

DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE VARIANTES DEL FRIJOL CACHA  
*Phaseolus dumosus* Macfady EN AGROECOSISTEMAS  
TRADICIONALES DEL SUROCCIDENTE COLOMBIANO

NESTOR ADAN MOLANO PINO

UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
PROGRAMA BIOLOGÍA  
POPAYAN  
2006

DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE VARIANTES DEL FRIJOL CACHA  
*Phaseolus dumosus* Macfady EN AGROECOSISTEMAS TRADICIONALES  
DEL SUROCCIDENTE COLOMBIANO

NESTOR ADAN MOLANO PINO

PROYECTO DE TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR EL TÍTULO DE  
BIÓLOGO

DIRECTORA

OLGA LUCIA SANABRIA DIAGO

UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
PROGRAMA BIOLOGÍA  
POPAYÁN  
2006

**Nota de aceptación**

---

---

---

---

Mg. Olga Lucia Sanabria Diago  
Directora

---

Mg. Jaime Eduardo Muñoz  
Jurado

---

Doctor Daniel Debouck  
Jurado

Fecha de sustentación: Popayán 24 de febrero de 2006

## AGRADECIMIENTOS

Expreso sinceros agradecimientos a las siguientes instituciones y personas:

A la Universidad del Cauca, Programa de Biología, a la Unidad de Microscopía Electrónica, al Herbario CAUP, por haber construido ese espacio para crecer como ser humano y enriquecerme cada día con nuevos conocimientos y experiencias.

Al Proyecto Conservación y manejo *In situ* de arvenses y cultivares en el suroccidente colombiano (SENA-COLCIENCIAS 999 VRI-UNICAUCA), por la financiación y apoyo brindada a esta investigación.

A las autoridades Indígenas, Campesinas y agricultores de las comunidades de Miraflores- Silvia, Caldon, Totoró, Cauca, Circunvalar del volcán Galeras en Nariño y Valle de Sibundoy, Putumayo por su valiosa ayuda en el reconocimiento de las plantas y aceptación en sus espacios comunitarios ya que sin ellos no hubiera sido posible los resultados de este trabajo.

A la Fundación Cultural del Putumayo, especialmente a Segundo Bravo, a Alexander Mejía y Willian Daza por su oportuna y valiosa colaboración en el desarrollo de este trabajo. Así mismo a Belisario Cepeda de la Universidad de Nariño

A OLGA LUCIA SANABRIA DIAGO, profesora de la Universidad del Cauca, directora de trabajo de grado y coordinadora del Proyecto, por su interés, apoyo y confianza al permitirme desarrollar este proyecto.

A JAIME EDUARDO MUÑOZ, profesor de la Universidad Nacional sede Palmira por la acogida y cooperación durante el desarrollo del presente estudio.

Al Doctor DANIEL DEBOUCK, Unidad de Recursos Genéticos – Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, por la asesoría y motivación al trabajo.

A los profesores CESAR PONCE y GABRIEL DE LA CRUZ por sus aportes y apoyo en la realización de este estudio.

Al profesor MIGUEL ÁNGEL ALFARO MARTÍNEZ de la Universidad Autónoma de México UNAM por su colaboración en la identificación de los materiales colectados y por sus aportes en la elaboración de los resultados.

A ORLANDO TORO de la Unidad de Recursos Genéticos del Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT y ARTURO MARTOS técnico de la Estación Experimental del CIAT Santa Rosa, Cauca por sus asesorías en la identificación del material vegetal.

A mis compañeros Yohana Orjuela, Efrén Muñoz, Carlos Navia, Luis Rosas, quienes trabajaron en el proyecto conservación y manejo *In situ* en el suroccidente colombiano por todos los momentos que compartimos y porque siempre estuvieron ahí, dispuestos a ayudarme en los momentos que mas los necesite.

A mis compañeros y en especial a Andres Possó, Andres Mondragón, Alba Lucia Arcos del Laboratorio Integrado de Investigaciones de la Universidad Nacional sede Palmira, por su colaboración y disposición en el desarrollo de esta investigación.

A mis padres ADAN MOLANO, MELVA PINO, FANNY RODRIGUES; a mis hermanos: MABEL, FERNANDO, JORGE: a toda mi familia, por la confianza, apoyo, motivación y palabras de aliento para seguir siempre adelante.

A mis amigos Roger Figueroa, Julián Narváez, Mauricio González, Alejandro Martínez, Yaliana Tafur, Natalia Muñoz, Julián Molano por ser cómplices de mis anhelos y por estar presente en momentos de alegrías y tristezas.

## RESUMEN

Se presentan resultados sobre el estado biológico (morfológico y taxonómico) del material vegetal colectado como *fríjol cacha* inicialmente planteada como *Phaseolus dumosus* M el cual es recurso nativo, utilizado y manejado tradicionalmente por las comunidades indígenas y campesinas como alimento en el suroccidente colombiano.

Comprendió tres etapas metodológicas: En la primera se colectaron 26 ejemplares en hábitats, agrohábitats y agroecosistemas de los departamentos de Cauca (Silvia y Totoró), Nariño (circunvalar Volcán Galeras) y Putumayo (Valle del Sibundoy). La segunda corresponde la caracterización morfológica se describieron 29 caracteres entre específicos y agronómicos, y se identificaron las características que aportan a la variabilidad; la identificación se realizó con especialistas. La tercera corresponde al análisis de la diversidad genética de esta especie en 33 ejemplares de las tres regiones muestreadas utilizando la técnica molecular RAMs (Random Amplified Microsatellites)

Se establece que *P. dumosus* tiene una mayor distribución a lo largo del suroccidente colombiano con una menor variación intraespecífica, en contraste, *P. coccineus* Presenta menor distribución ecogeográfica con una mayor variación en la morfología de las semilla y que la correlación de la caracterización morfológica y la molecular permitió diferenciar los materiales de acuerdo a la especie como también identificar materiales muy similares existentes en la colección como el las dos variantes y sus posibles híbridos de la especie *Phaseolus dumosus*. Se pudo considerar que morfológicamente se expresa diversidad mientras que a nivel molecular la especie es muy homogénea.

Este estudio se desarrolló en el marco del proyecto “Conservación y manejo *In situ* de arvenses y cultivares tradicionales en el suroccidente colombiano” Código Colciencias 1103-07-12529 Código 999 VRI (Sanabria, 2003)

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
Resumen	
INTRODUCCIÓN	16
1. OBJETIVOS	18
1.1 General	18
1.2 Específicos	18
2. ANTECEDENTES	19
3. MARCO TEORICO	22
3.1 Etnobotánica	22
3.2 Evolución de las plantas	22
3.2.1 Selección natural	23
3.2.2 Selección artificial	24
3.3 Domesticación	26
3.3.1 Base genética para la evolución de las plantas cultivadas y su relación con morfología	28
3.4 Evolución bajo domesticación de <i>Phaseolus</i>	30
3.5 Conservación <i>In situ</i> en agroecosistemas	32
3.6 Caracterización de la diversidad	33
3.6.1 Caracterización Fenotípica	34
3.6.2 Caracterización Molecular	35
4. Características generales de <i>Phaseolus dumosus</i> Macfady y <i>Phaseolus coccineus</i> Linneo	37
4.1 Aspectos taxonómicos de <i>Phaseolus dumosus</i> Macfady	37

4.1.1 Descripción botánica	38
4.1.2 Distribución	39
4.2 <i>Phaseolus coccineus</i> Linneo.	39
4.2.1 Descripción botánica	39
4.2.2 Distribución	40
5. ZONA DE ESTUDIO	42
5.1 Departamento del Cauca	42
5.2 Departamento del Nariño	44
5.3 Departamento del Putumayo	46
6. METODOLOGÍA	49
6.1 Revisión bibliografica	49
6.2 Fase de campo	49
6.2.1 Trabajo etnobotánico	49
6.3 Trabajo de herbario	51
6.4- Trabajo de laboratorio	51
6.4.1 Descripción morfológica	51
6.4.2 Caracterización molecular	56
6.5 Sistematización	62
7. RESULTADOS DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA	63
7.1 Hábitats del frijol cache <i>Phaseolus dumosus</i> Macfady	63
7.2 Descripción fase germinativa	70
7.3 Descripción fase reproductiva	77
7.3.1 Variantes determinadas dentro de <i>Phaseolus dumosus</i> M	77
7.3.2 Descripción de Posibles híbridos de <i>Phaseolus dumosus</i> M	93

7.4 Patrones de diversidad genotípica del frijol <i>cacha Phaseolus dumosus</i> M. Datos de marcadores RAMs comparados con la descripción morfológica	112
7.4.1 Análisis descriptivo	112
8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	118
9. CONCLUSIONES	123
10. RECOMENDACIONES	125
11. BIBLIOGRAFIA	127
ANEXOS	135

