Bioagro 30(3): 191-200. 2018

# ESTIMACIÓN DE LA SIMILITUD GENÉTICA ENTRE CULTIVARES LOCALES Y MEJORADOS DE CARAOTA (*Phaseolus vulgaris* L.) USANDO MARCADORES MICROSATÉLITES

Oralys C. León-Brito[1], Catalina Ramis[2] y Angela Bedoya[3]

## RESUMEN

La base de los programas de fitomejoramiento son poblaciones variables creadas por el cruce entre progenitores divergentes. Los datos de similitud genética estimados a partir de marcadores moleculares pueden ser usados para seleccionar tales genotipos parentales. El objetivo del presente trabajo fue estimar la similitud genética entre cultivares locales y mejorados de caraota usando 20 marcadores microsatélites (SSR). Se evaluaron 30 genotipos: 12 cultivares locales y 18 mejorados. Se identificaron los alelos por locus, se calculó el porcentaje de frecuencias alélicas y se determinó el contenido de información polimórfica (PIC). Con el registro de la presencia (1) y ausencia (0) de bandas, se obtuvo una matriz binaria, utilizada para el análisis de similitud por el método UPGMA. Paralelamente, se realizó un análisis de coordenadas principales. De los 20 SSR utilizados 16 resultaron polimórficos, lo que permitió discriminar la similitud entre los cultivares. El PIC promedio de la población global y los diferentes tipos de cultivares evaluados presentaron poco polimorfismo genético entre los 30 cultivares, demostrando que la base genética de la caraota es estrecha. Con el análisis de similaridad se conformaron 6 grupos de cultivares, destacándose los locales I-2363 e I-2294 que integraron un solo grupo. El resto de los genotipos se organizaron en su mayoría por grupos de cultivares locales, comerciales y líneas avanzadas. La variación entre los cultivares fue similar, aunque existe una variabilidad distinta a los cultivares comerciales de uso actual que puede ser aprovechada en los programas de mejoramiento genético del cultivo.
**Palabras clave adicionales:** Diversidad genética, genotipo, marcadores moleculares

## ABSTRACT

**Genetic similarity among landraces and improved cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. using microsatellite markers**

The base of the breeding programs are variable populations created by the crossing between divergent parents. Genetic similarity data estimated from molecular markers can be used to select such parental genotypes. The objective of the present work was to estimate the genetic similarity between landraces and improved cultivars of common bean using microsatellite markers (SSR). Thirty genotypes were evaluated: 12 landrace and 18 improved. The alleles were identified by locus, the percentage of allelic frequencies was calculated and polymorphic information content (PIC) was determined. With the recording of the presence (1) and absence (0) of bands, a binary matrix was obtained, used for the analysis of similarity by the UPGMA method. In parallel, a principal coordinate analysis was carried out. Of the 20 SSR used, 16 were polymorphic, which allowed to discriminate the similarity between the cultivars. The average PIC of the global population and the different types of cultivars evaluated showed little genetic polymorphism among the 30 cultivars, demonstrating that the genetic base of the common bean is narrow. The analysis of similarity allowed the conformation of 6 groups of cultivars, standing out the premises I-2363 and I-2294 that integrated a single group. The rest of the genotypes were organized mostly by groups of landrace, commercial and advanced lines. The variation between the cultivars was similar, although there is a variability different to the commercial cultivars of current use that can be exploited in the breeding programs of the crop.
**Additional key words:** Genetic diversity, genotype, molecular markers

## INTRODUCCIÓN

La mayoría de los cultivares comerciales de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), en Venezuela, producto del mejoramiento genético convencional, provienen de la introducción de líneas avanzadas

Recibido: Diciembre 18, 2017 Aceptado: Junio 27, 2018

[1] Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Maracay, Venezuela. e-mail: oralys927@gmail.com

[2] Instituto de Genética, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Venezuela e-mail: ramis.catalina@gmail.com

[3] Dpto. de Biología, Instituto "Rafael Alberto Escobar Lara", Universidad Pedagógica Experimental Libertador. Maracay, Venezuela. e-mail: angelamaria74ve@gmail.com

de los programas de mejoramiento de otros países, especialmente del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)**,** y subsiguiente selección individual dentro de esas poblaciones (Voysest, 2000).

El avance genético en el mejoramiento de la caraota ha estado limitado debido a la reducida variabilidad genética, por la utilización de progenitores genéticamente cercanos y por el efecto de autofecundación. Por otro lado, los estudios de isoenzimas y moleculares indican que durante el proceso de domesticación de la especie sólo una porción de la diversidad genética presente en las formas silvestres fue domesticada y que pocas plantas dentro de aquellas poblaciones participaron en el proceso de domesticación, lo que se conoce como efecto fundador (Gepts y Debouck, 1991). El proceso de domesticación reduce intrínsecamente la variación genética y la siembra intensiva reduce aún más la variabilidad disponible (Acosta et al., 2007).

Estas realidades explican la poca variabilidad encontrada en la especie cultivada, lo que a su vez conlleva a la vulnerabilidad del cultivo frente a efectos adversos y la necesidad de disponer de una variabilidad genética diferente.

