

Polibotánica

ISSN electrónico: 2395-9525

polibotanica@gmail.com

Instituto Politécnico Nacional

México

<http://www.polibotanica.mx>

ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL DEL FRIJOL AYOCOTE (*Phaseolus coccineus* L.) MEDIANTE AFLP

POPULATION STRUCTURE ANALYSIS OF AYOCOTE BEANS (*Phaseolus coccineus* L.) BY AFLP

Ruíz-Salazar, R.; N. Mayek-Pérez, M.L.P. Vargas-Vázquez, S. Hernández-Delgado, y J.S. Muruaga-Martínez

ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL DEL FRIJOL AYOCOTE (*Phaseolus coccineus* L.) MEDIANTE AFLP.

POPULATION STRUCTURE ANALYSIS OF AYOCOTE BEANS (*Phaseolus coccineus* L.) BY AFLP.

**ANÁLISIS DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL DEL FRIJOL AYOCOTE
(*Phaseolus coccineus* L.) MEDIANTE AFLP**

**POPULATION STRUCTURE ANALYSIS OF AYOCOTE BEANS
(*Phaseolus coccineus* L.) BY AFLP**

Ruiz-Salazar, R.,
N. Mayek-Pérez,
M.L.P. Vargas-Vázquez,
S. Hernández-Delgado,
y J.S. Muruaga-Martínez

ANÁLISIS DE LA
ESTRUCTURA
POBLACIONAL DEL
FRIJOL AYOCOTE
(*Phaseolus coccineus* L.)
MEDIANTE AFLP

POPULATION STRUCTURE
ANALYSIS OF AYOCOTE
BEANS (*Phaseolus coccineus*
L.) BY AFLP

POLIBOTÁNICA
Instituto Politécnico Nacional

Núm. 47: 13-24. Enero 2019

DOI:
10.18387/polibotanica.47.2

R. Ruíz-Salazar/ regulo.ruiz@docentes.uat.edu.mx;
<https://orcid.org/0000-0001-6579-6458>

Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa Aztlán
Universidad Autónoma de Tamaulipas, Calle 16 y Lago de Chapala s/n,
col. Aztlán, CP 88740, Reynosa, Tamaulipas, México.

N. Mayek-Pérez

Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional,
Boulevard del Maestro esq. Elías Piña s/n, col. Narciso Mendoza,
CP 88710, Reynosa, Tamaulipas, México.
Universidad México Americana del Norte A.C.
Primera s/n Col. El Circulo, CP 88640, Reynosa, México.

M.L.P. Vargas-Vázquez

Programa de Recursos Genéticos. Campo Experimental Valle de México. INIFAP.
Carretera Los Reyes-Texcoco, Km 13.5. AP 307.
CP 56250, Coatlinchán, Texcoco, México.

S. Hernández-Delgado

Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional,
Boulevard del Maestro esq. Elías Piña s/n, col. Narciso Mendoza,
CP 88710, Reynosa, Tamaulipas, México.

J.S. Muruaga-Martínez

Programa de Recursos Genéticos. Campo Experimental Valle de México. INIFAP.
Carretera Los Reyes-Texcoco, Km 13.5. AP 307.
CP 56250, Coatlinchán, Texcoco, México.

RESUMEN: El frijol ayocote (*Phaseolus coccineus* L.; $2n=2x=22$) es una leguminosa originaria de las zonas altas de México; es una especie que ha sido poco estudiada a pesar de su importancia para consumo humano y el uso potencial en el mejoramiento de la resistencia de *Phaseolus* a enfermedades y factores abióticos (tolerancia a bajas temperaturas). El objetivo del presente estudio fue determinar la estructura poblacional de 117 colectas de *P. coccineus* correspondientes a 15 localidades del Carso Huasteco del estado de Puebla, México, más cinco testigos para conocer el grado de variabilidad genética existente en germoplasma criollo mexicano de *P. coccineus* mediante la técnica de polimorfismos en longitud de fragmentos amplificados (AFLP). La estructura poblacional indicó un valor delta K = 3. El polimorfismo fue del 87.4% y el AMOVA confirmó la baja diferenciación genética entre accesiones ($F_{st} = 0.067$), la varianza explicada entre y dentro de poblaciones fue 6.7 y 93.3%, respectivamente. El análisis de conglomerados no mostró agrupamientos definidos con base en el origen del germoplasma.

Palabras clave: *Phaseolus coccineus*, poblaciones, accesiones, diversidad.

ABSTRACT: Ayocote beans (*Phaseolus coccineus* L., $2n=2x=22$) are a legume native from Mexican highlands; this is one species that has been poorly studied, despite its importance for human feeding and its potential for *Phaseolus* breeding of disease resistance as well as against some abiotic factors as cold tolerance. The aim of this study was to determine the population structure of 117 collections of *P. coccineus* from 15 locations of the Huasteco Karst from Puebla, Mexico, plus five controls in order to know the degree of genetic variability present in Mexican native germplasm materials of *P. coccineus* by using the Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) molecular marker strategy. The optimum genetic structure indicated a delta K value = 3. The polymorphism was 87.4% and the AMOVA confirmed the low genetic differentiation among accessions ($F_{st} = 0.067$), the genetic variance explained among and within populations was 6.7 and 93.3%, respectively. Cluster analysis did not show groupings based on germplasm origins.