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Cronología de nombres latinos dados a una especie del genero <i>Phaseolus</i> con origen y estatus	38
Tabla 2. Patrones del bacteriófago Lambda	58
Tabla 3. Cebadores utilizados en microsatélites RAMS	59
Tabla 4. Temperatura de hibridación utilizada para cada primer	59
Tabla 5. Perfil térmico para RAMs.	60
Tabla 6. Cócteles para la amplificación con RAMs ( $\mu$ l)	60
Tabla 7 Cóctel para la amplificación por RAMS.	60
Tabla 8. Colectas, descripciones <i>In situ</i> y hábitats del frijol <i>P. dumosus</i> Macfady en el departamento del Cauca	64
Tabla 9. Colectas, descripciones <i>In situ</i> y hábitats del frijol <i>P. dumosus</i> en el departamento de Nariño	66
Tabla 10 Colectas, descripciones <i>In situ</i> y hábitats del frijol <i>P. dumosus</i> en el departamento de Putumayo (Valle del Sibundoy)	68
Tabla 11. Modalidades fase vegetativa para variables cualitativas y promedios variables cuantitativas de <i>Phaseolus dumosus</i> M	73
Tabla 12. Modalidades de descripción morfológica de variables cualitativas y promedios cuantitativos para flores de variantes de semilla amarilla y semilla blanca	81
Tabla 13. Modalidades de variables cualitativas y promedios cuantitativos Para vainas de las variantes de semilla amarilla y semilla blanca	87
Tabla 14. Promedios de variables cuantitativas y modalidades cualitativas de semillas para la especie <i>P. dumosus</i>	91
Tabla 15. Características de las dos variantes de <i>Phaseolus dumosus</i>	93

Tabla 16. Modalidades de variables cualitativas y promedios cuantitativos de la descripción floral de posibles híbridos.	98
Tabla 17. Modalidades de variables cualitativas y promedios cuantitativos de vainas para posibles híbridos.	103
Tabla 18. Modalidades de variables cualitativas y Promedios cuantitativos de semillas para posibles híbridos	109
Tabla 19. Características de los posibles híbridos de <i>Phaseolus dumosus</i> M	110
Tabla 20. Caracteres de variantes y posibles híbridos de <i>Phaseolus dumosus</i> M.	110
Tabla 21. Cebadores utilizados, N° de bandas totales, N° bandas polimórficas para la evaluación de la diversidad genética en <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i>	112

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Mapa de localización del área de estudio	48
Figura 2. Entrevistas y recorridos en la metodología etnobotánica	50
Figura 3. Colectas, fase germinativa de la descripción morfológica	54
Figura 4. Ilustraciones del <i>Phaseolus dumosus</i> Macfady	55
Figura 5. Laboratorio biología molecular	56
Figura 6. Hábitats del frijol <i>P. dumosus</i> L en el Departamento de Cauca	65
Figura 7. Hábitats del frijol <i>P. dumosus</i> en el Departamento de Nariño	67
Figura 8. Hábitats del frijol <i>P. dumosus</i> en el Departamento de Putumayo	89
Figura 9. Tipo Germinación epigea <i>P. dumosus</i> M	71
Figura 10. Numero Tipo de germinación para <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i>	71
Figura 11. Diferencia del color en la venacion del envés de la hojas primarias entre las especies <i>P. dumosus</i> , <i>Phaseolus coccineus</i>	72
Figura 12. Color cotiledón para <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i>	72
Figura 13. Color flores comparativo entre las variantes y la especie <i>P. coccineus</i>	78
Figura 14. Disposición Estigmas entre variantes de la especie <i>P. dumosus</i> con la especie <i>P. coccineus</i>	78
Figura 15. Posición estigma <i>P. dumosus</i> , <i>P. coccineus</i>	79
Figura 16. Bractéolas florales lanceoladas de las variantes en la especie <i>P. dumosus</i>	79
Figura 17. Diámetro y longitud promedio de bractéolas florales para <i>P. dumosus</i> variantes de semilla amarilla y blanca	80

Figura 18. Perfil predominante de la vaina de variantes por especie entre <i>P. dumosus</i> y <i>P. Coccineus</i>	85
Figura 19. Vainas de variantes en la <i>P. dumosus</i> , comparada con <i>P. coccineus</i> .	86
Figura 20. Semillas de variantes para la especie <i>P. dumosus</i>	90
Figura 21. Semillas por variante evaluados para forma de hilum de la especie <i>P. dumosus</i> .	91
Figura 22. Frecuencia para colores de semilla de variantes por especie entre <i>P. dumosus</i> y <i>P. coccineus</i>	91
Figura 23. Color flores para posibles híbridos de <i>P. dumosus</i> M	94
Figura 24. Posición estigma para posibles híbridos de <i>P. dumosus</i> M	94
Figura 25. Posición estigma entre variantes y posibles híbridos de <i>P. dumosus</i> M. con <i>P. coccineus</i>	95
Figura 26. Bractéolas florales posibles híbridos PSCV008-PSCV043	95
Figura 27. Color de flor posibles híbridos PSCV022, PSCV040	96
Figura 28. Disposición Estigma floral posibles híbridos PSCV022, PSCV040	96
Figura 29. Bractéolas florales posibles híbridos PSCV022, PSCV040	97
Figura 30. Vainas por especie evaluadas de posibles híbridos de <i>P. dumosus</i> L con <i>P. coccineus</i>	100
Figura 31. Grado de curvatura del las vainas entre posibles híbridos y variantes de <i>P. dumosus</i> M con <i>Phaseolus coccineus</i>	101
Figura 32. Diferenciación vainas posibles híbridos <i>Phaseolus Dumosus</i> , <i>Phaseolus coccineus</i>	101
Figura 33. Diámetro y longitud de las vainas de variantes y posibles híbridos de <i>P. dumosus</i> M con <i>P. coccineus</i>	102
Figura 34. Forma de hilum entre posibles híbridos y variantes de <i>P. dumosus</i> M con <i>Phaseolus coccineus</i>	104
Figura 35. Forma de hilum de posibles híbridos	

y variantes de <i>P. dumosus</i> L con <i>Phaseolus coccineus</i>	105
Figura 36. Frecuencia para colores Primarios de semillas entre posibles híbridos y variantes de <i>P. dumosus</i> con <i>Phaseolus coccineus</i>	105
Figura 37. Ancho de semillas entre posibles híbridos y variantes de <i>P. dumosus</i> L con <i>Phaseolus coccineus</i> M	106
Figura 38. Grosor de semillas entre posibles híbridos y variantes de <i>P. dumosus</i> L con <i>Phaseolus coccineus</i> M	106
Figura 39. Peso de semillas entre posibles híbridos y variantes de <i>P. dumosus</i> L con <i>Phaseolus coccineus</i>	107
Figura 40. Diámetro del hilum entre posibles híbridos y variantes de <i>P. dumosus</i> L con <i>Phaseolus coccineus</i>	107
Figura 41. Longitud de hilum entre y posibles híbridos y variantes de <i>P. dumosus</i> L con <i>Phaseolus coccineus</i>	108
Figura 42. Semillas posibles híbridos.	108
Figura 43. Patrón de amplificación generado por el cebador TG, de materiales de <i>P. coccineus</i> y <i>P. dumosus</i> (variante semilla amarilla)	113
Figura 44. Patrón de amplificación generado por el cebador TG para la variante de semilla blanca y posibles híbridos de <i>P. dumosus</i> M	114
Figura 45. Dendrograma de la estructura genética de 33 individuos de <i>Phaseolus</i> spp.	117

## LISTADO DE ANEXOS

Anexo 1. Colectas realizadas en el suroccidente colombiano	136
Anexo 2. Colecta realizada en el suroccidente colombiano para <i>Phaseolus dumosus</i> M	138
Anexo 3. Descriptores utilizados para la caracterización morfológica de 43 materiales de la colección de <i>Phaseolus dumosus</i> y <i>Phaseolus coccineus</i>	141
Anexo 4. Listado de la colecta para pruebas moleculares	143
Anexo 5. Materiales de referencia CIAT	144
Anexo 6. Protocolo para la micro extracción de ADN de robles colombianos Dellaporta Modificado.	145
Anexo 7. Tinción con plata para ácidos nucleicos y proteínas	146



## INTRODUCCIÓN

La presente investigación esta enmarcada en el proyecto “Conservación y manejo *In situ* de arvenses y cultivares tradicionales en el suroccidente Colombiano” Sena-Colciencias-999VRI/, 2002 (Sanabria, 2002), realizada en los departamentos de Cauca, Nariño y Putumayo. Uno de los objetivos fue reconocer el estado de formación de variantes del frijol cacha *Phaseolus dumosus* Macfady. Que según Sanabria (2002), probablemente deriva a partir de las practicas de manejo y conservación mantenidas por las comunidades indígenas y campesinas en agroecosistemas tradicionales.

Según Altieri y Merrick (1989), una característica sobresaliente de la agricultura tradicional, es el alto grado de diversidad vegetal tanto en tiempo como en espacio propiciada a través de los policultivos o de los sistemas de aprovechamiento forestal. Tales sistemas representan una estrategia para promover la diversidad en la dieta alimenticia, así como una fuente de ingresos, reducción de la incidencia de plagas y enfermedades y la intensificación de la producción a través de los recursos limitados.

Por otra parte la región andina colombiana se caracteriza por su diversidad en pisos térmicos y climáticos, lo cual deriva en una gran riqueza ecológica; aunque la mayoría de estas zonas están poco estudiadas y una parte se encuentra en proceso de desaparición (Rangel, 1987). Esta área se encuentra habitada por comunidades campesinas e indígenas las cuales han conservado sus conocimientos ancestrales de manejo de los cultivos y de utilización de la diversidad (Sanabria, 2001).