La diversidad genética provee la posibilidad para desarrollar nuevos cultivares que puedan resistir a plagas y enfermedades, así como al estrés abiótico (Ebert et al., 2007), es decir que, la variación genética es esencial para el desarrollo de cultivares mejorados. Arnao et al. (2010) indican que la selección de los progenitores que formarán la población base, con la que se daría inicio a un programa de selección, asegura en gran medida el éxito de cualquier programa de mejoramiento genético de plantas. Por lo tanto, el conocimiento previo acerca de las relaciones genéticas entre los materiales de mejoramiento es crucial para el uso eficiente del germoplasma.

Pocos estudios se han realizado para determinar las relaciones genéticas a escalas geográficas reducidas o dentro de una misma clase comercial (Vidal et al., 2006). En los programas de mejoramiento genético de caraota es importante verificar que los nuevos cultivares a desarrollar tengan un origen distinto a los cultivares en uso, y distintos entre sí. Estas diferencias genéticas pueden ser identificadas a través de técnicas moleculares disponibles para esta especie, posibilitando una descripción más detallada de la estructura genética de las poblaciones (Miranda et al., 2006). Esto simplifica el proceso que tradicionalmente se ha usado, basado en marcadores morfológicos, los cuales son afectados por el ambiente y el estado de desarrollo de la planta.

Los marcadores moleculares representan una herramienta poderosa en la evaluación de diversidad genética y en la determinación de identidad; así como, el grado de similitud genética entre los cultivares, especialmente en variedades de base genética estrecha (Arnao et al., 2007). Los datos de similitud genética pueden ser usados por los mejoradores para seleccionar genotipos parentales, con el fin de desarrollar padres genéticamente divergentes y utilizarlos en cruzamientos, según los objetivos del programa de mejoramiento (Masuelli, 1999).

Una técnica molecular utilizada con éxito para obtener la huella genética de ADN o determinar variabilidad del género *Phaseolus* es la de microsatélites (Yu et al., 1999; Gaitán et al., 2002; Blair et al., 2006), porque requiere de poco ADN y puede automatizarse para el análisis de alto rendimiento (Miklas et al., 2006).

Los marcadores microsatélites (SSR) se basan en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con pocos requerimientos en términos de calidad y cantidad de ADN. Son co-dominantes y muy polimórficos, con gran número de alelos por locus. Son abundantes y están bien distribuidos en el genoma pudiendo llegar a representar el 80 % del ADN genómico de eucariotas (Courtois et al., 2003). Por su alto grado de polimorfismo pueden ser utilizados para diferenciar genotipos con alto grado de parentesco.

El presente estudio tuvo como objetivo estimar la similitud genética entre cultivares locales y mejorados de caraota con el uso de marcadores moleculares tipo microsatélites.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material vegetal**. Se utilizaron 30 genotipos de caraota (Cuadro 1), 12 cultivares locales y 18 mejorados, representados por 12 líneas avanzadas: 6 provenientes del programa de mejoramiento genético del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas en el Centro de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP) y otras 6 del Instituto de Genética de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (FAGRO-UCV) y 6 variedades comerciales.

**Cuadro 1.** Genotipos locales y mejorados de *P. vulgaris* utilizados en el estudio de similitud genética

| Nº | Genótipos | | Procedencia |
|---|---|---|---|
| | | Cultivares locales | |
| 1 | I-2011/DP-02-98-008 | Carabobo | Unidad de Conservación de Recursos Fitogenéticos (UCRFG) del INIA-CENIAP Maracay |
| 2 | I-2019/MGM-02-99-006 | Aragua | |
| 3 | I-2041/MEM-01-00-006 | Lara | |
| 4 | I-2148/DP-03-01-026 | Guárico | |
| 5 | I-2162/CQ-04-01-001 | Trujillo | |
| 6 | I-2208/AB-02-01-017 | Apure | |
| 7 | I-2226/MGM-08-02-001 | Sucre | |
| 8 | I-2254/MGM-08-02-056 | Sucre | |
| 9 | I-2363/MGM-10-02-097 | Mérida | |
| 10 | I-2368/MGM-10-02-102 | Mérida | |
| 11 | I-2494/DON-12-06-010 | Lara | |
| 12 | El Chino | Aragua | Banco de Germoplasma FAGRO-UCV |
| | | Líneas avanzadas | |
| 13 | Gen-3/DOR-440 x RIZ-86 (SA016F2-1-1-MS-6-3) | | Programa de Mejoramiento Genético del INIA-CENIAP, Maracay |
| 14 | Gen-10/EMP-414 x NAG-8 (SA018F2-3-4-1-3-1-2) | | |
| 15 | Gen-12/EMP-414 x NAG-8 (SA018F2-3-5-MS-MS-MS) | | |
| 16 | Gen-16/XAN-222 x DOR-470 (SA024F2-19-2-5-10-6-3-2) | | |
| 17 | Gen-18/(EMP-414 x DOR-500 (SA029F2-MS-MS-MS-MS) | | |
| 18 | Gen-19/SEL-13 | | |
| 19 | UCV- 27/XAN154 x MEM3031013F2:7 | | Programa de Mejoramiento Genético de la FAGRO-UCV, Maracay |
| 20 | UCV- 28/XAN154 x MEM3031013F2:7 | | |
| 21 | UCV- 56/XAN154 x MEM3031013F2:7 | | |
| 22 | UCV- 88/XAN154 x MEM3031013F2:7 | | |
| 23 | UCV- 96/XAN154 x MEM3031013F2:7 | | |
| 24 | UCV- 100/XAN154 x MEM3031013F2:7 | | |
| | | Variedades comerciales | |
| 25 | Magdaleno | | SEHIVECA-Privado |
| 26 | Tacarigua (Línea: Ven 44, Año: 1972)* | | Selección individual en Ven 44* |
| 27 | Corocito | | SEFLOARCA-Privado |
| 28 | Tenerife (Línea: ICA Pijao, Año: 1994)* | | Porrillo Sintético x Mex 11* |
| 29 | Montalbán (Línea: BAT 58, Año: 1988)* | | (G3664 x G4215) x (G4525 x G4485)* |
| 30 | UCV Manuare (Línea: BAT 304, Año: 1990)* | | G4495 X G5711* |