Key words: *Phaseolus coccineus*; populations; accessions; diversity.

INTRODUCCIÓN

El frijol ayocote (*Phaseolus coccineus* L.) es una leguminosa que tiene su centro de origen y domesticación en México (Llaca *et al.*, 1994; Sicard *et al.*, 2005) el cual, de acuerdo con Salinas (1988) se ubica en las zonas altas de los estados de Puebla, Oaxaca, y Chiapas. Sin embargo, el frijol ayocote en México es poco cultivado y consumido no así en regiones de Europa principalmente España, Holanda y Reino Unido, donde su consumo ha sustituido al frijol común (*P. vulgaris* L.) y se consume principalmente en su presentación de ejote y de grano seco en el sur de Italia (Santalla *et al.*, 2004; Rodiño *et al.*, 2007). Por otra parte, se ha reportado su consumo en Japón donde se cultiva principalmente en zonas montañosas y su semilla es muy apreciada por su excelente calidad culinaria (Watanabe & Tojo, 2006). De las especies domesticadas del género *Phaseolus* spp., el frijol ayocote es la segunda especie en importancia económica (Saburido-Álvarez & Herrera-Estrella, 2015). El cultivo tradicional ocurre en pequeña escala (Schwember *et al.*, 2017). En Centroamérica, el frijol ayocote se cultiva casi exclusivamente en asociación con maíz (*Zea mays* L.) (Vargas-Vázquez *et al.*, 2007). Dado que los frijoles son un elemento importante en el autoabasto de poblaciones rurales, además de ser la leguminosa de grano más importante constituye la fuente principal de proteína de calidad a bajo costo, con diversas variaciones en cuanto a formas de cultivo, uso y maneras de preparación para consumo humano (Svetleva *et al.*, 2003).

El frijol ayocote en México se siembra con variedades nativas o criollas y su cultivo se ha reducido de manera alarmante en los últimos 50 años (Vargas-Vázquez *et al.*, 2007). Además, el manejo agronómico de esta especie es diferente al del frijol común porque presenta aproximadamente 14.7% de cruzamiento natural (Muruaga *et al.*, 1992), lo que dificulta conservar la pureza genética de las variedades criollas. Lo anterior, aunado al manejo en la selección e intercambio de semilla por parte de los productores, impacta directamente en la estructura poblacional de esta especie (Mercati *et al.*, 2015). Sin embargo, se han conducido pocos trabajos que comparen el germoplasma de *P. coccineus* y de *P. vulgaris* con respecto a los rasgos morfoagronómicos y genéticos útiles para el mejoramiento (Acampora *et al.*, 2007).

La diversidad genética del frijol ayocote se ha estudiado previamente aplicando diversas estrategias (Nowosielski *et al.*, 2002; Sicard *et al.*, 2005; Boczkowska *et al.*, 2012), principalmente marcadores moleculares de ADN y marcadores morfoagronómicos. Por su parte, Spataro *et al.* (2011) desarrollaron una colección núcleo de frijol ayocote con 228 accesiones (52 de Mesoamérica y 148 de Europa) y se ha confirmado la diferenciación genética entre ambos acervos genéticos (Rodríguez *et al.*, 2013; Mercati *et al.*, 2015) y diferenciación entre poblaciones debido a su estructuración genética (Catarcione *et al.*, 2013; Mercati *et al.*, 2015). En México también se estructuró una colección nacional de *P. coccineus* que incluye 798 accesiones, y donde alrededor del 80% proviene de las regiones del eje Neovolcánico y la Sierra Madre Oriental (Vargas-Vázquez *et al.*, 2012). El frijol ayocote del Carso Huasteco se

subdivide en dos grupos: uno que incluye germoplasma con ciclo de vida tardío y regiones con temperaturas mínimas de 2-5°C con semillas y vainas grandes y otro grupo con genotipos precoces que se colectaron en sitios con temperaturas mínimas de 0 a -2°C, así como semillas y vainas pequeñas (Ruíz-Salazar *et al.*, 2010; Vargas-Vázquez *et al.*, 2011; 2013; 2014).

Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue determinar, por primera vez, la variabilidad y la estructura genética de germoplasma de frijol ayocote de la Subprovincia Carso Huasteco de Puebla, México, mediante marcadores moleculares AFLP.

MATERIALES Y MÉTODOS

Extracción de ADN

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional (CBG-IPN) en Reynosa, Tamaulipas donde se analizaron 117 accesiones de *P. coccineus* L. colectadas en la Subprovincia Carso Huasteco del estado de Puebla, México, más cinco accesiones empleadas como grupo testigo (cuadro 1). A partir del primer trifolio de cada plántula se tomaron 30 mg de hoja fresca de los cuales se extrajo el ADN de acuerdo con el método propuesto por Doyle & Doyle (1987).

