6</sub>	IV	iv
P <sub>3</sub>	IV	i	P <sub>7</sub>	IV	i
P <sub>4</sub>	II	iii	P <sub>8</sub>	I	iii

Figura 18. Análisis de Coordenadas Principales (ACoordP) señalando las accesiones seleccionadas como parentales según los grupos obtenidos previamente en el Análisis de Conglomerados (Cluster) en 102 accesiones de caraota (*P. vulgaris* L.) con 10 marcadores SSR para el diseño de una población premeorada de amplia base genética.

Cuadro 33. Accesiones seleccionadas como progenitores por sus alelos favorables y alta diversidad genética para el diseño de una población premeorada de amplia base genética en caraota (*Phaseolus vulgaris* L.).

Padres	Accesión	Región de procedencia	Características morfológicas	Resistencia a <i>X. phaseoli</i>	Tolerancia a <i>M. phaseolina</i>	Faseolina T*	Grupo genético SSR	Cuadrante (ACoorP)
P <sub>1</sub>	I-2240	Oriental			✓		V	ii
P <sub>2</sub>	UCV-56	UCV	✓	✓			IV	iv
P <sub>3</sub>	I-2598	Andina		✓			IV	i
P <sub>4</sub>	I-2239	Oriental				✓	II	iii
P <sub>5</sub>	I-2583	Andina			✓		IV	i
P <sub>6</sub>	I-2261	Oriental	✓				IV	iv
P <sub>7</sub>	I-2139	Central		✓			IV	i
P <sub>8</sub>	Gen 12	INIA	✓		✓		I	iii

ACoorP: Análisis de Coordenadas Principales; \* según señalado por Medina *et al.*, 2013.

siguiendo el diseño de Sleper y Milton, 2006. En este esquema de cruzamiento múltiple, se cruzaron durante la primera generación, el padre 1 con el 2, el 3 con el 4, el 5 con el 6 y el 7 con el 8; en la segunda generación se cruza la descendencia del cruzamiento 1-2 con la descendencia del cruzamiento 3-4, y la descendencia de 5-6 con la descendencia de 7-8 (Laurentin, 2008). El esquema de cruzamiento realizado se señala en la Figura 19. Por tanto, con este diseño de cruzamiento, se obtuvieron dos poblaciones tetraparentales segregantes. Los detalles del lugar y fecha donde se realizaron los cruces, el número de semillas obtenidas producto de cada cruzamiento se señalan en el Cuadro 34. En un próximo trabajo de investigación se pretende que para la tercera generación se cruce la descendencia de 1-2—3-4 con la descendencia de 5-6—7-8 para tener finalmente una población octoparental en la cual exista la posibilidad que en algunos individuos se recombinen alelos de los 8 padres.

En un estudio sobre variabilidad genética de variedades locales y comerciales de Venezuela con el uso de marcadores RAPDs, se recomendó la variedad comercial ‘Tacarigua’ y la línea avanzada del INIA (identificada como Gen 19, en este estudio), como posibles parentales en un programa de mejoramiento genético del cultivo para mejorar cultivares de grano negro (Gutiérrez y Rincón, 2011). Sobre la base de solo 22 materiales, estos

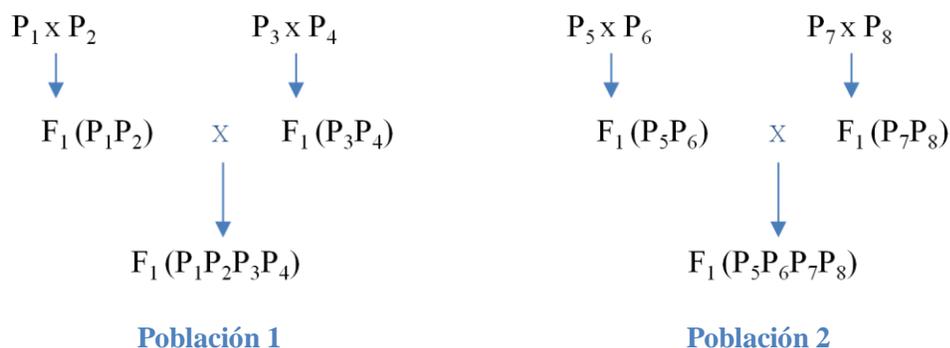


Figura 19. Esquema de cruzamiento utilizando ocho progenitores en dos ciclos de cruzamiento para la obtención de dos poblaciones tetraparentales de amplia base genética en caraota (*Phaseolus vulgaris* L.).

Cuadro 34. Lugar, fecha y productos adquiridos utilizando ocho progenitores en dos ciclos de cruzamiento para la obtención de dos poblaciones de amplia base genética en caraota (*Phaseolus vulgaris* L.).

Ciclo	Lugar /Fecha	Parentales	N° plantas sembradas	N° plantas cosechadas con vaina	N° vainas producto de cruzamiento	N° semillas obtenidas del cruce	N° semillas obtenidas por autofecundación
1	Campo Experimental IGen	P <sub>1</sub>	30	15	6	8	-
		P <sub>2</sub>	30	10			
		P <sub>3</sub>	20	8			
		P <sub>4</sub>	20	13			
	Diciembre 2014- febrero 2015	P <sub>5</sub>	30	19	18	36	-
		P <sub>6</sub>	30	22			
		P <sub>7</sub>	30	8			
		P <sub>8</sub>	30	7			
2	Casa de Cultivo FONDAS Ago-nov 2015	(P <sub>1</sub> x P <sub>2</sub> )	8	9	4	8	6
		(P <sub>3</sub> x P <sub>4</sub> )	8	30			4
		(P <sub>5</sub> x P <sub>6</sub> )	36	10			24
		(P <sub>7</sub> x P <sub>8</sub> )	13	23			5

genotipos quedaron genéticamente distantes del resto y las autoras consideran que podrían ofrecerse como alternativa a los sistemas de producción con el fin de disminuir la vulnerabilidad ante condiciones adversas de los materiales en el mercado. De acuerdo con los resultados del presente trabajo, estos materiales también quedaron en grupos genéticamente separados (Grupos III y IV, respectivamente), sin embargo, otros genotipos fueron los seleccionados como parentales por presentar mayor distancia genética en relación al resto de las accesiones y además presentar alelos de interés (Ramis, 2008), no solo por color de grano.