En Colombia sobresale la familia LEGUMINOSAE por su importancia comestible. Cuenta con numerosas especies distribuidas en todos los medios climáticos y ecológicos del trópico; distinguiéndose el genero *Phaseolus* con *P. vulgaris*, *P. coccineus*, *P. dumosus*, *P. lunatus*, *P. acutifolius* las cuales representan un complemento nutricional indispensable en la dieta alimenticia de comunidades indígenas y campesinas. El frijol es considerado como un recurso vegetal importante para el consumo humano. América Latina, es en particular, la zona de mayor producción y consumo, estimándose en el 30% de la producción mundial (Voysest, 1983). La alta demanda por el frijol común *Phaseolus vulgaris* Linneo, ha hecho que se intensifiquen los esfuerzos para mejorar la productividad y calidad de la semilla.

El resultado ha sido una considerable reducción de la diversidad genética producto de la continua selección de individuos con las características deseadas, ya que estas son obtenidas de cruces entre variedades modernas genéticamente relacionadas, conduciendo gradualmente a una uniformidad genética de las formas cultivadas (Tanksley y McCouch, 1997). Esta situación hace necesaria la búsqueda de fuentes alternativas de este grano y de la misma manera, la introducción de variabilidad genética que le permita adquirir resistencia a los diversos patógenos que lo afectan y disminuyen enormemente su productividad. Una fuente alternativa para esta problemática es el frijol cacha (*Phaseolus dumosus* Macfady) llamado de esta manera por las comunidades del suroccidente colombiano. De este recurso no se conoce de manera suficiente su valoración cultural, sus formas silvestres, ni su potencial en el fitomejoramiento (Sanabria, 2002). Por lo cual es importante considerar la diversidad genética de esta especie para a un mejoramiento vegetal (Sanabria, 2002).

En un sentido más amplio y bajo el planteamiento del Proyecto Conservación y manejo In situ de arvenses y cultivares en el suroccidente colombiano Sena-Col 999 VRI se espera no solo contribuir al proyecto general de esta investigación sino aportar información sobre la morfología de la especie y así mismo reconocer las posibles variaciones de su expresión fenotípica para evidenciar el estado de formación de variantes y deducir la diversidad presente en el suroccidente colombiano.

## 1. OBJETIVOS

### 1.1 Objetivo general

Realizar la descripción morfológica de variantes del frijol cachea *Phaseolus dumosus* Macfady, en agroecosistemas tradicionales del suroccidente colombiano mediante un enfoque etnobotánico.

### 1.2 Objetivos específicos

Identificar las posibles variantes del frijol cachea *Phaseolus dumosus* Macfady en los diferentes hábitats.

Caracterizar mediante la morfología y respuestas fisiológicas el material de campo correspondiente a las diferentes variantes de la especie *Phaseolus dumosus* Macfady.

Caracterizar con la técnica molecular RAMs las variantes encontradas en campo con respecto al material de referencia.

## 2. ANTECEDENTES

La familia Leguminosae cuenta con 653 géneros y casi 18.000 especies, en Colombia esta familia tiene mayor representación en la subfamilia Papilionoideae la cual cuenta con 94 géneros y 472 especies (Forero, 2004), de los cuales el género *Phaseolus* representa importancia alimenticia como fuente proteínica para los grupos humanos (Gepts, 1994). De las aproximadamente 50 especies que posee el género sólo 5 se cultivan en la actualidad (Debouck, 1991; Gepts, 1994). El cultivo extensivo y el mayor consumo de *P. vulgaris* hacen de esta la especie más manejada dentro del género y a nivel mundial es la tercera leguminosa de grano más importante (Singh, 1998). Las otras 4 especies cultivadas son, en orden de importancia: *P. lunatus*, *P. coccineus*, *P. acutifolius* y *P. dumosus* o *polyanthus* (Basurto, 2003).

J. Smartt, (1973), Schmit and D.G Debouck, (1991). Piñero y Eguiarte, Schmit.V, y otros (1993), han abordado estudios biosistemáticos y realizado observaciones sobre el origen de *P. vulgaris* y *P. coccineus*, *P. polyanthus*; utilizando técnicas de electroforesis y uso de polimorfismos de DNAcp en materiales Centroamericanos.

Para el suroccidente colombiano existen estudios en morfología, fenología, etnobotánica, molecular; con los cuales se ha obtenido conocimiento de la diversidad presente para esta zona; entre estos se encuentran los trabajos de Delgado y Betancourt (1996), los cuales hicieron una descripción morfológica con materiales donados por el CIAT. Guaca y Rosas (1996), Sanabria y Zambrano (1997), realizaron una descripción fenológica y etnobotánica a partir de colectas de campo y Schmit y Debouck (1991) y Luque (2001), efectuaron caracterizaciones moleculares con base en materiales colectados del CIAT, Mesoamericanos y suramericanos particularmente de Colombia, la diferencia con este estudio radica en que este se baso en colectas realizadas en campo y a partir de estas se estudiaron las expresiones morfológicas de esta especie lo cual contribuye a reconocer las posibles variaciones de su expresión fenotípica, evidenciar el estado de formación de variantes y por ende deducir la diversidad presente en el suroccidente colombiano.

Sanabria y Zambrano (1997), realizaron una descripción botánica y etnobotánica del germoplasma nativo comestible del frijol cachea *Phaseolus polyanthus* Greenman. Evaluaron la producción *In situ* de acuerdo al manejo dado por cada productor o campesino en la zona de Miraflores (Silvia) y Totoró, Cauca. Señalan que el frijol cachea *Phaseolus polyanthus* Greenman como un recurso fitogenético promisorio, debido a su rusticidad, resistencia a condiciones adversas (climas, suelos), facilidades de manejo y valor nutritivo constituyendo una alternativa

alimentaría y suplementaria para las comunidades indígenas y campesinas del nororiente.

Sanabria (2001), para la zona de Tierradentro, Cauca, Colombia, reporta al frijón cacha como un recurso importante dentro de las comunidades Paeces (Nasa) que habitan esta región, subraya que esta planta se encuentra en zonas ruderales o sembrado junto a las viviendas entre cercas y árboles o entre la basura de los huertos y que sus semillas se usan como alimento y las hojas como medicina para inflamación e infecciones; reportó para esta zona 6 variaciones reconocidas comúnmente por colores de las semillas y flores como amarillo y blanco con flor blanca y semillas rojas, moradas, café y pintadas de blanco con morado como con flor morada; que siempre florecen y se cosechan todo el año siendo muy comunes en esta zona.

En el estudio realizado por Sanabria y Balcazar (2000) en la región de Tierradentro, se reconocen y describen los procesos de uso y manejo de los vegetales comestibles, reportando también el conocimiento etnobotánico y agronómico de los frijoles manejados por indígenas Nasa de esta zona. Entre los recursos vegetales comestibles las autoras encontraron 6 variantes de frijón cacha con semillas de color amarillo, blanco, rosado y morado. Usan la semilla como alimento ya sea verde o en seco en sopas de maíz y mote.

Guaca y Rosas (1996), en el municipio de Silvia (Cauca) vereda de Miraflores, caracterizaron la fenología, crecimiento y rendimiento de dos variedades de *Phaseolus vulgaris* (Sangre Toro y Rumichaca) y dos variedades tradicionales de frijón cacha considerado como *Phaseolus polyanthus* (Cacha morado y Cacha amarillo) en unicultivo. Encontraron que las variedades de frijón cacha y *P. vulgaris* presentan una fase vegetativa similar la cual se desarrollo en 28 días. Los resultados obtenidos con respecto al tamaño de las semillas muestran que la especie *P. polyanthus* presentan mayor tamaño con respecto a *Phaseolus vulgaris*, el análisis de varianza demuestra que no hay diferencias significativas entre los pesos de las semillas estudiadas; la forma de las semillas elegidas presentaron una forma dominante ovoide para las dos variantes de *P. polyanthus*. Los autores afirman que las dos variedades descritas morfológicamente y fisiológicamente presentaron un buen comportamiento en su viabilidad, vigor y germinación.

En México, Basurto y Alfaro (1992), realizaron estudios sobre el frijón abreviador; una forma precoz de *Phaseolus coccineus* L. ssp. *darwinianus* Hernández X. y Miranda C, en Nauzontla, Puebla, México. Los autores indican que en Nauzontla, Puebla se reconocen dos variantes de frijón *Phaseolus coccineus* L. ssp. *darwinianus* Hernández X. y Miranda C: a) la forma común y b) la forma precoz o abreviador. Describieron como criterios de selección, la rápida cocción y el buen sabor y encuentra gran aceptación sea seco o tierno, igualmente es un alimento económicamente valioso y con un gran valor cultural por parte de los agricultores campesinos. Evaluaron ambas variantes en función de su comportamiento fenológico y fenométrico encontrándose en este caso diferencias significativas en

la formación de botones florales en el fríjol gordo abreviador se inicia a los 82 días después de la siembra alcanzando un 70% de individuos con botón y en cuanto al fríjol gordo común el inicio de la floración es posterior a los 80 días de sembrada alcanzando un 40% de individuos con botón.

Delgado y Betancourt (1996), en Obonuco, Pasto (Nariño) evaluaron la variabilidad existente tanto para las características cuantitativas como para las cualitativas en las especies de fríjol *Phaseolus dumosus* y *Phaseolus coccineus*. describieron las características morfológicas o fenotípicas básicas como tipo de raíz, tallo, habito de crecimiento, ramas, hojas, inflorescencias, flor, vainas y semillas. Los resultados presentaron variabilidad para la mayoría de los descriptores evaluados, comprendidos en 51 variables cualitativas y 19 variables cuantitativas, con excepción de ciertos descriptores, en los cuales las accesiones evaluadas mostraron el mismo estado con una frecuencia del 100% para ciertas características cualitativas como: marcas claras en hojas primarias (ausente), patrón de crecimiento (indeterminado trepador), apertura de las alas (ausente), color del fondo de la vaina (verdosa), forma Hilum (ovalado), germinación de las semilla (ausente). Los caracteres que presentaron variabilidad en su mayoría confieren ventajas adaptativas en general como son: tipo de germinación, patrón de crecimiento forma del estigma, color de cotiledones a emergencia, presencia de antocianinas en los tallos. Como conclusión los autores indican que los materiales fueron colectados en un centro de diversidad primaria, y que posiblemente los materiales están en un proceso inicial de domesticación y posee ventajas adaptativas de supervivencia en general.