Cuadro 1. Procedencia y número de muestras de las poblaciones de *Phaseolus* spp. estudiadas.

| Especie | n | Localidad | Estado |
|---|----|---------------------------------|------------------|
| <i>P. coccineus</i> | 38 | Zacapoaxtla | Puebla |
| ” | 3 | Zacatlán | ” |
| ” | 18 | Tlatlauquitepec | ” |
| ” | 7 | Nauzontla | ” |
| ” | 1 | Tételes de Ávila Castillo | ” |
| ” | 4 | Zoquiapan | ” |
| ” | 1 | Huauhinango | ” |
| ” | 6 | Chignahuapan | ” |
| ” | 3 | Ahuacatlán | ” |
| ” | 2 | Xochiapulco | ” |
| ” | 14 | M [†] . de Zacapoaxtla | ” |
| ” | 4 | M. de Cuetzalan | ” |
| ” | 6 | M. de Tlatlauquitepec | ” |
| ” | 6 | M. de Ciudad Serdán | ” |
| ” | 4 | Atempan | ” |
| <i>P. glabellus</i> , <i>P. vulgaris</i> (Pinto Villa y Pinto Zapata) y <i>P. coccineus</i> (<i>P. coccineus</i> tipo y Blanco Tlaxcala) | 5 | Texcoco | Estado de México |

Donde † = Mercado; se visitaron los sitios donde la semilla se comercializa de manera local, las accesiones fueron elegidas de acuerdo con sus características morfológicas de tamaño, color y forma.

Técnica AFLP

El análisis genético mediante AFLP ('amplified fragment length polymorphism' por sus siglas en inglés) se realizó de acuerdo con Vos *et al.* (1995). Inicialmente se probaron ocho combinaciones selectivas de las cuales se seleccionaron las cuatro que produjeron mayor cantidad de polimorfismos.

Eco RI + AAG con Mse I + 3 (AGG, ACC, ATG y AGT). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó en termociclador Perkin Elmer modelo Gene Amp 9800 (Applied Biosystem®; Foster City, CA, EU) de acuerdo con las siguientes condiciones de pre-amplificación: temperatura inicial de 94°C por 30 s; 56°C por 60 s y 72°C por 60 s por 20 ciclos, después se realizó la amplificación selectiva con las siguientes condiciones: temperatura inicial de 94°C por 4 min; 6 ciclos de 94°C por 30 s, 65°C por 30 s, 72°C por 1 min; 6 ciclos de 94°C por 30 s, 60°C por 30 s, 72°C por 1 min; 23 ciclos de 94°C por 30 s, 56°C por 30 s, 72°C por 1 min; 72°C por 5 min. Los fragmentos amplificados se separaron en un sistema de secuenciación automática IR² (modelo 4200-029; LI-COR®; Lincoln, NE, EU). Con los resultados de las lecturas del secuenciador se construyó una matriz binaria donde 1 = presencia y 0 = ausencia de banda (producto amplificado).

Análisis estadístico

El análisis de conglomerados se desarrolló con el paquete computacional Statistica versión 7 (StatSoft, 2004) mientras que el análisis de varianza molecular (AMOVA) se calculó para luego estimar el estadístico F_{ST} que mide el grado de diferenciación genética entre accesiones de frijol ayocote; dicho análisis se llevó a cabo con el software GenoDive 2.0b27 (Meirmans & VanTienderen, 2004). Posteriormente, se construyó una matriz de distancias genéticas mediante el índice de similitud de Jaccard. Dichas distancias sirvieron para generar un dendrograma con el algoritmo UPGMA ('Método de promedio simple con pares no ponderados' por sus siglas en inglés). Para determinar la estructura poblacional del frijol ayocote se llevó a cabo un análisis de inferencia bayesiana con el software Structure 2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000; Hubisz *et al.*, 2009) donde se asumieron 16 poblaciones con parámetros de modelo mixto y frecuencias alélicas correlacionadas; se hizo el cómputo para 30 iteraciones por cada población con pre-tratamiento de datos que consistió en 5000 'alineamientos' seguido de 50 000 cadenas de Markov-Monte Carlo (MCMC) (Evanno *et al.*, 2005). El valor óptimo de Δ_K se determinó con el software Structure Harvester versión 0.6.94 (Earl & VonHoldt, 2012).

RESULTADOS

La amplificación de cuatro combinaciones de oligonucleótidos AFLP arrojó 256 bandas, de las cuales 224 fueron polimórficas (87.4%) y 32 monomórficas (12.6%) con estos datos se construyó la matriz de presencia/ausencia de bandas (cuadro 2). El AMOVA presentó un valor $F_{ST} = 0.067$; además, se observó que la mayor proporción de la varianza molecular explicada se encuentra dentro de las accesiones (93.3%) (cuadro 3). El análisis de conglomerados con datos AFLP formó dos grupos principales (A y B) sin embargo no se observaron agrupamientos definidos con base en el origen del germoplasma pues los testigos Pinto Villa, Pinto Zapata (*P. vulgaris*) L. y *P. glabellus* L. (grupo B) fueron distintos a *P. coccineus* (grupo A), donde se observó una mezcla de poblaciones (fig. 1).