## **5.2. Riqueza alélica**

Al observar el número de alelos por locus en cada tipo de cultivar, en general se observa la mayor y gran diversidad alélica encontrada en las variedades locales (Cuadro 35). Con un total de 35 alelos para los 10 microsatélites utilizados y el mayor valor de PIC promedio encontrado (0,51), demuestra una vez más el potencial que tienen las variedades locales como fuente de diversidad, aspecto que también fue señalado por León (2015), y que se ha venido destacando en el presente trabajo por la diversidad morfológica y la distancia genética encontrada. Es de hacer notar que seis de los ocho padres seleccionados, son variedades locales. Sin embargo, ahora queremos destacar el efecto de la selección de los parentales sobre la diversidad genética presente en los materiales comerciales y líneas avanzadas en los programas de mejoramiento de la UCV, INIA y los introducidos del CIAT. En promedio, se obtuvieron 2,5 alelos por locus en dichos padres, con un total de 25 alelos para todos los SSR. Esto representa un valor sobresaliente al compararlo con las líneas avanzadas, que solo obtuvieron 12, 15 y 17 alelos, respectivamente; incluso supera al número de alelos presente en los materiales comerciales (21). El índice de polimorfismo promedio de las líneas avanzadas osciló entre 0,09 y 0,28, mientras que las comerciales obtuvieron un valor de 0,33; sin embargo los padres seleccionados alcanzaron un valor mayor de 0,44, superado solo por las variedades locales.

El bajo valor obtenido en las líneas de la UCV denotan la poca diversidad entre ellas, sin embargo era de esperarse porque todas provienen del cruce entre una línea del CIAT y un cultivar local del estado Lara. La poca diversidad en los materiales comerciales

posiblemente se deba a que en el proceso de mejora solo se fijan los alelos de interés (León, 2015).

Cuadro 35. Riqueza alélica, promedio de alelos/locus y contenido de información polimórfica (PIC) con el uso de 10 marcadores microsatélites en los diferentes tipos de cultivares de la población original de 102 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y de los seleccionados como parentales.

SSR	Riqueza alélica	Cultivares locales	Variedades comerciales	Semi-domesticados	Líneas UCV	Líneas INIA	Líneas CIAT	PADRES
BM 139	N° alelos	4	3	alelos	1	2	1	2
	PIC	0,46	0,5	nulos	0	0,38	0	0,5
BM 140	N° alelos	3	1	3	1	1	1	2
	PIC	0,38	0	0,41	0	0	0	0,22
BM 143	N° alelos	5	2	2	1	alelos	3	3
	PIC	0,7	0,38	0,44	0	nulos*	0,63	0,63
BM 155	N° alelos	2	2	2	1	1	1	2
	PIC	0,44	0,28	0,3	0	0	0	0,3
BM 160	N° alelos	5	3	2	1	1	1	2
	PIC	0,4	0,5	0,22	0	0	0	0,22
BM 156	N° alelos	4	3	3	2	2	3	4
	PIC	0,65	0,59	0,66	0,38	0,32	0,96	0,75
BM 164	N° alelos	4	1	1	1	2	1	3
	PIC	0,44	0	0	0	0,5	0	0,59
BM 197	N° alelos	2	2	2	1	1	2	2
	PIC	0,49	0,32	0,22	0	0,28	0,32	0,38
BM 202	N° alelos	3	2	2	1	3	2	3
	PIC	0,58	0,28	0,5	0	0,57	0,41	0,56
AG 1	N° alelos	3	2	2	2	2	2	2
	PIC	0,57	0,47	0,41	0,5	0,44	0,18	0,22
Total alelos/10 loci		35	21	19	12	15	17	25
Promedio alelos/locus		3,5	2,1	2,1	1,2	1,7	1,7	2,5
Rango alelos/10 loci		2-5	1-3	1-3	1-2	1-3	1-3	2-4
Promedio PIC/locus		0,51	0,33	0,35	0,09	0,28	0,25	0,44

\*: Se consideraron como alelos nulos aquellos que no amplificaron después de repetir el procedimiento dos veces, siguiendo lo señalado por Blair *et al.*, 2007.

De acuerdo con lo antes señalado, el aumento en la variabilidad ganada de los padres seleccionados, en relación a las líneas avanzadas y los materiales comerciales usados en Venezuela, indica que la población en formación obtenida presentó una ampliación en la base genética, disponible para continuar con un programa de mejoramiento genético del cultivo de la caraota.

### **5.3. Verificación del estado heterocigota de las plantas F<sub>1</sub>**

Al comparar la matriz de genotipado entre las ocho accesiones seleccionadas como progenitores, inicialmente se identificaron aquellos SSR que resultaron ser polimórficos para cada par de parentales utilizados en el diseño de cruzamientos simples durante el primer ciclo de cruzamiento. Como resultado, los 10 microsatélites utilizados presentaron polimorfismo, ya sea para uno, dos y hasta para los cuatro cruces involucrados (Cuadro 36). En el caso de aquellos que fueron polimórficos para el diseño de un simple cruce, tenemos los SSR BM 140 y AG-1 para los padres P<sub>3</sub> y P<sub>4</sub>; asimismo, los SSR BM 143 y BM 202 para los parentales P<sub>5</sub> y P<sub>6</sub>; y, tanto el BM 155 como el BM 160 fue polimórfico para P<sub>1</sub> y P<sub>2</sub>. Otros microsatélites lograron discriminar por su patrón de bandas a dos cruces, el BM 164 y BM 197 a los padres P<sub>1</sub> y P<sub>2</sub>, así como P<sub>7</sub> y P<sub>8</sub>; de igual modo el BM 142 para los parentales P<sub>5</sub> y P<sub>6</sub>, y P<sub>7</sub> y P<sub>8</sub>. Por otra parte, se destaca el SSR BM 156 que logró ser polimórfico para todos los pares de padres utilizados. Por tanto, la combinación de varios SSR o el uso exclusivo de BM 156 podrían ser utilizados por presentar loci polimórfico entre los progenitores.

Cabe mencionar que en algunos casos los padres P<sub>4</sub>, P<sub>6</sub> y P<sub>7</sub> presentaron SSR con fragmentos heterogéneos. De acuerdo con Pérez, M (2008) en estos casos se infiere que la colecta realizada en estas variedades locales mostró cierto grado de mezcla de semillas por parte de los productores o que hubo introgresiones de genes, producto de cruzamientos espontáneos con otras accesiones o especies silvestres. Algunas investigaciones han demostrado que es posible encontrar accesiones producto de la introgresión de genes en zonas de colecta, donde algunas accesiones presentaban introgresiones de genes entre los dos acervos genéticos Andino y Mesoamericano (Maciel *et al.*, 2003).