### **3. MARCO TEÓRICO**

#### **3.1 La Etnobotánica**

Este proyecto tiene como marco referencial la etnobotánica y se correlaciona con la morfología y la biología molecular para evidenciar y comprobar las posibles variantes encontradas en campo que están siendo manejadas por los grupos étnicos del suroccidente.

La etnobotánica según Hernández-X (1989), es el campo científico que estudia las interrelaciones que se establecen entre las comunidades humanas y las plantas a través del tiempo y en diferentes ambientes. Así, los elementos de las interrelaciones hombre: planta, motivo de estudio de la etnobotánica, están determinados por dos factores. a) el medio (las condiciones ecológicas) y b) por la cultura a través de la dimensión tiempo, apreciándose, que estos cambian cuantitativamente y cualitativamente el medio por modificaciones en los componentes de dicho ambiente por la acción de las comunidades y la cultura.

Según Sanabria (1998), las metodologías en etnobotánica involucran métodos y técnicas apropiadas desde otras disciplinas, de tal forma que se relacionan las ciencias naturales y las sociales en sus contextos biológicos, antropológicos y ecológicos. Considera que la etnobotánica puede aportar elementos para el entendimiento de los factores socioculturales que inciden en el uso, manejo, conservación y mejoramiento de los recursos vegetales, en los diversos ambientes y entre distintas culturas. Según la autora, de esta forma cobra importancia la etnobotánica como interdisciplina aplicada a problemáticas tales como la producción alimentaria tradicional, el mejoramiento en salud comunitaria, así como el crecimiento de la calidad ambiental en las diversas regiones.

#### **3.2 Evolución de las plantas**

La evolución es un cambio acumulativo en las características de las poblaciones de plantas u otros organismos; que aparece en el transcurso de las generaciones sucesivas relacionadas por la descendencia y que condicionan la aparición de nuevas especies, géneros y familias. La evolución puede producirse tanto por la selección natural como por la ejercida por grupos humanos, ambas caracterizadas por un aspecto fundamental, se requiere variabilidad dentro y entre la poblaciones para hacerlo (Grant , 1989).

Las mutaciones son la fuente principal de variabilidad que constantemente genera evolución de los seres vivos y muchas consiguen fijarse en homocigosis. Es decir cuando la planta transmite a su descendencia las características que tiene o si transmite mayor grado de identidad o correspondencia entre fenotipo y genotipo, mayor grado habrá de homocigosis. Cuanto más alejados evolutivamente estén dos especies, mayor número de aminoácidos diferentes contendrá la misma proteína de ambas. Utilizando estas diferencias se pueden construir árboles filogenéticos (Fontdevila, 1986).

Si bien la mutación y la selección natural intervienen en el mantenimiento de la diversidad en hábitats silvestres no intervenidos también participa junto con la selección artificial y el manejo del agricultor en promover la diversidad y procesos de domesticación en sistemas tradicionales de cultivo o agroecosistemas (Baena y otros 2003).

### **3.2.1 Selección natural**

El mecanismo de selección natural fue formulado inicialmente por Darwin (1864), quien señaló que “la reproducción de variaciones por ligeras que sean y cualquiera que sean las causas, si son en algún grado provechosas a los individuos de una especie, tenderán a conservarse y en general, serán heredadas a la descendencia”. Señaló que las especies vegetales mas comunes que tienen gran dispersión son generalmente las que presentan una gran amplitud de variación debido a que están expuestas a diferentes condiciones físicas y a competencia con distintos conjuntos de seres orgánicos, y lo resume indicando: “El cambio de condiciones de vida es de suma importancia en la producción de variabilidad” (Darwin, 1964).

Dobzhansky y otros (1980), afirman que la selección natural es el proceso fundamental que dirige los cambios evolutivos a través del tiempo. Sin embargo, sólo puede darse selección natural si hay alto grado de variabilidad hereditaria, de igual forma han sugerido que los cambios mutacionales a nivel molecular y una gran mayoría de los polimorfismos encontrados en las poblaciones naturales no son ni útiles ni perjudiciales sino simplemente neutros, ya que la selección natural no favorece pero tampoco discrimina las variaciones neutras. Su destino en las poblaciones está determinado por el azar.

Para Dobzhansky (1951), la reproducción sexual radica en la formación de una inmensa diversidad de genotipos. Tal diversidad genotípica de las poblaciones es regulada mediante el grado de alogamia o autogamia ya que las especies autogamas producen genotipos diferentes, generalmente homocigóticos. Por otra parte, en especies alógamas, la polinización cruzada generalmente conlleva al

aumento en la heterocigocis, y por lo tanto al incremento en los niveles de diversidad genética en las poblaciones (Avers, 1986).

Miranda (1967), señala que el cruzamiento interespecífico entre *Phaseolus vulgaris* y *P. coccineus* se atribuye a: 1) la convivencia de ambas especies en forma simpátrica; 2) ausencia parcial de mecanismos de aislamiento reproductivo entre dichas especies; 3) la existencia de polinización cruzada; 4) la presencia de insectos polinizadores; y 5) coincidencia de los períodos de floración de las dos especies.

Miranda (1979), indica que la supervivencia natural de las formas silvestres del frijol común se debe probablemente a la gran producción de semillas por planta y a la latencia de dichas semillas. Hace notar que el hábito de crecimiento indeterminado (guiador), la producción de muchas ramas por planta, muchas vainas por inflorescencia, muchas semillas por vaina, muchas semillas por gramo y un ciclo vegetativo largo, son caracteres que también han sido establecidos por selección natural; señala que por efecto de la selección por las comunidades humanas, en las variedades más domesticadas, se ha reducido o eliminado el letargo de las semillas. Esta característica ha sido útil para uniformizar la germinación de la semilla y a reducir el número de semillas por planta y el ciclo vegetativo, pero se ha aumentado el tamaño de la vaina y de la semilla.

Miranda (1979), recopila información de varios investigadores donde se muestra que en frijol común existe de 0 a 13% de cruzamiento natural, señalando que éste es mayor en las variedades cultivadas que en las silvestres. Indica que el grado de cruzamiento natural guarda cierta relación con la diversidad genética, la cual es mayor en las variedades cultivadas que en las silvestres. De esta forma, el cruzamiento natural ha intervenido en la recombinación genética y en la segregación subsecuente, donde actúa la selección.

### **3.2.2 Selección artificial**

Para Darwin la selección inconsciente difiere de la selección metódica. La primera tiene la intención de generar a largo plazo sin ningún pensamiento en el futuro. Así, la selección metódica es un intento sistemático de modificar la raza de acuerdo con un modelo predeterminado. Mientras que la selección inconsciente es el resultado de las acciones inmediatas por el hombre para obtener con el tiempo, un cambio en la reserva genética de los domesticados.

Mangelsdorf (1952), indica que la selección natural es en general igualmente importante en la evolución natural, así como en la evolución bajo domesticación.

La efectividad de la selección natural en plantas cultivadas es ilustrada por ejemplo por la rapidez con la que las variedades de polinización libre de maíz se adaptan a nuevos ambientes. La selección natural es efectiva en ambientes modificados por las poblaciones humanas, pero es aún más efectiva la selección artificial.

Ramos (1972), menciona que a través de la selección artificial, las poblaciones humanas han liberado a las plantas de las presiones competitivas del medio biótico en el sistema agrícola, las han adaptado a múltiples condiciones ecológicas y ha conservado mutaciones y recombinaciones que probablemente no hubieran subsistido bajo selección natural.

Según Hernández (1985), se entiende por cultivar cualquier planta que ha sido sometida, en mayor o menor grado, al cultivo. Para el caso, se tiene que hacer un juicio, una decisión cuidadosa que tome en cuenta tres aspectos como consecuencia de la acción humana: primero, intención consciente o acción inconsciente; segundo, la modificación en el proceso de selección natural sobre la planta y tercero, la modificación del medio.

Rindos (2000), afirma que la selección metódica dada por métodos o técnicas de mejoramiento hechas por los grupos étnicos están relacionados con la búsqueda de objetivos por medio de una comprensión sofisticada de sistemas de cría. Lo aplica a las primeras interacciones del hombre con las plantas. Asume que las poblaciones humanas actuales controlan su destino y olvidan que sus opciones, cuando se trata del mundo biológico vienen dictadas por procesos sobre los cuales no tiene ningún control.

Rindos (1984) y Harlan (1975), han planteado varios caminos de domesticación: de plantas silvestres a domesticación incipiente y de estas plantas cultivadas, mediante el proceso de domesticación, durante el cual ocurre:

a) Selección asociada a la cosecha o recolección.

b) Selección de arvenses, consideradas como plantas de estadio intermedio entre silvestres y domesticadas, de los cuales el ser humano ha tomado ventaja en los nuevos nichos ecológicos por el creados.

c) Selección de los ciclos de inter cruzamiento, los cuales son fuente de variabilidad y base de selección de plantas. Tales son los mecanismos de aislamiento de poblaciones, separación geográfica y ecológica, diferencias en

tiempo de crecimiento, desarrollo y cambios en la forma de producción; así como también las migraciones sociales, los mercadeos, las practicas culturales y una manipulación deliberada, repetitiva, han estimulado el intercambio de información genética.