Cuadro 2. Productos amplificados por combinación AFLP en genotipos de frijol ayocote.

| Combinación AFLP | Productos amplificados | | | Polimorfismo (%) |
|------------------|------------------------|--------------|-------|------------------|
| | Monomórficos | Polimórficos | Total | |
| AAG/AGG | 16 | 47 | 63 | 74.6 |
| AAG/ACC | 5 | 53 | 58 | 91.3 |
| AAG/ATG | 7 | 61 | 68 | 89.7 |
| AAG/AGT | 4 | 63 | 67 | 94.0 |
| Total/Media | 32 | 224 | 256 | 87.4 |

Cuadro 3. Análisis de la varianza molecular de frijol ayocote con base en datos AFLP.

| Fuente de variación | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Cuadrados medios | Varianza exp. (%) | Estadístico F | Valor F | Valor P |
|----------------------|--------------------|-------------------|------------------|-------------------|-----------------|---------|---------|
| Dentro de accesiones | 106 | 13800.015 | 130.189 | 93.3 | -- | -- | -- |
| Entre accesiones | 15 | 2916.116 | 194.408 | 6.7 | F _{ST} | 0.067 | 0.001 |
| Total | 121 | 16716.131 | 138.150 | 100 | -- | -- | -- |

El análisis de la estructura poblacional de accesiones de frijol ayocote determinó un valor de delta K = 3. El primer grupo (K1) incluye accesiones de once localidades: Tlatlauquitepec, M. Serdán, Zacapoaxtla, Nauzontla, M. Cuetzalan, M. Zacapoaxtla, Ahuacatlán, Xochiapulco, Atempan y Zoquiapan y los testigos; el segundo conglomerado (K2) incluye germoplasma de diez localidades (Nauzontla, Zacapoaxtla, Atempan, M. Zacapoaxtla, M. Tlatlauquitepec, Zoquiapan, Chignahuapan, Tlatlauquitepec, Zacatlán y Tétéles de Ávila Castillo). Finalmente, el tercer grupo (K3) muestra genotipos de 12 localidades: Tlatlauquitepec, M. Serdán, Zacapoaxtla, Zacatlán, Atempan, Zoquiapan, Chignahuapan, Huauchinango, M. Cuetzalan, M. Tlatlauquitepec, Nauzontla y Ahuacatlán. Lo anterior confirmó los resultados del análisis de conglomerados dado que no se observaron agrupamientos definidos con base en el origen de colecta de cada accesión. Se realizó un segundo análisis donde se consideró un valor de delta K = 4 y se observó que el grupo testigo que incluyó dos accesiones de *P. vulgaris* (Pinto Villa y P. Zapata) y una de *P. glabellus* se agruparon de manera conjunta en el clóster cuatro (K4) (fig. 2).

DISCUSIÓN

En este trabajo se llevó a cabo el análisis de la variabilidad y la estructura genética de accesiones de *P. coccineus* provenientes del Carso Huasteco de México, una de las regiones más importantes de origen y diversidad de frijol ayocote en Mesoamérica, aplicando la estrategia de marcadores moleculares tipo AFLP. La estrategia molecular fue eficiente para el análisis genético en virtud de que detectó más del 87% de productos polimórficos en el germoplasma analizado y a su condición de estrategia de 'alta eficiencia multiplex al generar alta cantidad de productos amplificados por ensayo o reacción de amplificación (Bitocchi *et al.*, 2015).