Para verificar el estado heterocigota de las plantas F<sub>1</sub> en el primer ciclo de cruzamiento, se seleccionó el SSR BM 142 por discriminar por su patrón de bandas por lo menos a dos

cruces, y BM 156 por su poder discriminatorio para todos los cruzamientos. Esto permitió comprobar que los cruces realizados fueron efectivos al obtenerse una combinación de alelos entre los padres.

Cuadro 36. Microsatélites polimórficos en cada cruce de parentales con el uso de ocho accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) seleccionadas en un diseño de cruzamiento multiparental.

Cruces	SSR polimórficos	
P <sub>1</sub> x P <sub>2</sub>	BM 155	BM 164
	BM 156	BM 197
	BM 160	BM 139
P <sub>3</sub> x P <sub>4</sub>	BM 140	BM 155*
	BM 156	BM 164*
	AG-1	
P <sub>5</sub> x P <sub>6</sub>	BM 142	BM 164*
	BM 143	BM 202
	BM 156	
P <sub>7</sub> x P <sub>8</sub>	BM 139	BM 164
	BM 142	BM 197
	BM 156*	

\*heterogéneo para uno de los padres

#### 5.4. Diversidad de Genotipos

El Cuadro 37 muestra el genotipo observado de los padres para los marcadores microsatélites polimórficos BM 142 y BM 156, así como la frecuencia esperada, observada e índice de endocría ( $F_{IS}$ ). El valor de  $F_{IS}$  puede estar entre -1 y +1. Si se presenta un alto número de heterocigotas, el valor de  $F_{IS}$  sería menor de cero ( $F_{IS} < 0$ ), mientras que si el número de heterocigotas es deficiente, entonces el valor de  $F_{IS}$  sería superior a cero ( $F_{IS} > 0$ ) (Ramis *et al.*, 2005).

Por tanto, para evidenciar un aumento en la base genética de la población diseñada en esa fase de cruzamiento, se esperaría que los valores del índice de endocría sean negativos. En este sentido, el marcador SSR 142 presentó valores de  $F_{IS} = -1$  para el cruce tetraparental P<sub>1</sub>P<sub>2</sub>P<sub>3</sub>P<sub>4</sub> y de -0,70 para P<sub>5</sub>P<sub>6</sub>P<sub>7</sub>P<sub>8</sub>, lo que indica una diversidad muy alta. En el caso del marcador BM 156, también se observaron valores de índice de endocría negativos, de -0,32 y -0,26, respectivamente. Dado que los valores de heterocigocidad observados superaron los esperados, se evidencia alta presencia de heterocigotas en las poblaciones formadas.

Adicionalmente, con el marcador BM 156 se observó que el padre P<sub>7</sub> presentó un fragmento heterogéneo, por lo que al cruzarse con el parental P<sub>8</sub> se esperaban dos tipos de heterocigotas en proporción 1/2:1/2. Sin embargo, al realizar el cruzamiento tetraparental P<sub>5</sub>P<sub>6</sub> P<sub>7</sub>P<sub>8</sub> solo se usó la planta cuyo genotipo fue F<sub>1</sub>F<sub>4</sub>; por ello, para dicho cruzamiento se esperaban cuatro genotipos en proporción de 1/4 cada uno (Cuadro 37). Esto destaca la importancia de usar la herramienta molecular para verificar el estado heterocigota esperado según los progenitores específicos y seleccionar las plantas que cumplieran dicho requisito para los cruzamientos tetraparentales.

Cuadro 37. Frecuencia genotípica observada, esperada e índice de endocria para el marcador polimórfico SSR BM 142 y BM 156 en la formación de dos poblaciones tetraparentales de amplia base genética en caraota (*Phaseolus vulgaris* L.).

SSR	Padres	Genotipo observado	1 <sup>er</sup> ciclo de cruzamiento		2 <sup>do</sup> ciclo de cruzamiento		H <sub>O</sub>	H <sub>E</sub>	F <sub>IS</sub>	
			Frecuencia genotípica esperada	Frecuencia genotípica observada	Frecuencia genotípica esperada	Frecuencia genotípica observada				
BM 142	P <sub>1</sub>	C <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	1 C <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	1 C <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	1 C <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	1 C <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	1	0,5	-1	
	P <sub>2</sub>	C <sub>2</sub> C <sub>2</sub>								
	P <sub>3</sub>	C <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	1 C <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	1 C <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	1/4 C <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	1/6 C <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	0,83	0,49	-0,70	
	P <sub>4</sub>	C <sub>1</sub> C <sub>1</sub>								
	alelos C <sub>1</sub> , C <sub>2</sub> , C <sub>3</sub>	P <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	1 C <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	1 C <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	1/4 C <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	5/6 C <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	0,83	0,49	-0,70
		P <sub>6</sub>	C <sub>3</sub> C <sub>3</sub>							
		P <sub>7</sub>	C <sub>3</sub> C <sub>3</sub>	1 C <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	1 C <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	1/4 C <sub>3</sub> C <sub>3</sub>	5/6 C <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	0,83	0,49	-0,70
		P <sub>8</sub>	C <sub>2</sub> C <sub>2</sub>							
BM 156	P <sub>1</sub>	F <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	1 F <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	1/2 F <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	1/4 F <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	1/6 F <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	0,66	0,5	-0,32	
	P <sub>2</sub>	F <sub>3</sub> F <sub>3</sub>								
	P <sub>3</sub>	F <sub>3</sub> F <sub>3</sub>	1 F <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	1 F <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	1/4 F <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	4/6 F <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	0,83	0,66	-0,26	
	P <sub>4</sub>	F <sub>2</sub> F <sub>2</sub>								
	alelos F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> , F <sub>3</sub> , F <sub>4</sub>	P <sub>5</sub>	F <sub>4</sub> F <sub>4</sub>	1 F <sub>3</sub> F <sub>4</sub>	5/22 F <sub>3</sub> F <sub>3</sub>	1/4 F <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	1/6 F <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	0,83	0,66	-0,26
		P <sub>6</sub>	F <sub>3</sub> F <sub>3</sub>							
		P <sub>7</sub> *	F <sub>3</sub> F <sub>4</sub>	1/2 F <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	1/4 F <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	1/4 F <sub>3</sub> F <sub>4</sub>	3/6 F <sub>3</sub> F <sub>4</sub>	0,83	0,66	-0,26
		P <sub>8</sub>	F <sub>1</sub> F <sub>1</sub>							