* Fuente: Voysest, 2000

**Extracción del ADN.** Tres semillas pre-germinadas de cada genotipo, sin cubierta seminal, se utilizaron para la extracción del ADN. Estas se maceraron con nitrógeno líquido en un mortero. Se extrajo el ADN con tampón CTAB (2 %) siguiendo el procedimiento estandarizado en el Laboratorio de Genética Molecular del CIBA, basado a su vez, en el trabajo de Castañeda et al. (2014). La cantidad y calidad de los ADN se verificó mediante electroforesis en geles de agarosa al 0,8 %, teñido con bromuro de etidio (0,5 $\mu g \cdot mL^{-1}$), en comparación con una concentración conocida de ADN fago Lambda de 50 y 100 $ng \cdot \mu L^{-1}$. Los geles se visualizaron en un transiluminador UV. Las muestras de ADN fueron preparadas a una concentración final de 2,5 $ng \cdot \mu L^{-1}$.

**Ampliación de los SRR**. Para los 30 genotipos de caraota se evaluaron 20 microsatélites (Cuadro 2), por haber sido citados en la literatura como exitosos en generar bandas polimórficas en el cultivo de caraota y reportados en la base de datos de SSR estudiados por Blair et al. (2006) y Gaitán et al. (2002).

Las condiciones de amplificación del ADN por la reacción de PCR utilizada fueron estandarizadas en el Laboratorio de Genética Molecular del Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA) de la Facultad de Agronomía, UCV-Maracay, estado Aragua y descritas por Castañeda et al. (2014), tanto para el medio de reacción como para el programa de PCR. De esta manera, la amplificación SSR-PCR se realizó en un volumen final de 20 µL usando 10 µL ADN (2,5 $ng \cdot \mu L^{-1}$), 4 µL Tampón (5X), 2 µL $MgCl_2$ (25 µM), 0,2 µL Primer R y F (100 µM cada uno), 0,4 µldNTP's (10 µM), 1 µL BSA (1 $mg \cdot mL^{-1}$), 0,2 µlGo-Taq (5 $U\mu \cdot L^{-1}$) y 2 µL $H_2O$.

El programa PCR se cumplió de acuerdo a los siguientes perfiles de temperatura: 94 °C por 2 min, 92 °C por 30 seg, 54-55 °C por 30 seg, 72 °C por 1 min, 34 ciclos a 92 °C por 30 seg y finalmente un ciclo a 72 °C por 5 min. Los productos de amplificación fueron separados por su talla (pb) en geles desnaturalizantes de poliacrilamida 6 % y la detección de los fragmentos fue mediante tinción con plata (Arnao et al., 2007). El tamaño de cada banda fue estimado por la utilización de un marcador de peso molecular 25 pb (Promega).

**Cuadro 2**. Marcadores moleculares tipo microsatélites (SSR) evaluados para determinar la similitud genética de 30 genotipos de *P. vulgaris*

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

Fuente: *Gaitán et al., 2002; Blair et al., 2006

**Análisis estadístico.** De acuerdo a las bandas observadas, en los geles de poliacrilamida, para cada genotipo y SSR se le asignó el (los) alelo (s) correspondiente (s) según la movilidad de la banda y se preparó una matriz de genotipado, en formato de hoja de cálculo de Microsoft Excel. Luego, la información se organizó por presencia (1) y ausencia (0) de bandas, obteniéndose de esta manera la matriz básica binaria. Las bandas monomórficas no fueron consideradas. Se