Miranda (1979), para México señala que la formación de *Phaseolus coccineus* ssp. *darwinianus* se realizo a través de la hibridación entre *P. coccineus* L y *P vulgaris* L. la cual fue favorecida por: 1) la costumbre de sembrar las dos especies asociadas con maíz; 2) la intervención de los agentes polinizadores en los lugares de origen; 3) factores ecológicos que favorecen, prolongan y hacen coincidir el periodo de floración de ambas especies. 4) la mayor resistencia de los híbridos a las plagas y enfermedades, que las especies progenitoras; 5) la mejor expresión de muchos caracteres morfológicos en los híbridos que han servido como genes indicadores en la selección artificial. Este autor sugiere que todas estas características fisiológicas y morfológicas que presenta *Phaseolus coccineus* ssp. *darwinianus*, en relación con las especies progenitoras, son el resultado evidente de la selección dada por las comunidades humanas.

### **3.3 Domesticación**

Harlan (1975), plantea que una planta domesticada es aquella que ha sido alterada genéticamente en su estado silvestre cuando ésta se encuentra en el mismo ámbito que los grupos humanos. Puesto que la domesticación es un proceso evolutivo, una planta totalmente domesticada depende de las comunidades humanas para sobrevivir. Por lo tanto, la domesticación implica un cambio en la adaptación ecológica y se asocia a la diferenciación morfológica.

Rindos (2000), distingue tres tipos principales de domesticación:

La Domesticación incidental resulta de la interacción de una población humana no agrícola y algunas de las plantas que le sirven de alimento. Este tipo de domesticación incluye, por parte de los grupos sociales, acciones de protección y dispersión. Bajo una domesticación incidental los cambios en la morfología y distribución de una especie son el resultado del comportamiento trófico de un determinado grupo poblacional (Rindos, 2000).

La Domesticación especializada supone una intensificación de ciertas tendencias que se dan en la domesticación incidental y la aparición de fenómenos nuevos que afectan a la evolución de los domesticados. El aspecto de la domesticación

especializada más importante para la sociedad es que ésta se convierte en un agente más o menos obligado en relación con la planta domesticada.

Según Rindos (2000), en la domesticación agrícola intervienen practicas como el desherbaje, el riego, el arado, la cosecha, la selección y almacenaje de la semilla, la escarda y las condiciones de labranza elevó la productividad y el índice de evolución del domesticado. La domesticación agrícola está, pues, conceptualmente muy próxima a la domesticación tal: la diferencia estriba en el hecho que la domesticación especializada y la domesticación incidental son consideradas como puntos de partida de interacción grupo social-planta.

Según Harlan y De Wet (1965), la domesticación no solamente es observable a partir de las plantas silvestres o domesticadas, sino también, de las modificaciones al medio ecológico en el cual se encuentran. Sugieren que la domesticación de plantas es una evolución del medio ambiente creado por el hombre; ello implica también, un cambio de hábitat y una transformación de los ecosistemas naturales a cultivadas.

Conforme a Mangelsdorf (1952), en plantas cultivadas, no existe evidencia directa de que la domesticación por si misma produzca nuevas variaciones hereditarias, sino que la mutación es la principal fuente de variación. En especies bien adaptadas a su ambiente, la tasa de mutación natural es baja, y se mantiene así por la presión de la selección natural, mientras que en especies poco adaptadas a las condiciones ambientales, es más probable que la tasa de mutación sea mayor.

Wellhausen et al (1951) indican que el intercambio cultural entre poblaciones humanas a través del tiempo, ha puesto en contacto variantes de maíz que al hibridarse han contribuido al desarrollo evolutivo de esta especie. Mencionan que dichas hibridaciones condujeron al incremento de la variabilidad genética del maíz y permitieron al hombre seleccionar nuevas recombinaciones, que por efecto de aislamiento se han estabilizado genéticamente. Hacen notar que las recombinaciones seleccionadas, al sufrir nuevas hibridaciones, dan origen a otras recombinaciones, de tal forma que este mecanismo continuo, a través de generaciones ha permitido al hombre seleccionar sus variantes con características fenotípicas deseables.

Estos son algunos ejemplos de cómo se expresa domesticación.

Según Vavilov ( 1935), es muy importante señalar que la domesticación de las especies produce cambios tales como: plantas más grandes, semillas de mayor tamaño, germinación rápida y uniforme, semillas no dehiscentes, colores diferentes de frutos y semillas, perdida de estructuras de defensa como espinas,

pelos, flores dobles en ornamentales, frutos sin semillas en plantas hortícolas, mejor sabor, autofecundación, habito de crecimiento anual.

De acuerdo con Mangelsdorf (1952), la deriva genética en combinación con la hibridación, probablemente han interactuado para aumentar la tasa de mutación bajo domesticación, creando nuevas poblaciones.

Ramos (1972) menciona que como consecuencia de la intervención humana en el aislamiento geográfico y reproductivo de las poblaciones, y en la selección artificial, la deriva genética ha ejercido cierta influencia sobre la diferenciación de razas variantes infrarraciales de maíz.

Conforme a Smartt (1976), la latencia, que es debida a la naturaleza e impermeabilidad de la testa, es eliminada durante el proceso de domesticación haciendo posible la germinación simultanea bajo condiciones ambientales favorables, hecho que favorece el manejo agrícola, además de permitir una mas fácil y mas uniforme cocción del grano para consumo humano. Este mismo autor indica la perdida de dehiscencia e otro factor importante en el proceso de domesticación, debida a una mutación simple que inactiva el sistema que controla la lignificación de las fibras en el fruto (Smartt 1976).

Miranda (1979) indica que los colores blanco y negro de la testa de la semilla y el hábito de crecimiento determinado y erecto de fríjol, no se encuentran en las formas silvestres, pero son muy comunes en las variedades cultivadas, lo cual sugiere que dichos colores aparecieron por mutación y fueron retenidos y conservados por la selección de las comunidades humanas.

### **3.3.1 Base genética para la evolución de las plantas cultivadas**

Clausen (1989), sugiere que los métodos para transformar plantas silvestres en plantas de cultivo son: variación mendeliana, hibridación ínter específica, introgresión, autoploidia alaploidia las cuales se describen a continuación:

Variación Mendeliana. Probablemente una planta cultivada es el resultado de la acumulación y utilización de mutaciones génicas, lo cual depende de principios mendelianos. Cultivos tales como el maíz, la remolacha azucarera, la linaza, la soya y tipos de fríjol se originaron por variación mendeliana.

Hibridación interespecífica. La contribución de cruzas de especies muy separadas ha sido muy poca, excepto si se acompaña de Introgresión o por haloploidía. Las razones son obvias: las cruzas son difíciles los híbridos son estériles y los productos que segregan son inferiores a los progenitores. Con especies más relacionadas las cruzas pueden dar productos valiosos para la agricultura.

Introgresión. Implica la transmisión de una pequeña porción de germoplasma de una especie a otra. El maíz contiene algo de germoplasma de sus ancestros el *teosinte* y *Tripsacum*. La migración o flujo génico se refiere al intercambio de material genético entre cromosomas homólogos o muy estrechamente relacionados, ya sea dentro de una misma especie o entre especies distintas (Feldman y Sears, 1981). La migración afecta la variación de una población con mayor intensidad cuando los individuos inmigrantes difieren en mayor grado de aquello de la población a la que llegan a formar parte. De esta forma, el flujo génico como fuente de variación depende en parte de la existencia previa de mutaciones (Grant, 1977).

En plantas superiores, las unidades de dispersión de genes son el polen y la semilla, las cuales, en forma natural tienden a permanecer cerca de su lugar de origen o de su territorio. El grado de dispersión de los disemínulos es lo que determina la distribución espacial de los individuos y de sus genes de una generación a otra (Grant, 1977). Los agentes de dispersión de los disemínulos son muy variados, e incluyen: el viento, las corrientes marinas, las aves, los insectos, la lluvia, seres humanos, etc.

Autoploidía. Las plantas autoploides tienen tres o más genomas. Pocos cultivos autoploides son valiosos por las semillas, como resultado de problemas de esterilidad, sin embargo, cuando la parte comestible es más grande en ciertos frutos (manzana, pera) o se persiguen fines ornamentales, la autoploidía es muy útil (Clausen, 1989).

Según Dobzhansky et al (1980), las especies que presentan la autogamia como sistema predominante de reproducción, contienen a menudo una cantidad inesperadamente elevada de variabilidad genética.

Aloploidía. Contiene genomas de diferentes especies cuyos cromosomas se han duplicado. Posiblemente la mitad de las plantas cultivadas son aloploides (trigo, tabaco, algodón) por ejemplo, el algodón cultivado contiene 26 pares de cromosomas de los cuales 13 pares son más pequeñas que las otras. Se supone que este tipo de algodón de 26 pares tiene la constitución cromosómica AAD la cual surgió de la cruce entre *Gossypium herbaceum*, una especie del viejo mundo cuya constitución cromosómica es AA, con *G. raimondi* del Perú que es DD. La

duplicación cromosómica de la F1 AD resulto en el alotetraploide AAD. (Clausen,1989).