H<sub>O</sub>: Heterocigocidad observada, H<sub>E</sub>: heterocigocidad esperada, F<sub>IS</sub>: Coeficiente de endocria = (He - Ho) / He

\*: Heterogéneo; #: usado para la obtención del cruce tetraparental

### 5.5. Recombinantes

Además de la presencia de variabilidad en las poblaciones formadas, otro aspecto importante a tomar en cuenta es la presencia de distintas combinaciones alélicas para la formación de nuevos genotipos, no presentes en la población original. Al comparar los recombinantes formados en el primer y segundo ciclo de cruzamiento con el uso de solo tres microsatélites, se identifican 8 y 46 nuevos genotipos mediante la recombinación de dos y cuatro parentales, respectivamente (Cuadro 38). Las combinaciones nuevas corresponderían a plantas que presentaron combinaciones únicas, lo que corrobora la amplia variabilidad genética obtenida.

Cuadro 38. Nuevas recombinaciones genotípicas durante el primer y segundo ciclo de cruzamiento con el uso de tres marcadores microsatélites polimórficos en la formación de dos poblaciones tetraparentales de amplia base genética en caraota (*Phaseolus vulgaris* L.).

Parentales	SSR			Genotipo parentales	1er ciclo F1 recombinantes 2 parentales	2do ciclo F1 recombinantes 4 parentales			
	BM 139	BM 142 alelos	BM 156						
P <sub>1</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub>	C <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	F <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub> C <sub>2</sub> C <sub>2</sub> F <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>2</sub> F <sub>2</sub> F <sub>3</sub>				
P <sub>2</sub>	A <sub>4</sub> A <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	F <sub>3</sub> F <sub>3</sub>	A <sub>4</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>2</sub> F <sub>3</sub> F <sub>3</sub>		A <sub>2</sub> A <sub>2</sub> C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> F <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub> C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> F <sub>2</sub> F <sub>4</sub>		
P <sub>3</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub>	C <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	F <sub>3</sub> F <sub>3</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub> C <sub>1</sub> C <sub>1</sub> F <sub>3</sub> F <sub>3</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub> C <sub>1</sub> C <sub>1</sub> F <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub> C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> F <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub> C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> F <sub>3</sub> F <sub>4</sub>		
P <sub>4</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub>	C <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	F <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub> C <sub>1</sub> C <sub>1</sub> F <sub>2</sub> F <sub>2</sub>		A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> F <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>1</sub> C <sub>2</sub> F <sub>3</sub> F <sub>4</sub>		
Nuevas combinaciones					2	8			
Proporción						1/8			
P <sub>5</sub>	A <sub>4</sub> A <sub>4</sub>	C <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	F <sub>4</sub> F <sub>4</sub>	A <sub>4</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>2</sub> F <sub>4</sub> F <sub>4</sub>	A <sub>4</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>3</sub> F <sub>3</sub> F <sub>4</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>2</sub> F <sub>1</sub> F <sub>3</sub> <sup>#</sup>	A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>2</sub> F <sub>1</sub> F <sub>4</sub> <sup>#</sup>	A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>3</sub> F <sub>1</sub> F <sub>3</sub> <sup>#</sup>	A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>3</sub> F <sub>1</sub> F <sub>4</sub> <sup>#</sup>
P <sub>6</sub>	A <sub>4</sub> A <sub>4</sub>	C <sub>3</sub> C <sub>3</sub>	F <sub>3</sub> F <sub>3</sub>	A <sub>4</sub> A <sub>4</sub> C <sub>3</sub> C <sub>3</sub> F <sub>3</sub> F <sub>3</sub>		A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>3</sub> F <sub>3</sub> F <sub>4</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>3</sub> F <sub>3</sub> F <sub>3</sub> <sup>#</sup>	A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>3</sub> F <sub>3</sub> F <sub>4</sub> <sup>#</sup>	A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>3</sub> C <sub>3</sub> F <sub>3</sub> F <sub>3</sub> <sup>#</sup>
P <sub>7</sub> *	A <sub>4</sub> A <sub>4</sub>	C <sub>3</sub> C <sub>3</sub>	F <sub>3</sub> F <sub>4</sub>	A <sub>4</sub> A <sub>4</sub> C <sub>3</sub> C <sub>3</sub> F <sub>3</sub> F <sub>4</sub>	½ A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>3</sub> F <sub>1</sub> F <sub>3</sub>	A <sub>4</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>3</sub> F <sub>3</sub> F <sub>4</sub>	A <sub>4</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>3</sub> F <sub>3</sub> F <sub>4</sub> <sup>#</sup>	A <sub>4</sub> A <sub>4</sub> C <sub>3</sub> C <sub>3</sub> F <sub>3</sub> F <sub>3</sub> <sup>#</sup>	A <sub>4</sub> A <sub>4</sub> C <sub>3</sub> C <sub>3</sub> F <sub>3</sub> F <sub>4</sub> <sup>#</sup>
P <sub>8</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub>	C <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	F <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>2</sub> C <sub>2</sub> C <sub>2</sub> F <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	½ A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>3</sub> F <sub>1</sub> F <sub>4</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>3</sub> F <sub>3</sub> F <sub>3</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>3</sub> F <sub>3</sub> F <sub>4</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>3</sub> F <sub>3</sub> F <sub>3</sub>	A <sub>2</sub> A <sub>4</sub> C <sub>2</sub> C <sub>3</sub> F <sub>3</sub> F <sub>4</sub>
Nuevas combinaciones					3	46			
Proporción						1/64 cada una, excepto <sup>#</sup> : 2/64			

Uno de los objetivos de un programa de premejora es la formación de nuevas combinaciones alélicas. A manera de ejercicio académico, para los parentales el genotipo  $A_4A_4$  aparece combinado con el genotipo  $C_2C_2$  o  $C_3C_3$ , no aparece con  $C_1C_1$ , esta nueva combinación aparece en el 2<sup>do</sup> ciclo de cruzamiento. Las líneas que deriven de esas poblaciones podrán presentar esas nuevas combinaciones alélicas. De la misma manera si quisiéramos una combinación de los alelos  $C_1$  con  $F_4$ , habría que realizar un tercer ciclo de cruzamiento.