identificaron los alelos por locus, se calculó el porcentaje de frecuencias alélicas y se determinó el contenido de información polimórfica (PIC) usando la fórmula $PIC = 1 - \sum f_i^2$, donde $f_i$ es la frecuencia del alelo i calculada para cada locus (Powell et al., 1996); esta información sirvió para cuantificar la diversidad de los cultivares locales, líneas avanzadas, variedades comerciales y la población global. El estudio de similitud se efectuó aplicando los coeficientes de similitud de Dice (Nei y Li, 1979) para conformar los grupos utilizando las técnicas jerárquicas (dendrograma). El criterio de agregación usado para crear las jerarquías fue el método de promedio aritmético de grupos de pares no ponderados (UPGMA por sus siglas en inglés). Se estimó el error de muestreo mediante *bootstrapping* para cada nodo. Se realizó también el análisis de coordenadas principales. Los datos fueron procesados usando los programas PAST (Hammer et al., 2001) e InfoStat (Universidad de Córdoba, Argentina).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 20 SSR usados cuatro se comportaron como marcadores monomórficos y no permitieron discriminar entre los cultivares. Estos fueron BM140, BM155, BM160 y BM197. Este resultado difiere del obtenido por Blair et al. (2006) quienes en un estudio de la diversidad de *P. vulgaris*, utilizando 44 genotipos de semillas de diferentes colores, encontraron polimorfismo para esos SSR. Es importante destacar que en el presente trabajo los 30 genotipos de caraota evaluados fueron todos de semilla negra, por lo que se espera menor diversidad genética. El SSR BM140 resultó con igual comportamiento al reportado por Castañeda et al. (2014) en un estudio sobre la evaluación molecular de la resistencia a la bacteriosis común (*Xanthomonas phaseoli*) y del rendimiento en familias $F_{2:4}$ de caraota.

En el Cuadro 3 se presentan las frecuencias alélicas, pares de base de cada alelo y contenido de información polimórfica (PIC) para cada SSR en 30 genotipos de caraota. En la población global, el total de alelos presentes fue de 47 alelos, con un promedio de 2,94 alelos por locus en un rango de 2 a 5. Se observó un valor medio de PIC de 0,47 y osciló en un rango entre 0,13 y 0,67; siendo los SSR BM142, BM143 y BM156 los más informativos, ya que presentaron valores de PIC igual a 0,61; 0,66 y 0,67, respectivamente. De éstos, el SSR BM143 presentó el mayor número de alelos (cinco).

Los resultados coinciden con Blair et al. (2006) quienes en un estudio de diversidad en caraota utilizando marcadores microsatélites encontraron que los SSR BM142, BM143 y BM156 presentaron un alto contenido de información polimórfica con valores de 0,537; 0,887 y 0,818, respectivamente. Sin embargo, el número de alelos observados fueron superiores a los encontrados en esta investigación, variando de 13 a 18 alelos.

En relación a los pares de base de los alelos se evidenció que la mayoría está en un rango de talla dentro de los descritos por Blair et al. (2006) para los microsatélites utilizados en esta investigación. En el caso del SSR BM171, Gaitán et al. (2002) reportaron una talla de 149 pb, resultado que difiere del encontrado en este trabajo donde se encontró un rango entre 200 pb y 208 pb.

Cuando se examinó el número de alelos y el PIC para cada grupo de genotipos que representaba la población global (Cuadro 3) se encontró que los cultivares locales tuvieron un total de 43 alelos, con un promedio de 2,69 alelos por locus; el valor promedio de PIC fue de 0,46 y estuvo comprendido en un rango de 0,08 a 0,62. De los 20 SSR estudiados el AG1 mostró un PIC de 0,62 siendo el más informativo, seguido de BM170, BM202, ambos con PIC igual a 0,57, así como, BM156 (PIC=0,56) y BM183 (PIC = 0,52); el resto de los SSR presentaron valores de PIC por debajo de 0,50.

Para el caso de las líneas avanzadas se observó un total de 37 alelos con un promedio de 2,31 alelos por locus, el valor promedio de PIC fue de 0,34 comprendido en un rango de 0 y 0,62 donde el SSR BM142 fue el más informativo, con un valor de PIC igual a 0,62 seguido de BM156 (PIC = 0,55). El resto de los SSR presentaron valores de PIC inferiores a 0,5. Las variedades comerciales tuvieron un total de 32 alelos con un promedio de alelos por locus, el valor promedio de PIC fue de 0,29 comprendido en un rango entre 0 y 0,62 siendo el SSR BM184 el más informativo por su valor de PIC igual a 0,62 seguido por 0,57 en el SSR BM202. El resto de los SSR presentaron valores de PIC inferiores a 0,46.

**Cuadro 3.** Frecuencias alélicas, pares de base de cada alelo y contenido de información polimórfica (PIC) para cada SSR en 30 genotipos de *P. vulgaris*