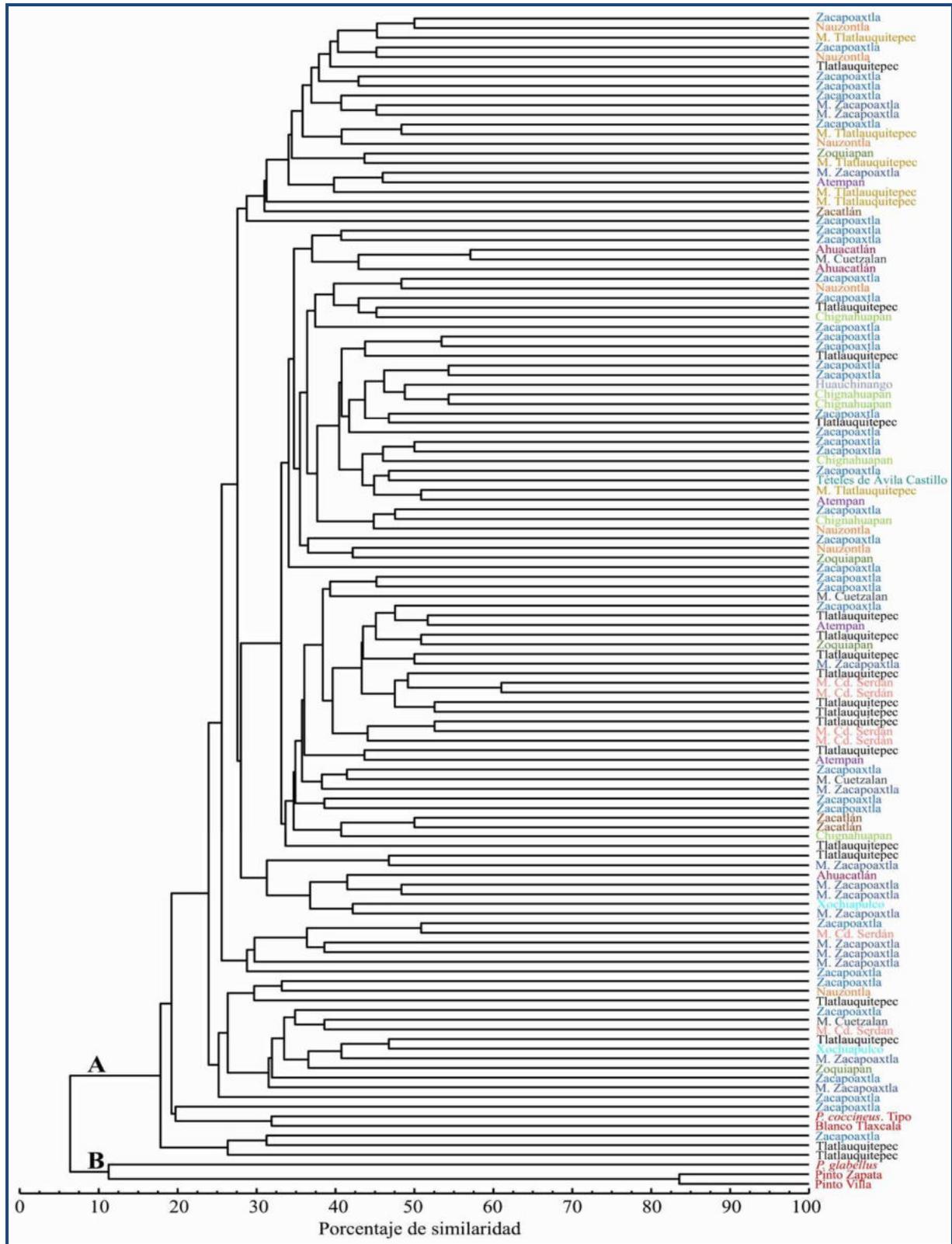


Fig. 1. Dendrograma de 122 accesiones de frijol ayocote mediante el método UPGMA.

El análisis molecular separó claramente al germoplasma de *P. coccineus* de los testigos pertenecientes a las especies *P. vulgaris* y *P. glabellus* (Nowosielski *et al.*, 2002); aunque la separación entre el germoplasma del Carso Huasteco y *P. coccineus* tipo y la variedad de frijol ayocote Blanco Tlaxcala ya no fue tan clara. Sin embargo, la formación de al menos tres subgrupos de genotipos de frijol ayocote con diferentes orígenes demuestra la existencia de poblaciones genéticamente similares y adaptadas a rangos climáticos específicos y en constante intercambio debido a la ‘captura’ de nuevos alelos dada la posible polinización cruzada que ocurre naturalmente en sus zonas de distribución (Spataro *et al.*, 2011; Bitocchi *et al.*, 2015).

Éste es el primer trabajo en México que analiza genéticamente *P. coccineus* con base en una estrategia molecular altamente confiable e informativa y donde, además, se incluyen poblaciones representativas de la especie. Los estudios anteriores han enfatizado el estudio de *P. coccineus* con base en rasgos fisiológicos, fenológicos, morfológicos o productivos (Vargas-Vázquez *et al.*, 2011; 2013; 2014). Destaca el hecho de encontrar la mayor proporción de la varianza genética molecular dentro de las accesiones más que entre accesiones o grupos de accesiones con base en el origen (Spataro *et al.*, 2011) mientras que en frijol común se reportan proporciones diferentes (Gill-Langarica *et al.*, 2011). Lo anterior sugiere genotipos de frijol ayocote diversos. Además, esto indica que, aunque el análisis genético de plantas basado en la formación de ‘bulks’ de DNA reduce el trabajo y costos, puede subestimar la real naturaleza genética de cada accesión o población de genotipos de frijol. Las futuras estrategias de conservación del germoplasma de frijol ayocote deben considerar mecanismos de multiplicación que garanticen preservar la variabilidad genética de cada genotipo.

El análisis genético de *P. coccineus* ha puesto énfasis en germoplasma de Europa y los resultados coinciden en reportar diversidad genética reducida (Sicard *et al.*, 2005; Boczkowska *et al.*, 2012). Incluso, se han podido diferenciar genotipos de frijol ayocote con base en acervos genéticos (Sicard *et al.*, 2005; Acampora *et al.*, 2007). El análisis de una colección ‘mundial’ de *P. coccineus* (228 genotipos de Mesoamérica -52-, Europa -148- y silvestres -28-) volvió a recalcar la diversidad genética reducida del frijol ayocote (Spataro *et al.*, 2011). En este sentido se enfatiza que el germoplasma analizado fue introducido a Europa proveniente de América (Rodríguez *et al.*, 2013; Mercati *et al.*, 2015) sufrió el efecto del ‘cuello de botella’ que precedió a la expansión de la especie en el continente Europeo (Rodríguez *et al.*, 2013).

Sin embargo, Rodríguez *et al.* (2013) sugieren la diferenciación genética adaptativa que luego condujo a la diversificación de *P. coccineus* en Europa, con la consiguiente estructuración genética de poblaciones (Catarcione *et al.*, 2013; (Mercati *et al.*, 2015) en virtud a factores tales como la polinización abierta ($\approx 14\%$ según Muruaga *et al.*, 1992) y el intercambio de germoplasma (semilla) y la selección empírica de genotipos por los agricultores locales (Castillo-Mendoza *et al.*, 2006; Vargas-Vázquez *et al.*, 2011; 2012; 2013; 2014); Así, los estudios previos concluyen que Europa debe considerarse un centro de diversificación secundario de *P. coccineus* (Mercati *et al.*, 2015).

La variabilidad genética de *P. coccineus* podrá ser aprovechada para el mejoramiento genético de la propia especie o de otras cercanas como *P. vulgaris*, en la medida que se intensifiquen los esfuerzos en caracterizar el germoplasma disponible de la especie y se identifiquen así genotipos que puedan servir como fuentes de resistencia a factores como las enfermedades y el frío. También, se propone apoyarse en tecnologías de secuenciación de nueva generación para el análisis de la diversidad genética, el mapeo genético y estudios de sintenia para identificar SNPs o genes funcionales e ‘indels’ asociados con características agronómicas importantes (Schwember *et al.*, 2017).