Sobre la base de los resultados obtenidos, puede observarse que las poblaciones formadas mostraron una amplia variabilidad genética al presentar nuevas combinaciones alélicas para la formación de nuevos genotipos, lográndose la conformación de dos poblaciones básicas formadas con cuatro parentales cada una, a partir de la cual podrá continuar realizándose cruzamientos hasta formar una población octoparental de mayor variabilidad, y continuar el programa de mejoramiento genético en el cultivo de caraota.

## CONCLUSIONES

El presente trabajo aporta una metodología de integración de distintos procedimientos y criterios para la conformación de poblaciones básicas para un programa de mejoramiento genético que pudiera utilizarse en nuevos programas de premejora.

Las variedades locales y semidomesticadas presentaron mayor diversidad en sus características morfológicas cualitativas para características de planta, flores y semillas, con presencia de caracteres segregantes para las variables hábito de crecimiento, perfil de vaina e intensidad de brillo en la semilla, lo que parece reflejar mezcla de semillas por parte de los productores. Los altos valores de índice de Nei en las variedades locales también reflejan alto número de categorías por variable y mayor uniformidad de la frecuencia de esas categorías, lo que adicionalmente demuestra la gran diversidad genética presente en estos cultivares.

La alta variación de la distancia euclideana en la formación de grupos denota que existe amplia variabilidad por parámetros cuantitativos, de los cuales los caracteres peso y tamaño de semillas presentaron la mayor contribución en la cuantificación de la variabilidad morfológica.

La distribución de los tipos de cultivares en gráfico bi-plot producto del análisis de componentes principales indicó gran diversidad en tamaño y peso de semilla, días a emergencia, días a floración y número de vainas por planta para las variedades locales, probablemente favorecida por el intercambio de semillas en los mercados regionales. La presencia de semidomesticadas en los cuadrantes inferiores demostró que presentaron menor peso de semillas y longitud de vainas, con diferencias en tamaño que se atribuyeron a su centro de domesticación. Por su parte, las líneas avanzadas presentaron mayores valores en sus componentes de rendimiento en comparación con las comerciales, denotando que los programas de mejoramiento incluyen estos factores en sus procesos de selección.

Se seleccionaron dos variedades locales para ser utilizados como parentales. La I-2261 por presentar el mejor comportamiento agronómico en cuanto a peso de semillas, longitud de vainas, número de vainas por planta y número de semillas por vaina; también la I-2239 por presentar mayor diversidad en sus caracteres morfológicos cualitativos, con hábito de crecimiento I, flores blancas y semillas de color blanco con intensidad de brillo intermedio. Asimismo, las líneas avanzadas UCV 56 (UCV) y Gen 12 (INIA) presentaron los mayores valores de tamaño y peso de semillas, respectivamente.

El momento de máxima intensidad de la enfermedad causada por *Xanthomonas phaseoli* fue a los 20 dds. La variación en cuanto al comportamiento de las accesiones ante el patógeno según área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y promedio permitió establecer diferencias en la resistencia, destacándose las variedades locales I-2139 e I-2598, y la línea avanzada UCV-56, las cuales fueron seleccionadas como progenitores.

Ningún genotipo mostró resistencia a *Macrophomina Phaseolina*; sin embargo, el uso del índice Longitud Hoja/Longitud Mancha fue útil para la discriminación de accesiones por su reacción ante *Macrophomina phaseolina* logrando seleccionar como progenitores por su aporte de alelos favorables a las variedades locales I-2240 e I-2583 y la línea avanzada Gen 12.

El estudio de diversidad con el uso de diez marcadores microsatélites a través del análisis de conglomerados dio una clara indicación de la estrechez genética presente en los cultivares comerciales de caraota utilizados. Asimismo, la presencia de variedades locales en todos los grupos conformados demuestra su potencial como fuente de diversidad y la presencia de semidomesticadas en grupos distantes manifiesta una gran diversidad entre ellas. Esto permitió identificar las accesiones seleccionadas por su respuesta ante *Macrophomina phaseolina* y *Xanthomonas phaseoli*, en combinación con los estudios morfológicos, para el diseño de cruzamientos según su distancia genética.

La selección de las ocho accesiones como parentales demostraron tener un buen efecto sobre la diversidad genética, en comparación con los materiales comerciales y líneas avanzadas, al presentar mayor número de alelos, alelos/locus, rango y mayor índice de

polimorfismo, lo que indica que la población en formación es adecuada para la ampliación de la base genética del cultivo.

Los valores de frecuencia esperada, frecuencia observada e índice de endocría en el segundo ciclo de cruzamiento evidenciaron una diversidad muy alta con un aumento en la base genética de la población diseñada por la alta presencia de heterocigotas.

Se logró la conformación de dos poblaciones básicas formadas con cuatro parentales que mostraron una amplia variabilidad genética al presentar nuevas combinaciones alélicas con la formación de nuevos genotipos.

## RECOMENDACIONES

En el banco de germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA – CENIAP), se resguarda una colección de 1200 materiales locales de caraota para la fecha, de esas se han caracterizado y valorado (evaluación por características de interés agronómico y útiles para el mejoramiento genético) un bajo porcentaje, alrededor del 15%. Se recomienda darle continuidad a la caracterización adecuada del germoplasma conservado para identificar en ellos características de interés.

Para la caracterización morfológica de germoplasma de caraota se recomienda tomar en cuenta las variables cuantitativas relacionadas con estructuras reproductivas, a saber: tamaño y peso de semilla, días a emergencia, días a floración y número de vainas por planta, ya que al presentar mayor diversidad son importantes y discriminatorias. Y no hacer el esfuerzo de tomar en cuenta variables que no diferencian materiales por su baja diversidad. Esto permitirá avanzar en la proporción de las introducciones que se logran caracterizar.

Ningún genotipo mostró resistencia a *Macrophomina Phaseolina*, así que se recomienda continuar en la búsqueda de identificación de germoplasma con resistencia a este hongo.