| SSR/PIC | Alelo | Pb | Población global | Cultivares locales | Líneas avanzadas | Variedades comerciales |
|---|---|---|---|---|---|---|
| BM 139 | A | 108 | 0,67 | 0,58 | 0,92 | 0,33 |
| | B | 106 | 0,33 | 0,42 | 0,08 | 0,67 |
| | PIC | | 0,44 | 0,49 | 0,15 | 0,44 |
| BM 142 | A | 165 | 0,52 | 0,75 | 0,50 | 0,08 |
| | B | 160 | 0,20 | 0,17 | 0,29 | 0,08 |
| | C | 142 | 0,28 | 0,08 | 0,21 | 0,85 |
| | PIC | | 0,61 | 0,43 | 0,62 | 0,27 |
| BM 143 | A | 167 | 0,10 | 0,00 | 0,26 | 0,00 |
| | B | 144 | 0,09 | 0,21 | 0,00 | 0,00 |
| | C | 123 | 0,29 | 0,71 | 0,00 | 0,00 |
| | D | 107 | 0,48 | 0,08 | 0,70 | 1,00 |
| | E | 102 | 0,03 | 0,00 | 0,04 | 0,00 |
| | PIC | | 0,66 | 0,45 | 0,45 | 0,00 |
| BM 156 | A | 250 | 0,07 | 0,00 | 0,08 | 0,17 |
| | B | 246 | 0,17 | 0,09 | 0,33 | 0,00 |
| | C | 230 | 0,34 | 0,36 | 0,50 | 0,00 |
| | D | 220 | 0,41 | 0,55 | 0,08 | 0,83 |
| | PIC | | 0,67 | 0,56 | 0,55 | 0,28 |
| BM 164 | A | 153 | 0,50 | 0,42 | 0,55 | 0,64 |
| | B | 151 | 0,50 | 0,58 | 0,45 | 0,36 |
| | PIC | | 0,50 | 0,48 | 0,50 | 0,46 |
| BM 170 | A | 182 | 0,58 | 0,11 | 0,82 | 0,90 |
| | B | 178 | 0,30 | 0,56 | 0,18 | 0,10 |
| | C | 158 | 0,12 | 0,33 | 0,00 | 0,18 |
| | PIC | | 0,56 | 0,57 | 0,30 | 0,00 |
| BM 171 | A | 208 | 0,09 | 0,10 | 0,04 | 0,17 |
| | B | 206 | 0,80 | 0,70 | 0,88 | 0,83 |
| | C | 202 | 0,07 | 0,10 | 0,08 | 0,00 |
| | D | 200 | 0,04 | 0,10 | 0,00 | 0,00 |
| | PIC | | 0,34 | 0,48 | 0,22 | 0,28 |
| BM 172 | A | 80 | 0,71 | 0,63 | 0,67 | 0,80 |
| | B | 78 | 0,29 | 0,37 | 0,33 | 0,20 |
| | Pic | | 0,42 | 0,46 | 0,44 | 0,32 |
| BM 175 | A | 166 | 0,28 | 0,42 | 0,29 | 0,00 |
| | B | 163 | 0,72 | 0,58 | 0,71 | 1,00 |
| | PIC | | 0,40 | 0,48 | 0,42 | 0,00 |
| BM 181 | A | 193 | 0,30 | 0,36 | 0,16 | 0,33 |
| | B | 187 | 0,70 | 0,64 | 0,84 | 0,67 |
| | Pic | | 0,42 | 0,46 | 0,26 | 0,44 |
| BM 183 | A | 152 | 0,31 | 0,64 | 0,17 | 0,00 |
| | B | 149 | 0,52 | 0,23 | 0,83 | 0,42 |
| | C | 146 | 0,17 | 0,14 | 0,00 | 0,58 |
| | PIC | | 0,60 | 0,52 | 0,28 | 0,48 |
| BM 184 | A | 162 | 0,02 | 0,04 | 0,00 | 0,00 |
| | B | 160 | 0,59 | 0,78 | 0,50 | 0,30 |
| | C | 154 | 0,04 | 0,00 | 0,00 | 0,20 |
| | D | 148 | 0,35 | 0,17 | 0,50 | 0,50 |
| | PIC | | 0,53 | 0,36 | 0,50 | 0,62 |
| BM 189 | A | 106 | 0,93 | 0,83 | 1,00 | 1,00 |
| | B | 104 | 0,07 | 0,17 | 0,00 | 0,00 |
| | PIC | | 0,13 | 0,28 | 0,00 | 0,00 |
| BM 202 | A | 158 | 0,34 | 0,41 | 0,31 | 0,25 |
| | B | 156 | 0,56 | 0,50 | 0,63 | 0,58 |
| | C | 154 | 0,10 | 0,09 | 0,06 | 0,17 |
| | PIC | | 0,56 | 0,57 | 0,50 | 0,57 |
| BM 205 | A | 140 | 0,07 | 0,04 | 0,04 | 0,17 |
| | B | 134 | 0,93 | 0,96 | 0,96 | 0,83 |
| | PIC | | 0,13 | 0,08 | 0,08 | 0,28 |
| AG1 | A | 142 | 0,02 | 0,04 | 0,00 | 0,00 |
| | B | 138 | 0,14 | 0,25 | 0,14 | 0,00 |
| | C | 136 | 0,70 | 0,54 | 0,86 | 0,67 |
| | D | 132 | 0,14 | 0,17 | 0,00 | 0,33 |
| | PIC | | 0,47 | 0,62 | 0,24 | 0,36 |
| Total alelo | Alelo | | 47 | 43 | 37 | 32 |
| Prom alelo | Alelo | | 2,94 | 2,69 | 2,31 | 2 |
| Promedio | PIC | | 0,47 | 0,46 | 0,34 | 0,29 |

Para el caso del BM143, si bien es cierto que fue el que presentó el mayor número de alelos en la población global, cuando se distinguió entre los tres grupos de genotipos se encontró que ese SSR reflejó un PIC (0,45) medianamente informativo para los cultivares locales y líneas avanzadas, no así para las variedades comerciales donde resultó no informativo (PIC = 0). El PIC se ve disminuido cuando alguno de los alelos se presenta en mayor frecuencia que los otros; tal es el caso, que para ese SSR uno de los alelos presentes en los cultivares locales y líneas avanzadas acumuló más del 70% de las frecuencias y en los comerciales uno de los alelos concentró el 100 % de la frecuencia.