Selección. Según Clausen (1989), todos los fenómenos genéticos descritos resultan de una gama de productos cuya preservación o eliminación depende de la selección natural o artificial. Aunque la selección natural no puede eliminarse, la selección artificial es ahora más importante y es sin duda la parte más difícil del mejoramiento. Producir variabilidad es relativamente fácil ya sea por introducciones, por hibridación intra e ínter específica, por medio de genes mutagénicos o alterando el número y estructura de los cromosomas. La tarea más ardua que requiere tiempo, esfuerzo y la habilidad del fitomejorador es la identificación de la planta o grupo de plantas que contengan las combinaciones de genes y cromosomas más deseables.

### **3.4 Evolución bajo domesticación de *Phaseolus***

De acuerdo con Delgado (1985), las especies cultivadas del género *Phaseolus* han sido usadas y manejadas por las comunidades humanas desde hace varios milenios, hecho que ha influido en la distribución actual de estas plantas, así como en su evolución.

Según Smartt (1969, 1976), los cambios más notorios de las especies cultivadas del género *Phaseolus* con respecto a las formas silvestres como respuesta a la selección bajo domesticación se observan en el hábito de crecimiento (con la reducción en el número de ramas y hojas incrementadas compensatorio en el tamaño de las hojas y en diámetro el tallo), la forma de vida y el gigantismo observado en las estructuras reproductoras como las flores aunque este es relativamente menor; siendo más notable es el fruto y la semilla mismos que conllevan a una reducción en el número de semillas por fruto.

De acuerdo Smartt, (1964, 1969) y Díaz, (1981), las formas cultivadas de *P. coccineus* tienen flores rojas o blancas, en algunos casos anaranjados o rosas, y sus formas silvestres, flores de color rojo y rosa, estas últimas consideradas híbridos; correspondientemente los cultivados de *P. polyanthus* muestran flores de color blanco o lila pálido o muy intenso, en ocasiones con las alas y el estandarte con diferentes colores y en sus formas silvestres el color de las flores es generalmente lila; también se encuentran poblaciones de *P. vulgaris* silvestre y colecciones de *P. vulgaris* var. *aborigenus* con flores blancas. Las flores de mayor tamaño entre las especies cultivadas y sus parientes silvestres son las de *P. coccineus*.

Conforme a Smartt, (1964) y Díaz, (1981), el estigma en las flores de *P. coccineus* tiene la superficie estigmática extrorsa y casi terminal, en contraste con las otras especies cultivadas, en las cuales la superficie estigmática es introrsa; este hecho se asocia con la mayor tendencia a la polinización cruzada que se encuentra en *P. coccineus*.

Según Smartt (1969), en formas de *P. polyanthus* cultivados muestran color beige ocasionalmente negro o beige con moteados o listados negros que enmascaran en menor o en mayor grado el color del fondo. Arias (1980) reporta una correspondencia de color entre la flor y el grano en *P. polyanthus* (= *P. dumosus*), con las formas de colores blancas produciendo semillas con testa de color claro, bayo, amarillo, rojo o blanco y las formas de flores rosa o lila, produciendo semillas con testa de colores negro, marrón, pintos o jaspeados; en el caso de los cultivados de *P. coccineus*, la gama de colores es muy amplia, incluyendo blanco, negro, púrpura, amarillo, marrón, violeta, beige o con diferentes diseños como motas.

Conforme a Basurto y otros (1993), el patrón de ramificación es una diferencia significativa entre formas cultivadas y silvestres de *Phaseolus*, en las formas silvestres y cultivadas de guía el habito de crecimiento es indeterminado, esto es, las ramas continúan creciendo indefinidamente, con las inflorescencias producidas en las yemas axilares, en tanto que en las variedades cultivadas o con habito determinado, el eje principal termina en una inflorescencia con un ciclo de vida anual para *P. vulgaris* y *P. acutifolius*, en tanto que *P. coccineus*, *P. polyanthus* y *P. lunatus*, son perennes (Basurto y otros, 1993).

De acuerdo con Ramírez (1991); Schmit y Debouck (1991), el numero de semillas por vaina generalmente es menor en las formas cultivadas que sus parientes silvestres. en estos últimos el numero de semillas es usualmente de 8-9 por vaina, salvo para *P. lunatus* y *P. polyanthus*, en los que reportan 4 semillas por vaina; en los cultivados, el numero de semillas por vaina varia dependiendo de la especie.

Según (Ramírez, 1991; Schmit y Debouck, 1991), el color y el patrón de la testa es básicamente el mismo en todas las formas silvestres, incluyendo las de *P. polyanthus*. De acuerdo con Smartt (1969), gris o pardo con un denso patrón de puntos y manchas más oscuros; se conocen colectas de semillas coloreadas, negras o de color beige, de *P. lunatus*, *P. vulgaris* y *P. coccineus* silvestres.

Estudios preliminares en la herencia del tamaño de la semilla en *Phaseolus* indican que este es un carácter determinado polifactorialmente, pero no se ha estimado el numero de factores efectivos para que esto ocurra (Smartt, 1969).

El estudio realizado por Luque (2001), mediante el uso de AFLP evaluó la diversidad genética de 108 accesiones de *P. coccineus* y 70 de *P. polyanthus*, incluyendo materiales silvestres y cultivados. Los diferentes análisis realizados en este trabajo indican que la diversidad genética de las dos especies está principalmente asociada al estado biológico de las poblaciones ( silvestres o cultivadas) más que a un origen geográfico y así mismo sugieren la existencia de un único acervo genético dentro de cada especie, situación que puede estar favorecida por su condición alogámica, cuyo continuo flujo genético puede ayudar a mantener la composición genética de la especie; igualmente, eventos evolutivos como el origen y domesticación de estas especies se encuentran disipados por este factor.

### **3.5 Conservación *In situ* en Agroecosistemas**

Altieri y Merrick (1989) plantean que la conservación *In situ* posibilita la continuidad del dinámico proceso de adaptación de las plantas a su medio. Según los autores muchos científicos han implementado mecanismos de conservación *In situ* de los recursos fitogenéticos así como el ambiente en el cual estos ocurren.

La biodiversidad se debe conservar *In situ* (en el sitio o lugar en ecosistemas naturales o agrícolas) lo cual consiste en proteger los ecosistemas naturales manteniendo las poblaciones de las especies que los componen o recuperándolas si se han deteriorado. La conservación *In situ* de especies cultivadas se refiere a mantenerlas en los sitios en donde han desarrollado sus características (Baena y otros, 2003).

El mantenimiento de los sistemas agrícolas tradicionales constituye estrategia significativa para la conservación *In Situ* y para promover la continua evolución de las especies. Igualmente proponen que dicha diversidad encontrada en los agroecosistemas igualmente se puede conservar mediante la Conservación *Ex Situ*. Este tipo de conservación se hace fuera de los ecosistemas naturales o agrícolas como parte de colecciones en bancos de germoplasma, los cuales tiene como objetivo conservar genotipos específicos;

Baena y otros (2003), proponen que dicha diversidad encontrada en los agroecosistemas igualmente se puede conservar mediante la Conservación *Ex situ*. Este tipo de conservación se hace fuera de los ecosistemas naturales o agrícolas como parte de colecciones en bancos de germoplasma, los cuales tiene como objetivo conservar genotipos específicos.

Según Odum (1998), los agroecosistemas son ecosistemas domesticados que en muchos aspectos se encuentran en una posición intermedia entre los ecosistemas naturales, como herbazales y bosques, y los ecosistemas fabricados, como las ciudades, muchas de las prácticas agrícolas tradicionales que han perdurado en los países en vías de desarrollo reciben cada vez más atención debido a que hacen uso eficiente de la energía, son ecológicamente sustentables y proporcionan adecuada alimentación para los habitantes de la comunidad.

Conforme a Hernández X, (1985), en los agroecosistemas, se pueden llevar a cabo procesos de selección artificial y de domesticación; los procesos de selección bajo domesticación no solo han conducido a la producción de múltiples variedades vegetales adaptadas a diferentes condiciones ambientales, sino que también a la selección de las prácticas involucradas en los procesos de producción; implicadas en el mejor uso de la energía y de los materiales dentro de estos procesos de producción (Hernández X, 1985).

El concepto de un ecosistema agrícola o agroecosistema ha surgido del enfoque de estudios agronómicos, la cual tiene patrones definidos de reciclaje de nutrientes, regulación de poblaciones equilibrio dinámico y flujo de energía conocimiento relacionado con el manejo y el uso de esas especies los cuales comprenden fincas y los huertos caseros o jardines de autoconsumo y son, por definición, modificados por las comunidades humanas con fines de producción (Baena y otros, 2003).

### **3.6 Caracterización de la diversidad**

El aprovechamiento de los agroecosistemas como ambientes de conservación *In situ* de la agrobiodiversidad requerirá conocerlos muy bien y trabajar conjuntamente con los agricultores. El primer paso de este trabajo consiste en realizar un diagnóstico del agroecosistemas para conocer sus componentes y las interacciones entre ellos. En consecuencia debemos averiguar que diversidad contiene, como se ha sostenido, y que prácticas pueden mantener el producto y recuperarlo (Baena y otros 2003).

de acuerdo con Medina y Lobo (1995), el término caracterización puede tener una connotación amplia, incluyendo diferentes tipos como son: Caracterización morfológica que es la toma de información de variables fácilmente observables a nivel de campo o invernadero; caracterización bioquímica, la cual es la toma de información sobre proteínas totales, específicas o isoenzimas en diversos números de una colección; caracterización molecular, o sea, el estudio de la estructura de los ácidos nucleicos mediante diversas técnicas como RFLPs (Polimorfismo en el tamaño de los fragmentos de restricción), RAPDs (DNA polimórfico amplificado al

azar), ALFPs (Polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados), RAMs y microsatélites, etc; caracterización citogenética y caracterización fisiológica. Los diferentes tipos enumerados al igual que la evaluación no son excluyentes sino complementarios, permitiendo en una forma conjunta alcanzar un mejor conocimiento de la variabilidad existente, teniendo cada uno bondades y limitaciones de cada técnica.