La conformación de dos poblaciones básicas formadas con cuatro parentales mostraron una amplia variabilidad genética al presentar nuevas combinaciones alélicas, por tanto, se recomienda que sirvan de base en un programa de mejoramiento en el cultivo de caraota para la obtención de nuevos y superiores genotipos en cuanto a su comportamiento agronómico.

Hay criterios no considerados en este trabajo que son de importancia, entre ellos tolerancia al déficit hídrico, arquitectura que favorezca la mecanización de la cosecha y calidad nutricional. Nuevos objetivos exigen nuevas evaluaciones, por lo que se recomienda la conformación constante de nuevas poblaciones básicas genéticamente variables.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, J; L. Kelly; P. Gepts. 2007. Prebreeding in Common Bean and Use of Genetic Diversity from Wild Germplasm. *Crop Science* 47(3): 44–59
- Allgholipour, M; E. Farshdfar; B. Rabiei. 2014. Molecular characterization and genetic diversity analysis of different rice cultivars by microsatellite markers. *Genetika* 46 (1): 187-198
- Angola, C.; J.G. Hernández. 2010. Evaluación Agronómica de líneas promisorias de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en un enfoque de mejoramiento genético participativo. Trabajo de grado. Maracay, Venezuela, Universidad Central de Venezuela. 70 p.
- Arunga, E.; M. Kinyua; J. Ochuodho; J. Owuoch; E. Chepkoech. 2015. Genetic diversity of determinate French beans grown in Kenya based on morpho-agronomic and simple sequence repeat variation. *Journal of Plant Breeding and Crop Science* 7 (8): 240-250
- Bañuelos, J.; N. Mayek. 2008. Evaluación no destructiva de la patogenicidad de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 26 (1): 71-75
- Blair, M.; M. Giraldo; H. Buendía; E. Tovar; M. Duque; S. Beebe. 2006. Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical Applied Genetics* 113: 100-109.
- Blair, M.; M; J. Díaz; M. Duque; R. Hidalgo. 2007. Evidencia molecular de diferenciación genética e introgresión entre razas de frijol común del acervo andino. *Acta Agronómica* 56 (4): 165-170.
- Campbell, L.; L. Madden. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. United States of America. John Wiley. New York. 532 pp.
- Castañeda, R. 2010. Evaluación molecular de la resistencia a la bacteriosis común (*Xanthomonas phaseoli*) y del rendimiento en familias F<sub>2:4</sub> de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis Maestría. Maracay, Venezuela, Universidad Central de Venezuela. 84 p.
- Castillo, M.; P, Ramírez; F. Castillo; S, Miranda. 2006. Diversidad morfológica de poblaciones nativas de frijol común y frijol ayocote del oriente del estado de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29 (2): 111-119.

- Cerón, M.; G. Ligarreto; J. Moreno; O. Martínez. 2001. Selección de variables cuantitativas y clasificación de 22 accesiones de frijól arbustivo (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista Corpoica 3 (2):31-38.
- CIAT (Centro Internacional de Agronomía Tropical, Colombia). 1979. Annual Report. CIAT, Cali, Colombia.
- CIAT (Centro Internacional de Agronomía Tropical, Colombia). 1982. Cruzamiento del frijol; guía de estudio para ser usada como complemento de la Unidad Audiotutorial sobre el mismo tema. Contenido Científico: Steven Temple; Producción: Ricardo Campos, Carlos A. Flor, Héctor F. Ospina. 2da Edición. Cali, Colombia. CIAT 36 p. (Serie 04SB-08.02).
- CIAT (Centro Internacional de Agronomía Tropical, Colombia). 2016. CIAT: Programa de Recursos Genéticos. Colección de frijól (en línea, sitio web). Consultado 23 julio 2014. Disponible en <http://www.isa.ciat.cgiar.org/beancollection>
- Contreras, N.; G. Trujillo; O. Borges; F. Centeno. 2001. Análisis ultraestructural de la interacción de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* con genotipos resistentes, moderadamente resistentes y susceptibles de *Phaseolus vulgaris* L. Interciencia 26 (11): 554-557.
- Dice, L. 1945. Measure of the amount of ecologic association between species. Ecology 26: 297-302.
- Di Rienzo, J.; F. Casanoves; M. Balzarini; L. Gonzalez; M. Tablada; C. Robledo. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA (en línea, programa informático). Córdoba, Argentina, Universidad de Córdoba. Consultado 08 feb. 2016. Disponible en <http://www.infostat.com.ar>.
- FAO. 1996. Report on the State of the World's Plant Genetic Resources for Food and Agriculture, prepared for the International Technical Conference on Plant Genetic Resources. Leipzig, Germany, 1996 17-23 Junio 1996, Rome. ([www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/AGRICULT/AGP/agps/pRFA/pdf/swrshr\\_e.pdf](http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/AGRICULT/AGP/agps/pRFA/pdf/swrshr_e.pdf))
- FEDEAGRO (Confederación de Asociaciones de Productores Agropecuarios, Venezuela). 2016. Estadísticas Agropecuarias (en línea, sitio web). Consultado 2 de jul. 2016. Disponible en <http://www.fedeagro.org/>.
- Gaitan, E.; M. Duque; K. Edwards; J. Tohme. 2002. Microsatellite repeats in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): isolation, characterization and cross-species amplification in *Phaseolus spp.* Crop Science 42: 2128-2136.