Al comparar la diversidad genética (Cuadro 3) contenida en los cultivares locales, variedades comerciales y líneas avanzadas se evidencia que el mayor PIC y total de alelos estuvo presente en los locales. Esto muestra que los cultivares locales cuentan con una riqueza alélica que pudiera ser aprovechada en los programas de mejoramiento de la caraota, por contar con mayor variabilidad. En referencia a los cultivares comerciales presentan menor variabilidad porque, generalmente, en el proceso de mejora se pierden muchos genes y se fijan los de interés.

El análisis de agrupamiento UPGMA, basado en la distancia de similaridad de Dice y considerando los 30 genotipos de caraota, diferenció seis grupos (Figura 1). El primer grupo, ubicado a una distancia de 0,58 y compuesto por los cultivares locales I-2254 e I-2363, se distinguió del resto de los grupos. Estos dos cultivares han sido conservados por los agricultores en zonas agrícolas de los estados Sucre y Mérida, respectivamente.

A una distancia de similaridad de 0,65 se ubicó un segundo grupo, representado por los cultivares comerciales Corocito, Tenerife, Montalbán y UCV Manuare. Estos provienen de selecciones dentro de líneas introducidas del CIAT. En este grupo también se incluyó la línea avanzada UCV-100, desarrollada en el programa de mejoramiento de la UCV, originada del cruce entre una línea del CIAT y un cultivar local del estado Lara en Venezuela.

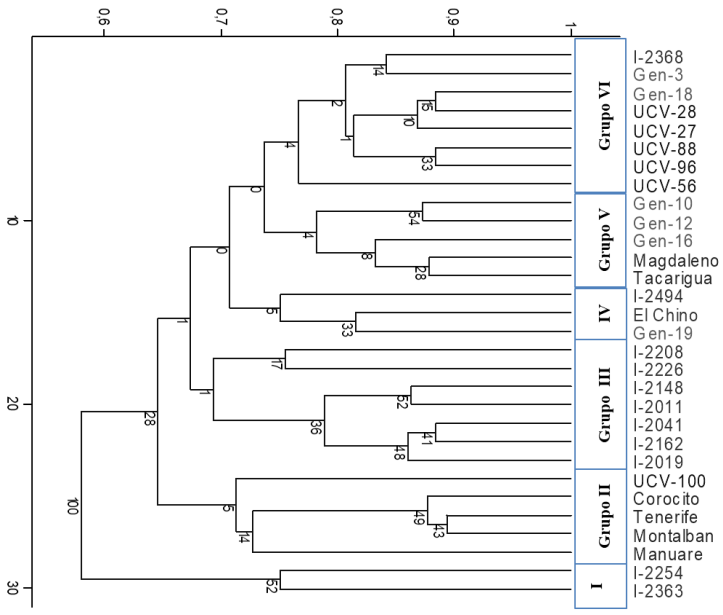


**Figura 1.** Dendrograma de las similitudes genéticas de 30 cultivares de *P. vulgaris* con 20 marcadores SSR, utilizando coeficiente de Dice y cálculo de agrupamiento por el método UPGMA. Los números en los nodos indican el porcentaje de veces en que la topología de un nodo en particular se repite

El grupo III, a una distancia de similaridad de 0,67 estuvo representado por 7 de los 12 cultivares locales evaluados, siendo estos: I-2019, I-2162, I-2041, I-2011, I-2148, I-2226 e I-2208. Cabe destacar que estos cultivares han sido conservados por los agricultores en diversas zonas agrícolas del país, ubicadas en los estados: Aragua, Trujillo, Lara, Carabobo, Guárico, Sucre y Apure, respectivamente.

El grupo IV, a una distancia de similaridad de 0,71 lo integran dos variedades locales (I-2404 y El Chino), provenientes de los estados Lara y Aragua y la línea avanzada Gen-19, desarrollada en el Programa de Mejoramiento Genético del INIA CENIAP.

El grupo V, a una distancia de similaridad de 0,74 agrupa 3 líneas avanzadas del programa de mejoramiento genético del INIA (Gen-16, Gen-12 y Gen-10) en conjunto con Tacarigua, variedad comercial que data de más de 40 años generada por el INIA y que proviene de una selección individual de la Línea Ven 44; además, la variedad comercial Magdaleno.

Por último, se observa el grupo VI donde se encuentran ubicadas 5 líneas avanzadas desarrolladas por el programa de mejoramiento genético de caraota en la UCV, 2 líneas avanzadas del INIA (Gen-18 y Gen-3) y el cultivar local I-2368 proveniente de Mérida. Cabe señalar que, las cinco líneas avanzadas de la UCV provienen del mismo cruce, lo que las ubica en el mismo grupo. Las variedades que se generen a partir de estas líneas serán diferentes a las variedades comerciales existentes en Venezuela.