### **3.6.1 Caracterización fenotípica**

Engels (1985) define la descripción sistemática como la clasificación o medición de la expresión fenotípica de cada entrada o muestra de una colección definida para cada uno de un conjunto de descriptores bien escogidos.

La lista de descriptores definen las características mas relevantes y la forma en que estas deben ser registradas, permitiendo la selección de germoplasma deseado, el uso de estos propicia un lenguaje común de la información y fomenta el intercambio de la información (Engels, 1985).

Medina y Lobo (1995) afirman que, los descriptores tienen diferentes capítulos o categoría de los mismos. Así se incluyen los llamados datos de pasaporte, los cuales corresponden a la información registrada en el momento de la colecta del germoplasma( descripción detallada agroecologica del sitio y de las condiciones en que se encontraba la colecta, así como la forma en que se realizo). Estos, en el caso de introducciones se pueden obtener a partir de la entidad donante del recurso genético.

Otro tipo de descriptores son los de información del sitio de realización de la labor de caracterización y/o evaluación del germoplasma, correspondiendo a una relación detallada de la ubicación, características agroecológicas del lugar y condiciones climáticas imperantes durante el transcurso del trabajo (Medina y Lobo 1995).

Posteriormente, se disponen los llamados descriptores de caracterización con las características morfológicas a registrar, los cuales incluyen las variables a tomar.

La función de la estandarización requiere una lista máxima de descriptores, de la cual se pueda compilar cualquier lista adaptada a las necesidades locales o personales.

Una de las necesidades de este estudio pretende aportar antecedentes de las características que se deben tener en cuenta para realizar el reconocimiento de las variantes y posibles híbridos de la especie *Phaseolus dumosus*; ya que no existe una lista de descriptores que los discriminen

### 3.6.2 Caracterización molecular

Los marcadores moleculares están ayudando a comprobar tanto los inconvenientes de una selección basada en el análisis exclusivo del fenotipo de acuerdo a su filogenia, como la identificación de especies y variedades de una forma más rigurosa y repetitiva. Los marcadores moleculares son biomoléculas que se pueden relacionar con un rasgo genético. Las biomoléculas que pueden ser marcadores moleculares son las proteínas (antígenos e isoenzimas) y el DNA (genes conocidos o fragmentos de secuencia y función desconocida). Como técnicas moleculares se pueden usar las isoenzimas por electroforesis en geles de almidón o poliacrilamida. Con ellos se puede conocer la estructura y heterogeneidad genética entre diferentes especies, variedades, y poblaciones de distinto origen geográfico. Pero esta técnica tiene una limitación importante: no es capaz de detectar suficiente polimorfismo entre variedades o especies próximas (Duarte, 2003).

Los avances de la tecnología del DNA recombinante han permitido el desarrollo de los marcadores moleculares basados en el DNA, consiguiendo estabilidad en la identificación de especies y variedades a través de comparaciones cromosómicas, semejanzas entre las hélices de ADN nuclear, estimadas por hibridación de ADN, proteínas codificadas por el mismo locus en diferentes especies, mediante técnicas de electroforesis, determinación de secuencias de aminoácidos en las proteínas y determinación de secuencias de ADN mitocondrial la cual también permite realizar comparaciones (Duarte, 2003).

Según Medina y Lobo (1995), la información generada con la caracterización tiene usos múltiples: En primer lugar permite conocer el nivel de variabilidad presente en las colecciones fundamental para estudios de evolución, lo cual conduce a dilucidar flujos genéticos, la relación entre factores ambientales y la presencia determinada de variabilidad y determinar, entre otros, los efectos de fundación que han ocurrido a través de a domesticación además para realizar análisis filogenéticos y taxonómicos.

Las técnicas más usadas en estos estudios son las siguientes:

**RFLP (Polimorfismo en el tamaño de los fragmentos de restricción).** Esta técnica se basa en la detección de fragmentos de DNA de distinto peso

molecular (por digestión con la misma enzima de restricción) en diferentes organismos. Los fragmentos más fáciles de analizar son los pequeños derivados de la digestión del genoma de las mitocondrias o los cloroplastos, puesto que delecciones, sustituciones o mutaciones pueden alterar significativamente el patrón de bandas identificable por electroforesis en geles de agarosa. Cuando se emplea la PCR en lugar de sondas radioactivas para visualizar los polimorfismos, se le denomina PCR-RFLP (Duarte, 2003).

## **Perfiles de ADN basados en PCR**

**RAPD (DNA polimórfico amplificado al azar):** Es una de las técnicas más versátiles puesto que se usa una colección de decanucleótidos para amplificar por PCR áreas específicas distribuidas al azar por el genoma. Su pequeñez y la baja temperatura de alineamiento (36°C) aseguran que se unen a infinidad de secuencias en el genoma para conseguir amplificar muchos fragmentos de DNA. Estos fragmentos se pueden separar en geles de agarosa para obtener perfiles electroforéticos que variarán según el polimorfismo de los distintos individuos o grupos de individuos. Es muy cómoda, rápida, requiere poco DNA que además no necesita estar muy puro. Esta tecnología ha sido utilizada para la catalogación de frutos, selección de variedades, y diferenciación de líneas clonales (Duarte, 2003).

**AFLP (Polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados).** Esta técnica combina el uso de enzimas de restricción y oligonucleótidos para PCR, de manera que se obtienen marcadores moleculares muy específicos sin necesidad de conocer la secuencia con anterioridad. Una ventaja especial de esta técnica es que es capaz de generar muchos marcadores moleculares en una sola reacción. Por eso el resultado debe resolverse en un gel de poliacrilamida de alta resolución (Duarte, 2003).

**Microsatélites RAMs** los microsatélites son regiones de secuencias de ADN pequeñas y repetidas, generalmente de dos a tres nucleótidos, los cuales pueden o no estar asociados con genes. Dado que la repetición por si misma no codifica para formas ninguna proteína, y debido a que las secuencias de ADN repetitivo pueden recombinarse y expandirse más frecuentemente que otros tipos de secuencia, estas regiones son a menudo altamente variables y muy útiles para medir similitudes entre especies o variedades relacionadas.

Dependiendo del ADN utilizado como molde en la amplificación, los microsatélites son nucleares( genoma nuclear o de cloroplasto ( genoma de esta organela). La amplificación de estos elementos exige un conocimiento previo de la secuencia que flanquea a los microsatélites para poderlos utilizar como cebador en la amplificación (Coronado y Coronado, 2003).

#### 4. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE *Phaseolus dumosus* Macfady y *Phaseolus coccineus* Linneo

##### 4. 1 Aspectos taxonómicos de *Phaseolus dumosus* Macfady y *Phaseolus coccineus* Linneo (Freytag y Debouck, 2002).

###### Ubicación Taxonómica

**Orden:** Rosales

**Familia:** Leguminosae

**Subfamilia:** Papilionoidae

**Tribu:** Phaseolae

**Subtribu:** Phaseolinae

**Genero:** Phaseolus

**Especie:** *Phaseolus dumosus* Macfady, *Phaseolus coccineus* Linneo.

###### *Phaseolus dumosus* Macfady

La posición taxonómica de esta especie ha sido muy polémica debido a la ambigüedad de sus características morfológicas, que la han llevado a situarla como un híbrido entre *P. vulgaris* y *P. coccineus*, ubicándola como una subespecie de *P. coccineus*, bajo la denominación de *P. coccineus* subsp *darwinianus* (Hernández et al. 1959 En: Delgado, 1998). Posteriormente, Piñero y Eguiarte (1988 En: Schmit y Debouck, 1991) consideraron a esta especie, no como un híbrido, sino como una variante de *P. coccineus* manteniendo el nombre propuesto por Marechal et al. ( 1978 En: Schmit y Debouck, 1991) de *P. coccineus* subsp. *polyanthus*. Sin embargo, con los estudios de Schmit y Debouck en 1991, y Schmit et al 1993, al igual que el descubrimiento de materiales silvestres similares a niveles morfológicos, ecológicos y bioquímicos al material cultivado, sugirieron que *P. polyanthus* es una entidad biológica diferente a *P. coccineus*, y no el producto de una hibridización, elevándola a una categoría taxonómica aparte. El nombre *P. polyanthus* fue dejado ya que el material actual posee características acordes al material tipo descrito por Greenman en 1907. Actualmente Freytag y Debouck, (2002) plantean que el epíteto de *P. polyanthus* debe ser reemplazado por *P. dumosus* Macfady, cuyo autor habría descrito la especie 70 años antes que Greenman, autor de *P. polyanthus*. Freytag y Debouck demostraron que aunque el epíteto de *P. polyanthus* ha sido usado por mucho tiempo y actualmente, las descripciones comparativas de la especie se basan en el neotipo y la primera

colección de campo en Guatemala dejando ver que la descripción más adecuada para la especie corresponde a *P. dumosus* Macfady. (Tabla 1).