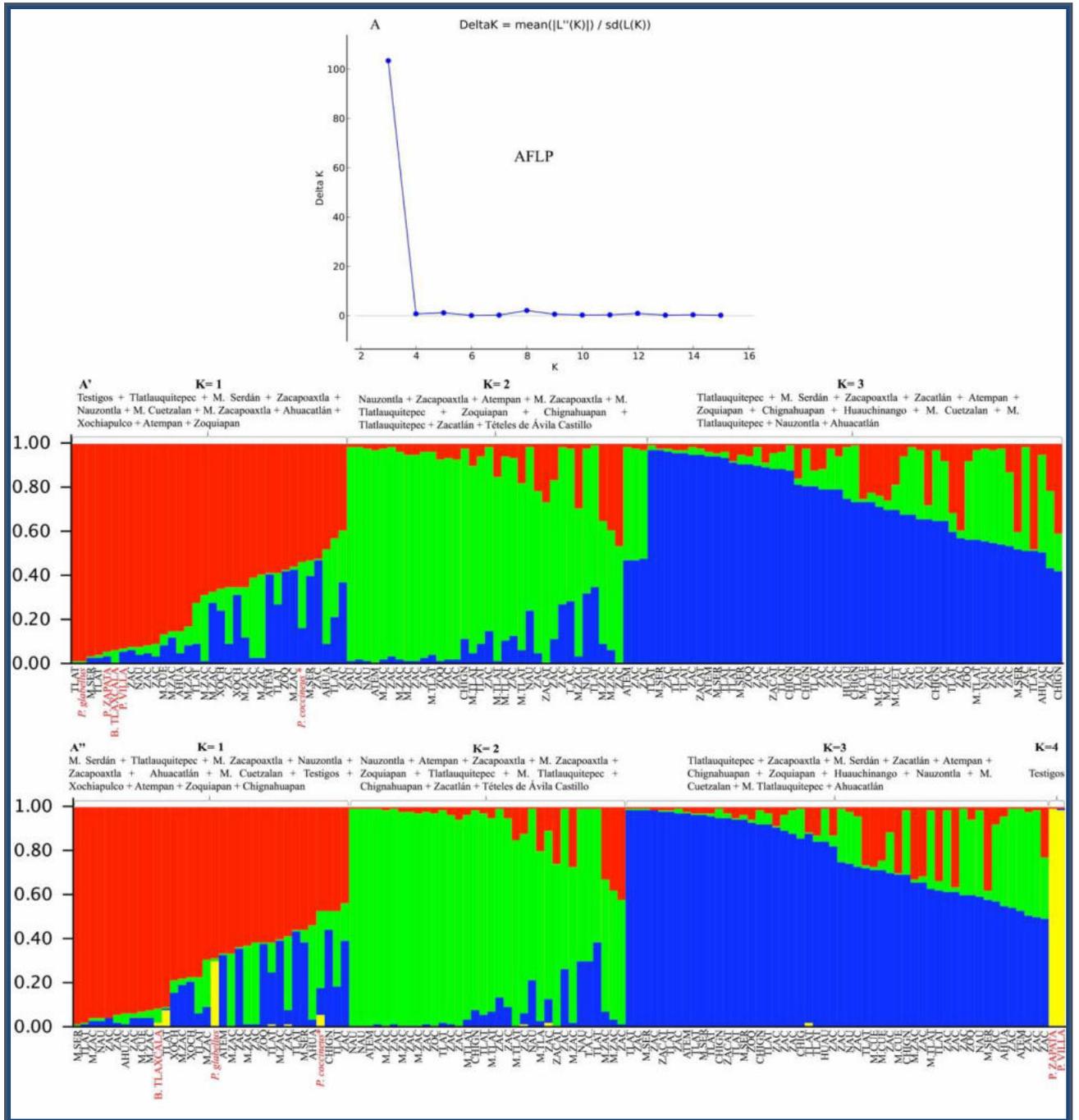


Fig. 2. Determinación de la estructura poblacional mediante AFLP de 122 accesiones de *Phaseolus coccineus* de la Subprovincia Carso Huasteco.

El análisis con 42 548 SNPs generados por secuenciación de 242 individuos de *P. coccineus* y las formas domesticadas de especies cercanas a *P. vulgaris* (20) y *P. dumosus* (35) indicó la formación de ocho conglomerados o grupos de genotipos, donde la mitad correspondió a poblaciones silvestres y el resto, a domesticadas. Dado que las poblaciones domesticadas formaron un solo clado monofilético se asume que *P. coccineus* de México sólo sufrió un evento de domesticación mismo que posiblemente ocurrió en germoplasma del Cinturón Volcánico Trans-Mexicano. Contrario a lo observado previamente, no se observaron evidencias de flujo de genes recientes entre poblaciones silvestres y cultivadas. Finalmente, se identificaron 24 SNPs relacionados con domesticación, 12 con diversificación genética y ocho con selección natural. De los pocos SNPs identificados y que están anotados, se expresan en flores y vainas (Guerra-García *et al.*, 2017).