De acuerdo al estudio de similitud, los cultivares se presentan genéticamente similares, aparentemente con algún progenitor en común. Tal es el caso de los cultivares locales, los cuales no presentaron agrupaciones definidas por distribución geográfica, pero la mayoría se ubicó en el mismo grupo. En este aspecto, destacaron los cultivares locales I-2254 proveniente del estado Sucre e I-2363 del estado Mérida. Los resultados indican la limitada base genética de la especie, resultado que coincide con el reportado por Medina et al. (2013), en un estudio de caracterización de variabilidad genética en acervos primarios de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), útiles para programas de premejoramiento genético.

El análisis de componentes principales mostró que los dos primeros componentes (CP1, CP2) explicaron 24,83 % de la variación total observada (Cuadro 5). El primer componente contribuyó con 13,33 % y el segundo con el 11,50 %, lo cual no permite una discriminación eficiente de los 30 cultivares; aunque hasta el componente 5 se explica un 46,47% de la variabilidad observada.

**Cuadro 5**. Valores característicos del análisis de componentes principales y proporción de la varianza explicada con base en la matriz de correlación

| Componentes | Valor característico | Proporción de la variación | |
|---|---|---|---|
| | | Explicada (%) | Acumulada (%) |
| 1 | 1,71 | 13,33 | 13,33 |
| 2 | 1,47 | 11,50 | 24,83 |
| 3 | 1,29 | 10,10 | 34,92 |
| 4 | 0,77 | 5,99 | 40,91 |
| 5 | 0,71 | 5,56 | 46,47 |

Al graficar el análisis de los dos primeros componentes (Figura 2) se refuerzan las agrupaciones de los cultivares obtenidos en el dendrograma (Figura 1), donde se observa claramente la separación de los cultivares locales I-2254 e I-2363, los cuales deben ser considerados en los programas de mejoramiento genético tomando en cuenta su comportamiento agronómico y apreciación de los agricultores. En ese mismo orden de ideas destacan el cultivar local I-2494 y la línea GEN-3, genotipos muy próximos a los anteriores; y por otra parte la línea UCV-96, distinta al resto de los genotipos. Tanto la línea GEN-3 como la UCV-96 provienen de un programa de cruzamiento biparental, en el primer caso entre dos líneas introducidas desde el CIAT, y en el segundo caso entre un cultivar local y una línea introducida del CIAT, lo que explicaría las diferencias observadas.

Los resultados confirman lo reportado por Gutiérrez y Rincón (2011) quienes indican que la base genética de los cultivares comerciales de caraota utilizados en Venezuela es bastante estrecha. En tal sentido, se considera de importancia primordial el aprovechamiento de las variedades locales y genotipos nativos, con el fin de preservar la diversidad y hacer uso de estos acervos genéticos en la ampliación de la

base genética de los nuevos cultivares a desarrollar; así como, en la búsqueda de alternativas para los sistemas de producción actualmente en uso.

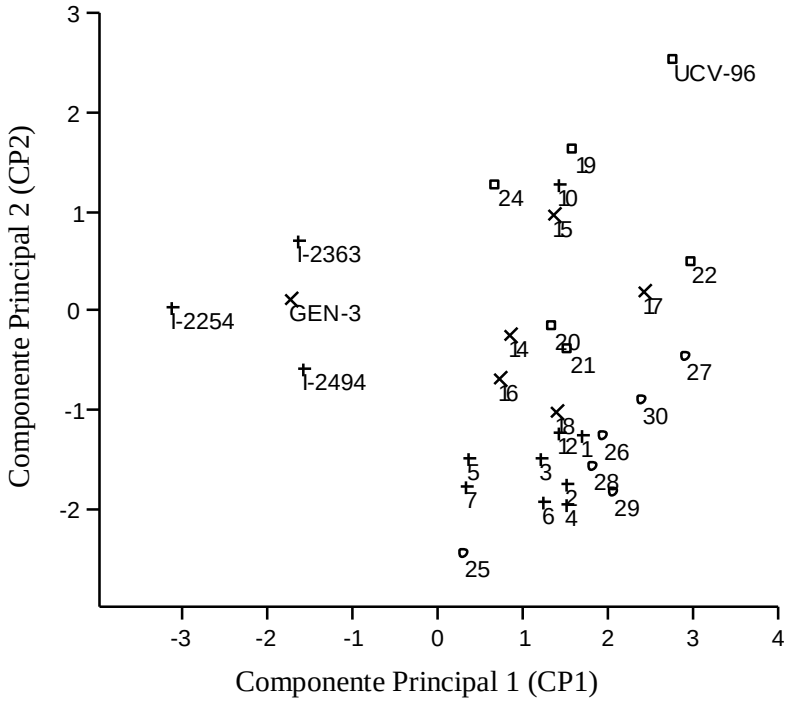


**Figura 2.** Representación gráfica del análisis de los dos primeros componentes principales de 30 cultivares de *P. vulgaris*. Los números corresponden a los genotipos indicados en el Cuadro 1; +: cultivares locales; x: líneas avanzadas del INIA-CENIAP; □: líneas avanzadas de UCV-FAGRO; o: cultivares comerciales

## CONCLUSIONES

De los 20 SSR utilizados 16 resultaron polimórficos, lo que permitió discriminar la similitud entre los 30 cultivares de caraota de semilla negra.