- Gepts, P. 2004. Crop Domestication as a Long-term Selection Experiment. *Plant Breeding Reviews* 24 (2): 1-44.
- GIPB (Global Partnership Initiative for Plant Breeding Capacity Building, Roma, Italia). Seguridad alimentaria: conservación, uso y entrega de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura (en línea, sitio web). Consultado 01 oct. 2010. Disponible en <http://km.fao.org/gipb>.
- González, G. 2006. Caracterización morfológica de accesiones locales de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) colectadas en diversas regiones del país. Trabajo de grado Ingeniero Agrónomo. Maracay. Venezuela. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. 68p.
- González, M. 2006. Guía práctica para el reconocimiento y control de las principales enfermedades de los cultivos caraota y frijol. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Publicación especial No 10. Barquisimeto. 44 p
- González, G; D. Pérez; A. Trujillo; M. Gutiérrez. 2007. Caracterización morfológica de 86 accesiones de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) pertenecientes al banco de germoplasma del INIA-CENIAP. XVII Con. Ven. Bot. 471-474
- González, R., J. Pineda; Y. Graterol; 2007. Cuantificación de inóculo en el suelo e incidencia de *Macrophomina phaseolina* sobre híbridos de sorgo en tres localidades de los Llanos Centrooccidentales de Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía* 24 (4): 627-641.
- González, L. 2008. Evaluación de la diversidad genética en una colección de germoplasma de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) de Ruanda (Africa). Trabajo de grado para optar al título de Bióloga. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 115p.
- Gutiérrez, M; C. Quiroz; D. Pérez; D. Rodríguez; T. Pérez; A. Márquez; W. Pacheco. 2004. Conservación *in situ* de diversas especies vegetales en conucos (home gardens) de los estados Carabobo y Trujillo de Venezuela. *Plant Genetic Resources News* (137): 1-8.
- Gutiérrez, M; D. Pérez; A. Marques; V. Segovia; C. Marín. 2006. Prospección y recolección de materiales nativos del género *Phaseolus* en la zona nororiental y andina de Venezuela. *Plant Genetic Resources Newsletter* 140:32-41.
- Gutiérrez, M. 2008a. Segundo Informe Nacional sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos para la Agricultura y la Alimentación, Venezuela. MPPAT-INIA, FAO. 171 p.

- Gutiérrez, M. 2008b. Visión Global de los Recursos Genéticos. Notas elaboradas como material de estudio para el Curso Internacional de Premejoramiento Genético de Plantas: Manejo Eficaz de los Recursos Fitogenéticos para la Agricultura del Mañana. Maracay, Venezuela, 20 al 31 de Octubre de 2008. pp 1-11. 1 disco compacto.
- Gutiérrez, M; C. Rincón. 2011. Caracterización de la variabilidad genética mediante el uso de marcadores RAPDs, de un grupo de genotipos nativos y comerciales de caraota en Venezuela. *Agronomía tropical* 61 (1): 73-83.
- Hames, B.; D. Rickwood. 1981. Gel electrophoresis of proteins: a practical approach. IRL Press, Oxford. England. 91p
- Hammer, Ø.; D. Harper; P. Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Version 2.01 (en línea, programa informático). University of Oslo, Oslo, Norway. Consultado 04 ene. 2016. Disponible en <http://folk.uio.no/ohammer/past>
- Hausmann, B.; H. Parzies. 2009. Methodologies for generating variability. Part 1: Use of genetic resources in plant breeding. En: Plant breeding and farmer participation. S. Ceccarelli, E. P. Guimarães y E. Weltzien (eds). Food and Agriculture of the United Nations. Roma, Italia. p. 107- 138.
- Hidalgo, R. 2003. Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales. En: Franco, T. e Hidalgo, R. (eds). Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Boletín Técnico N° 8. Instituto Internacional de Recursos fitogenéticos (IPGRI). Cali, Colombia. 89p.
- IPGRI. 2001. Descriptores para *Phaseolus vulgaris*. International Board of Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 45 p.
- Kami, J; V. Becerra; D. Debouck; P. Gepts. 1995. Identification of presumed ancestral DNA sequences of phaseolin in *Phaseolus vulgaris*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 1101-1104.
- Kelly, J; J. Kolkman; K. Schneider. 1998. Breeding for yield in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica* 102: 343–356.
- Lagarde, P; A. Medina; C. Ramis y A. Maselli. 2010. Evaluación de la resistencia a la bacteriosis común causada por *Xanthomonas phaseoli* en plantas F3 de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Fitopatología Venezolana* 23 (2): 35-39.

- Laurentin, H. 2008. Manejo de especies en poblaciones predominantemente autógamias. Notas elaboradas como material de estudio para el Curso Internacional de Premejoramiento Genético de Plantas: Manejo Eficaz de los Recursos Fitogenéticos para la Agricultura del Mañana. Maracay, Venezuela, 20 al 31 de Octubre de 2008. p. 135-139. 1 disco compacto.
- León, J. 2000. Botánica de los cultivos tropicales. 3ª ed. rev. y aum. IICA n° 84. San José, Costa Rica. 522p.
- León, O. 2015. Evaluación de cultivares locales y mejorados de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) mediante la integración de técnicas de mejoramiento genético convencional y participativo y análisis molecular. Tesis Doctor. Maracay, Venezuela, Universidad Central de Venezuela. 204p
- León, O.; D. Mark; R. De La Cruz; A. Marcano; M. Navas. 2007 Caracterización morfológica de cultivar local de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en la localidad de Ipure, municipio Acosta, estado Monagas, Venezuela. XVII Con. Ven. Bot. 465-467
- López, R. 2003. Caracterización de patógenos implicados en la bacteriosis de la judía grano (*Phaseolis vulgaris* L.) en Castilla y León, puesta a punto de un método de inoculación y búsqueda de fuentes de resistencia en variedades locales. Tesis Doctor. Palencia, España, Universidad de Valladolid. 124p.
- Maciel F.; S. Echeverrigarry; L. Gerald; F. Grazziotin. 2003. Genetic relationship and diversity among Brazilian cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) revealed by AFLP markers. Genet Resourc. Crop. Evol. 50:887-893.
- Madríz, P.; D. Jáuregui; R. Warnock. 2008. Aborción de óvulos y semillas de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y caracterización de anomalías morfoanatómicas, en dos cultivares en dos localidades de Venezuela. Interciencia 33 (12): 910-915.
- Mark, P.; O. Mora. 2002. Búsqueda de genotipos de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) con resistencia al Quail pea mosaic virus. Revista de la Facultad de Agronomía 19 (3): 201-209.
- Mayek, N.; C. López; J. Acosta. 2002. Reacción de germoplasma de *Phaseolus sp.* a *Macrophomina phaseolina*. 2002. Rev. Fitotec. Mex. 25 (1): 35-42
- Mayek, N.; E. López; G. Cumpiá; J. Acosta. 2009. Herencia de la Resistencia de Campo a *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. En Líneas Endogámicas Recombinantes de Frijol Común (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 27 (1): 1-10.