El germoplasma silvestre de *P. coccineus* se dividió en cuatro grupos genéticos que exhiben diferenciación genética significativa (Guerra-García *et al.*, 2017). Así como la diversidad contenida en los parientes silvestres es un determinante importante en la evolución de cultivos, el de las poblaciones domesticadas también lo es. La domesticación reduce la diversidad genética (Schmutz *et al.*, 2014) debido a la deriva genética resultante de los ‘cuellos de botella’ poblacionales y la selección artificial (Schmutz *et al.*, 2014); además de los tamaños efectivos de las poblaciones o la alta tasa de polinización cruzada (Muruaga *et al.*, 1992).

CONCLUSIONES

El análisis genético del germoplasma de *P. coccineus* del Carso Huasteco de México indicó la formación de tres grupos de accesiones, aunque no hubo relación con el origen del germoplasma; así como mayor varianza genética molecular dentro de accesiones que entre ellas.

AGRADECIMIENTOS

R. Ruíz-Salazar (CVU: 229696) agradece al CONACYT, al Gobierno del estado de Tamaulipas, al programa PIFI del IPN y al Programa Santander ECOES el financiamiento de sus estudios de doctorado en el CBG-IPN. De igual manera agradece al doctor Guillermo Castañón-Nájera de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por el apoyo brindado en el análisis estadístico. El desarrollo de este trabajo fue financiado por el FOMIX-Veracruz (proyecto 94070), el Instituto Politécnico Nacional (Proyecto multidisciplinario núm. 1636) y el Fondo CONACYT-Ciencia Básica (Proyecto núm. 181756).

LITERATURA CITADA

- Acampora, A., Ciaffi, M., DePace, C., Paolacci, A. R., & Tanzarella, O. A. (2007). Pattern of variation for seed size traits and molecular markers in Italian germplasm of *Phaseolus coccineus* L. *Euphytica*, 157(1–2), 69–82. <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9397-3>
- Bitocchi, E., Bellucci, E., Rau, D., Albertini, E., Rodriguez, M., Veronesi, F., Nanni, L. (2015). European flint landraces grown *in situ* reveal adaptive introgression from modern maize. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121381>
- Boczkowska, M., Bulińska-Radomska, Z., & Nowosielski, J. (2012). AFLP analysis of genetic diversity in five accessions of Polish runner bean (*Phaseolus coccineus* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59(4), 473–478. <https://doi.org/10.1007/s10722-012-9798-6>
- Castillo-Mendoza, M., Ramírez-Vallejo, P., Castillo-González, F., & S., M.-C. (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.
- Catarcione, G., Paolacci, A. R., Tanzarella, O. A., Mercati, F., Sunseri, F., Capano, S., Ciaffi, M. (2013). Genetic diversity and population structure of “fagiolone” (*Phaseolus coccineus* L.), a landrace cultivated in the regional natural park of Simbruini mountains. In M. Ciaffi (Ed.), *Proceedings of the 57th Italian Society of Agricultural Genetics Annual Congress* (p. 2). Foggia, Italy: Italian Society of Agricultural Genetics.
- Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11–15. <https://doi.org/10.2307/4119796>
- Earl, D. A., & VonHoldt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4(2), 359–361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology*, 14(1), 2611–2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Gill-Langarica, H. R., Muruaga-Martínez, J. S., Vargas-Vázquez, M. L. P., Rosales-Serna, R., & Mayek-Pérez, N. (2011). Genetic diversity analysis of common beans based on molecular markers. *Genetics and Molecular Biology*, 34(4), 595–605. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572011005000056>
- Guerra-García, A., Suárez-Atilano, M., Mastretta-Yanes, A., Delgado-Salinas, A., & Piñero, D. (2017). Domestication Genomics of the Open-Pollinated Scarlet Runner Bean (*Phaseolus coccineus* L.). *Frontiers in Plant Science*, 8 (10), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01891>
- Hubisz, M. J., Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2009). Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, 9(5), 1322–1332. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02591.x>
- Llaca, V., Delgado Salinas, A., & Gepts, P. (1994). Chloroplast DNA as an evolutionary marker in the *Phaseolus vulgaris* complex. *Theoretical and Applied Genetics*, 88(6–7), 646–652. <https://doi.org/10.1007/BF01253966>
- Meirmans, P. G., & VanTienderen, P. H. (2004). GENOTYPE and GENODIVE: Two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Molecular Ecology Notes*, 4(4), 792–794. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00770.x>
- Mercati, F., Catarcione, G., Paolacci, A. R., Abenavoli, M. R., Sunseri, F., & Ciaffi, M. (2015). Genetic diversity and population structure of an Italian landrace of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.): inferences for its safeguard and on-farm conservation. *Genetica*, 143(4), 473–485. <https://doi.org/10.1007/s10709-015-9846-1>
- Muruaga, M. J. S., Cárdenas, R. F., & Acosta, J. A. (1992). Hibridación natural y métodos de polinización manual en *Phaseolus coccineus* L. In *Memoria de la XXXVIII Reunión Anual Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos Alimenticios y Animales* (pp. 307–311). Managua, Nicaragua: Universidad Nacional Agraria, CENIDA.
- Nowosielski, J., Podyma, W., & Nowosielska, D. (2002). Molecular research on the genetic diversity of Polish varieties and landraces of *Phaseolus coccineus* L. and *Phaseolus vulgaris* L. using the RAPD and AFLP methods. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 7(2), 753–762.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945–959.
- Rodiño, A. P., Lema, M., Pérez-Barbeito, M., Santalla, M., & De Ron, A. M. (2007). Assessment of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.) germplasm for tolerance to low temperature during early seedling growth. *Euphytica*, 155(1–2), 63–70. <https://doi.org/10.1007/s10681-006-9301-6>
- Rodriguez, M., Rau, D., Angioi, S. A., Bellucci, E., Bitocchi, E., Nanni, L., ... Attene, G. (2013). European *Phaseolus coccineus* L. landraces: Population Structure and Adaptation, as Revealed by cpSSRs and Phenotypic Analyses. *PLoS ONE*, 8(2),