Los diferentes tipos de cultivares presentaron poco polimorfismo genético, lo que demuestra que la base genética de la caraota es estrecha.

El análisis de similaridad permitió la conformación de seis grupos de cultivares, destacándose los cultivares locales I-2363 e I-2294 que integraron un solo grupo. El resto de los genotipos se organizaron en su mayoría por grupos de cultivares locales, comerciales y líneas avanzadas.

La variación entre los cultivares fue similar. Sin embargo, existe una variabilidad distinta a los cultivares comerciales de uso actual que puede ser aprovechada en los programas de mejoramiento genético del cultivo.

## AGRADECIMIENTO

Al personal del Laboratorio de Genética Molecular del Centro de Investigaciones en Biotecnología Agrícola (CIBA) de la FAGRO UCV, por su apoyo en las actividades de Laboratorio.

## LITERATURA CITADA

1. Acosta-Gallegos, J., J. Kelly y P. Gepts. 2007. Prebreeding in common bean and use of genetic diversity from wild germplasm. Crop. Sci. 47(53): 544-559.
2. Arnao, E., N. Rodríguez, P. Hinrinsen, Y. Jayaro, C. Ramis y I. Pérez-Almeida. 2007. Evaluación de la diversidad genética de subespecies de arroz usando marcadores microsatélites y AFLP. Agronomía Tropical 57(1): 45-50.
3. Arnao, E., R. Perdomo y E. Graterol. 2010.

Diversidad genética en cultivares de soya utilizando marcadores microsatélites, en Venezuela. Interciencia 35(7): 534-538.

4. Blair, M., M. Giraldo, H. Buendía, E. Tovar, M. Duque y S. Beebe. 2006. Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Theor. Appl. Genet. 113: 100-109.
5. Castañeda R., C. Ramis y D. Pérez. 2014. Asociación entre marcadores microsatélites y el gen de resistencia a la bacteriosis común en familias F2:4 de *Phaseolus vulgaris* L. Agronomía Tropical 64(3-4): 133-141.
6. Courtois B., D. Filloux, N. Ahmadi, J. Noyer, C. Billot y E. Guimarâes. 2003. Uso de marcadores moleculares para el manejo de poblaciones de arroz mejoradas mediante la selección recurrente. *In*: Elcio Guimarâes (ed.). Mejoramiento Poblacional, una Alternativa para Explorar los Recursos Genéticos del Arroz en América Latina. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. pp. 53-76.
7. Ebert, A., C. Astorga, I. Ebert, A. Mora y C. Umaña. 2007. Securing Our Future: CATIE´s Germplasm Collections Turrialba, C.R. CATIE. Serie Técnica, Boletín Técnico N° 26. 204 p.
8. Gaitán-Solís, E., M. Duque, K. Edwards y J. Tohme. 2002. Microsatellite repeats in common bean (*Phaseolus vulgaris*): Isolation, characterization, and cross-species amplification in *Phaseolus* ssp. Crop Science 42: 2128-2136.
9. Gepts, P. y D. Debouck. 1991. Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *In*: van Schoonhoven y Voysest (eds.). Common Beans: Research for Crop Improvement. CAB International. Wallingford, UK. pp. 7-53.
10. Gutiérrez, M. y C.A. 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.
11. Hammer, O., T. Harper y P. Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Paleontología Electrónica 4(1): 9 p.
12. Masuelli, R. 1999. Uso de marcadores moleculares en el mejoramiento genético de especies hortícolas. Avances en Horticultura. 4(1): 54-66.
13. Medina, A., C. Ramis, D. Pérez, P. Lagarde y 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.
14. Miklas, P., J. Kelly, S. Beebe y M. Blair. 2006. Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses: From classical to MAS breeding. Euphytica 147: 105-131.
15. Miranda, S., J. Rosas, L. Aranda, R. Ortiz, M. Ponce y H. Ríos. 2006. Análisis molecular de la diversidad genética de frijol común manejada por campesinos en Cuba. Agronomía Mesoamericana 17(3): 369-382.
16. Nei, M. y H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Nat. Acad. Sic. 76: 5269-5273.
17. Vidal-Barahoma, A., L. del C. Lagunes-Espinoza, E. Valadez y C.F. Ortíz-García. 2006. Variabilidad morfológica y molecular de cultivares criollos y mejorados de frijol común en Tabasco, México. Revista Fitotecnia Mexicana 29(4): 273-281.
18. Voysest, O. 2000. Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.): Legado de variedades de América Latina 1930-1999. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. 195 p.
19. Yu, K., S. Park y V. Poysa. 1999. Abundance and variation of microsatellite DNA sequences in beans (*Phaseolus* and *Vigna*). Genome 42: 27-34.