- Mc Clean, P.; J. Kami; P. Gepts. 2004. Genomics and Genetic Diversity in Common Bean. En: Legume Crop Genomics. Chapter 4. Editores: Richard F. Wilson, H. Thomas Stalker and E. Charles Brummer. AOCS Press. Illinois, USA. 60-82p
- Medina, A.; C. Ramis; D. Pérez, P. Lagarde; Y. de Farías. 2013. Caracterización de variabilidad genética en acervos primarios de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), útiles para programas de premejoramiento genético. Rev. Fac. Agron. (UCV) 39(1): 20-29.
- Miranda, S.; J. Rosas; L. Aranda; R. Ortiz; M. Ponce; H. Ríos. 2006. Análisis molecular de la diversidad genética de Frijol común manejada por campesinos en cuba. Agronomía Mesoamericana 17(3): 369-382.
- Moreno, M. 2016. Comparación de dos metodologías para la evaluación de genotipos de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Macrophomina phaseolina*. Informe Problema Especial. Ramis, C. (tutora). Maracay, Venezuela. Postgrado en Agronomía, UCV. 14p
- Morros, M. 2001. Cultivo de la caraota con énfasis en el estado Lara. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Serie D, N° 2. Maracay. 74 p.
- Morros, M. 2006. Producción artesanal de semilla de caraota. INIA. Publicación Especial N° 7. Barquisimeto. 24p
- Movil, O.; A. Maselli; C. Ramis; D. Pérez; M. Pérez; A. Medina; M. Gutiérrez; M. Maselli. 2005. Desarrollo de la sintomatología de la bacteriosis común de la caraota e diferentes genotipos de *Phaseolus vulgaris* L (póster). In Congreso Venezolano de Mejoramiento Genético y Biotecnología Agrícola (2, 2005, Caracas, Venezuela).
- Murray, M.; W. Thompson 1980. Rapid isolation of high molecular weight DNA. Nucleic Acids Res. 8: 4321-4325
- Nass, L.; E. Paterniani. 2000. Pre-breeding: a link between genetic resources and maize breeding. Scientia Agricola 57(3): 581-587.
- Pathania, A.; K. Surinder; P. Sharma. 2014. Common Bean. En: Mohar Singh, Ishwari Singh Manoranjan Dutta (eds). Broadening the genetic base of grain legumes. Springer. New Delhi, India. P 11-50
- Pérez, D. 2008. Conservación de la diversidad genética vegetal en bancos de germoplasma. Notas elaboradas como material de estudio para el Curso Internacional de Premejoramiento Genético de Plantas: Manejo Eficaz de los Recursos Fitogenéticos para la Agricultura del Mañana. Maracay, Venezuela, 20 al 31 de Octubre de 2008. pp 12-18. 1 disco compacto.

- Pérez, M. 2008. Caracterización del acervo genético de caraota común (*Phaseolus vulgaris* L.) a través de marcadores bioquímicos y moleculares. Tesis Maestría. Maracay, Venezuela, Universidad Central de Venezuela. 79p
- Pérez, D.; N. Camacaro; M. E. Morros; A. Higuera. 2013. Leguminosas de grano comestible en Venezuela. Agricultura en Venezuela N° 1. José Luis Berroterán (Editor). Ediciones ONCTI, Caracas (Venezuela). 157 p.
- Polanía, J.; I. Rao; S. Mejía; S. Beebe; C. Cajiao. 2012. Características morfo-fisiológicas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) relacionados con la adaptación a sequía. Acta Agronómica 61 (3): 197-206.
- Ramis, C; A. Carvalho; E. Gimarões; A. Díaz; C. Gamboa. 2005. Molecular markers as tools for rice population improvement. En: Population improvement: A way of exploiting the rice genetic resources of Latin America. Edited by Elcio Perpetuo Guimarães. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome., Italy. 109 p.
- Ramis, C. 2008. Creación de variabilidad genética. Notas elaboradas como material de estudio para el Curso Internacional de Premejoramiento Genético de Plantas: Manejo Eficaz de los Recursos Fitogenéticos para la Agricultura del Mañana. Maracay, Venezuela, 20 al 31 de Octubre de 2008. p. 25-33. 1 disco compacto.
- Rodiño, P. 2000. Caracterización morfoagronómica y bioquímica de germoplasma de judía común (*Phaseolus vulgaris* L.) de España (en línea). Tesis Doctora. Pontevedra, España, Universidad de Santiago de Compostela. Consultado 02 dic. 2015. Disponible en <http://hdl.handle.net/10261/10702>.
- Rodríguez, O.; J. Rosas. 2010. Selección de genotipos de frijol común por su resistencia al tizón bacteriano. Agronomía Mesoamericana 21(2): 275-280.
- Sevilla, R. 2008. Línea de Base del Área de Recursos Fitogenéticos y Pre-mejoramiento. En: Línea de base para la implementación de programas estratégicos. Editores: Hugo Fano Rodríguez y Marian Torres Roque. Lima, Perú. Computextos. p. 16-22. [www.bvcooperacion.pe/biblioteca/bitstream/.../BVCI0000806.pdf](http://www.bvcooperacion.pe/biblioteca/bitstream/.../BVCI0000806.pdf)
- Shapiro, S; M. Wilk. 1965. An analysis of variance test for normality. Biometrika 52 (3/4): 591-611.
- Singh, S. 2001. Review and interpretation. Broadening the genetic base of common bean cultivars: A review. Crop Science 41: 1659-1675.
- Sleper, D; J. Milton. 2006. Breeding field crops. Fifth edition. Blackwell Publishing. Oxford, England. 424 p.

- Songa, W.; R. Hillocks; A. Mwangombe; R. Buruchara; W. Ronno. 1997. Screening common bean accessions for resistance to charcoal rot (*Macrophomina phaseolina*) in eastern Kenya. *Expl Agric.* 33: 459-468.
- Trujillo, G., Y. Hernández; L. Gómez. 2005. Metodología fácil para la extracción y detección de bacterias fitopatógenas de semillas de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y frijol [*Nigna unguiculata* (L.) Walp]. *Fitopatología Venezolana* 18: 37-39.
- Vega, U. 1988. Mejoramiento genético de plantas. Editorial America C.A. Maracay, Venezuela. 200p.
- Voysest, O. 1983. Variedades de frijol en América Latina y su origen. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali. 87 p.
- Voysest, O. 2000. Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.): legado de variedades de América Latina 1930-1999. Centro Internacional de Agricultura Tropical. (Publicación CIAT, n° 321). Cali, Colombia. 195 p.
- Yu, K.; S. Pork; V. Poysa. 1999. Abundance and variation of microsatellite DNA sequences in beans (*Phaseolus* and *Vigna*). *Genome* 42: 27-34.