Recibido:
11/febrero/2018

Aceptado:
26/noviembre/2018

- e57337. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057337>
- Ruiz-Salazar, R., Hernández-delgado, S., Vargas-Vázquez, M. L. P., Muruaga-Martínez, J. S., & Mayek-Pérez, N. (2010). *Genetic diversity analysis of Phaseolus coccineus L. from Huasteco Karst of Mexico. BEAN IMPROVEMENT COOPERATIVE*. Prosser, WA, US.
- Saburido-Álvarez, S., & Herrera-Estrella, A. (2015). El Frijol En La Era Genómica. *Revista Digital Universitaria*, 16(2), 1607–6079.
- Salinas, A. D. (1988). Phaseolus in archaeology. In P. Gepts (Ed.), *Genetic resources of Phaseolus beans* (Springer, pp. 441–463). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. https://doi.org/10.1007/978-94-009-2786-5_18
- Santalla, M., Menéndez-Sevillano, M. C., Monteagudo, A. B., & DeRon, A. M. (2004). Genetic diversity of Argentinean common bean and its evolution during domestication. *Euphytica*, 135(1), 75–87. <https://doi.org/10.1023/B:EUPH.0000009543.46471.72>
- Schmutz, J., McClean, P. E., Mamidi, S., Wu, G. A., Cannon, S. B., Grimwood, J., Jackson, S. A. (2014). A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nature Genetics*, 46(7), 707–713. <https://doi.org/10.1038/ng.3008>
- Schwember, A. R., Carrasco, B., & Gepts, P. (2017). Unraveling agronomic and genetic aspects of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.). *Field Crops Research*, 206, 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.02.020>
- Sicard, D., Nanni, L., Porfiri, O., Bulfon, D., & Papa, R. (2005). Genetic diversity of *Phaseolus vulgaris* L. and *P. coccineus* L. landraces in central Italy. *Plant Breeding*, 124(5), 464–472. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2005.01137.x>
- Spataro, G., Tiranti, B., Arcaleni, P., Bellucci, E., Attene, G., Papa, R., ... Negri, V. (2011). Genetic diversity and structure of a worldwide collection of phaseolus coccineus L. *Theoretical and Applied Genetics*. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1530-y>
- StatSoft, I. (2004). *Statistica 7*. Tulsa, OK. 457p.
- Svetleva, D., Velcheva, M., & Bhowmik, G. (2003). Biotechnology as a useful tool in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) improvement. *Euphytica*, 131(2), 189–200. <https://doi.org/10.1023/A:1023983831582>
- Vargas-Vázquez, M. L. P., Muruaga-Martínez, J.S., Mayek-Pérez, N., Pérez-Guerrero, A., & Ramírez-Sánchez, S. (2014). Caracterización de frijol ayocote (*Phaseolus coccineus* L.) del Eje Neovolcánico y la Sierra Madre Oriental. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(2), 191–200.
- Vargas-Vázquez, M. L. P., Muruaga-Martínez, J. S., Hernández-Casillas, J. M. J., & Díaz-De la Cruz, M. (2007). *Diagnóstico de la forma cultivada del frijol ayocote Phaseolus coccineus L. e información geográfica de los sitios de colecta*. Chapingo, Estado de México. 120 p.
- Vargas-Vázquez, M. L. P., Muruaga-Martínez, J. S., Lépiz-Ildelfonso, R., & Pérez-Guerrero, A. (2012). La colección INIFAP de frijol ayocote (*Phaseolus coccineus* L.) I: Distribución geográfica de sitios de colecta. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(6), 1247–1259.
- Vargas-Vázquez, M. L. P., Muruaga-Martínez, J. S., & Pérez-Guerrero, A. (2013). Temperatura y precipitación de los sitios de colecta de variedades nativas de frijol ayocote (*Phaseolus coccineus* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(6), 843–853.
- Vargas-Vázquez, P., Muruaga-Martínez, J.S., Martínez-Villarreal, S., Ruiz-Salazar, R., Hernández-Delgado, S., & Mayek-Pérez, N. (2011). Morphologic diversity of ayocote beans from Huasteco Karst of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82(3)767–775.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Vandele, T., Hornes, M., ... Zabeau, M. (1995). Aflp - a New Technique for DNA-Fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23(21), 4407–4414. <https://doi.org/10.1093/nar/23.21.4407>
- Watanabe, K., & Tojo, M. (2006). Stem and root rot of scarlet runner bean (*Phaseolus coccineus*) caused by *Pythium myriotylum*. *Journal of General Plant Pathology*, 72(2), 126–128. <https://doi.org/10.1007/s10327-005-0258-4>