**Nombres comunes:** botil (Chiapas, México), piloy chimaltenango, (Debouck, 1994) (Guatemala), dzich (Debouck, 1994) (San marcos, Guatemala), petaco (Schmit, 1988) (Antioquia y región occidental, Colombia), cacha (Schmit, 1998), tranca (Debouck y otros.1989), natural (Cauca, Huila y región sur), toda la vida (Debouck, 1987)( ecuador y norte de Perú).

Tabla 1. Cronología de nombres latinos dados a una especie del genero *Phaseolus* con origen y estatus (Schmit y Debouck, 1991).

NOMBRE	AUTOR	AÑO	ORIGEN Y ESTATUS DEL MATERIAL
<i>Phaseolus dumosus</i>	Macfadyen	1837	Jamaica; silvestre
<i>Phaseolus polyanthus</i>	Greenman	1907	México, Veracruz; silvestre
<i>Phaseolus flavescens</i>	Piper	1926	Colombia, Caldas; silvestre
<i>Phaseolus harmsianus</i>	Diels	1937	Ecuador, Tungurahua; silvestre
<i>Phaseolus coccineus</i> <i>ssp. darwinianus</i>	Hernández X. y Miranda	1959	México, Puebla, cultivado
<i>Phaseolus coccineus</i> <i>ssp. polyanthus</i>	Marechal, Mascherpa y Stainier	1978	—

#### 4.1.1 Descripción botánica

Según Debouck, (1994), sólo formas plurianuales son conocidas, las cuales pueden vivir de dos a cuatro años. En zonas como Cajamarca, Perú, tiende a comportarse como una planta anual.

Presenta germinación epigea y sus raíces son anuales tendiendo a ser perennes, fibrosas pero algo engrosadas de 2-3 cm. Inflorescencias en panícula con bracteas primarias lanceoladas de 6-7 mm, bracteas pedicelares estrechas lanceoladas 2-4 mm de largo ciliadas, flores púrpuras raramente blancas con estilo de 7 mm de largo hasta la cauda engrosada; Estigma terminal, capitado y introrso. Semillas ovoides, aplanadas, hilum ovado-oblongo de 4 mm de largo, 1,75 mm de ancho (Freytag y Debouck, 2002).

#### 4.1.2 Distribución

La especie *P. dumosus* es una leguminosa que se adapta muy bien a las regiones tropicales de gran altitud. Prefiere los suelos profundos ricos en material orgánico. Esta especie semisilvestre es un valioso recurso fitogenético utilizado comúnmente entre la población indígena y campesina de Colombia, el cual se encuentra distribuido en altitudes intermedias de 1600 m.s.n.m en climas frescos y húmedos con alta pluviosidad (2000 a 3000 mm/año) (Debouck, 1994).

En América del sur también se cultiva desde Mérida, Venezuela, hasta Ecuador en Azuay, pichincha y Tungurahua y Apurimac, Cajamarca, Amazonas y Junín en el Perú (Debouck, 1994). En América central se distribuye a altitudes intermedias (800-2600 m.s.n.m) en climas frescos y húmedos con alta pluviosidad (1000-2600 mm/año) (Debouck, 1994) en México las formas cultivadas se presentan en Puebla, Veracruz, Oaxaca y Chiapas. en Guatemala, se han observado en Huehuetenango, San Marcos, Quetzaltenango, Totonicapán, Solola, Chimaltenango, y Sacatepequez. Igualmente en la zona insular del Caribe (Jamaica y República Dominicana) y Costa Rica. En Suramérica se encuentran entre la vegetación secundaria (Debouck, 1994).

Las formas silvestres sólo han sido encontradas en la parte centro occidental de Guatemala, donde es una liana que crece en el bosque en el bosque húmedo montano bajo (Freitag y Debouck, 2002).

#### 4.2 *Phaseolus coccineus* Linneo

Desde el punto de vista taxonómico la descripción de *Phaseolus coccineus* L ha sido compleja y aun en la actualidad no hay concordancia en los autores. Algunos por ejemplo, reconocen 4 subespecies (Delgado, 1988; Llaca et al., 1994), de las cuales 2 son cultivadas: *P. coccineus* L. ssp. *coccineus* y *P. coccineus* L. ssp. *Darwinianus* Hernández X. Miranda C.; mientras que Smartt (1973) y Schmit Debouck (1991) consideran a *P. coccineus* L. ssp. *Darwinianus* una especie separada y la denominan *Phaseolus polyanthus* Greenman.

##### 4.2.1 Descripción botánica

Es una planta pluriannual, caracterizada por tener germinación hipogea con raíz cónica y tuberosa con tallos trepadores de buen vigor que pueden alcanzar varios metros de altura. Solo en algunas formas cultivadas se observan las formas arbustivas. Tiene grandes semillas alargadas ovoides y un hilum pequeño, estrecho y elíptico lanceolado. Posee grandes inflorescencias de unos 20 cm con flores blancas o rojas con estigma extrorso. en la mayoría de los casos *P.*

*coccineus* posee polinización cruzada (alogamia) realizada por abejas y colibríes. (Debouck, 1994).

Las formas silvestres de *P. coccineus* presentan una gran variedad fenotípica en contraste con las otras especies silvestres del género. (Debouck, 1994). Esta especie, en su estado silvestre, puede ser considerada como un complejo de varias formas de proceso de especiación a través de su rango de distribución (Debouck, 1994).

#### **4.2.2 Distribución**

En el área de México se distribuye desde Durango hasta Veracruz y Puebla. en Guatemala es tradicionalmente cultivado en las vertientes de las montañas de cuchumatanes, desde Huehuetenango hasta Alta Verapaz y Sacatepequez y en las partes altas del resto de centro América. Se encuentra principalmente en las partes altas entre 1400-2800 m.s.n.m y húmedas entre 400-2600 mm/año (Debouck, 1994).

Los materiales silvestres de *P. coccineus* se extienden desde Chihuahua en México hasta Panamá, generalmente en los bosques montanos húmedos entre 1400 y 2800 m. En estas áreas es común encontrar el cultivo de la especie en asocio con maíz y con otras variedades o especies, como *P. vulgaris* o *P. dumosus* o *P. polyanthus*. bajo condiciones pluviométricas fuertes, es frecuente encontrarlo como monocultivo (Debouck, 1994).

#### **Aspectos taxonómicos moleculares**

La información generada con la caracterización molecular de los siguientes trabajos, en primer lugar permiten reconocer el grado de variabilidad presente en las colecciones, establecen relaciones filogenéticas que interpretan aspectos taxonómicos y de flujo genético, que conllevan al reconocimiento de las especies; y se dan elementos para realizar estudios de evolución.

Según Medina y Lobo (1995), la información generada con la caracterización tiene usos múltiples: permiten conocer el grado de variabilidad presente en las colecciones fundamental para estudios de evolución, lo cual conduce a dilucidar flujos genéticos, la relación entre factores ambientales y la presencia determinada de variabilidad y determinar, entre otros, los efectos de fundación que han ocurrido a través de la domesticación además para realizar análisis filogenéticos y taxonómicos.

Schmit y Debouck (1991) realizaron observaciones en Centroamérica y Sudamérica sobre el origen del *Phaseolus polyanthus* Greeman. Los autores indican que la variabilidad de la proteína total utilizada en una muestra de 163 materiales de frijoles de *Phaseolus polyanthus* las cuales incluían formas silvestres, escapadas y cultivadas de toda distribución en América Latina usando la técnica de electroforesis, revelaron diez patrones diferentes en este cultivo 8 en Mesoamérica y otros 2 en los Andes del norte, con mayor frecuencia del patrón k. Sin embargo, algunas accesiones de Colombia exhibieron el patrón y otras de Costa Rica el patrón k. La mayor diversidad fue encontrada en las formas silvestres ancestrales presentes en el centro de Guatemala (Schmit y Debouck, 1991). Estos resultados junto con la información lingüística tradicional sugiere que se trata de un solo acervo genético. También indican que se domesticó este cultivo a partir de una forma silvestre ancestral aún presente en Guatemala. Sugieren en fin una distribución posterior hacia los Andes del norte donde la deriva genética empieza a manifestarse con relación a Mesoamérica (Schmit y Debouck, 1991).

El estudio realizado por Luque (2001), mediante el uso de AFLP (polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados) evaluó la diversidad genética y los patrones de variación de 108 accesiones de *P. coccineus* y 70 de *P. polyanthus*, incluyendo materiales silvestres y cultivados dentro de los cuales encontró un alto nivel de polimorfismo (146 en total). Dentro del acervo de *P. polyanthus* los autores observaron dos eco-tipos diferentes: uno en la región mesoamericana y otro en la parte norte de Suramérica. Con relación al manejo del germoplasma, los resultados indican que dentro de las accesiones multiplicadas bajo el tipo de polinización 3 (no controlada) en cercanías a otras poblaciones de lugares y especies diferentes, no hay evidencia de una alteración en la composición genética de la especie a la cual pertenecen, en este caso *P. coccineus* y *P. polyanthus* (Luque 2001).

El trabajo de Schmit et al (1993), con polimorfismos de ADN de cloroplasto (ADNcp) de 7 taxa de *Phaseolus* (*P. coccineus subsp coccineus*, *P. coccineus subs purpurascens*, *P. polyanthus P. vulgaris*, *P. costaricensis*, *P. lunatus*, *P. glabellus*), revelo, primero que las especies *P. lunatus* y *P. glabellus* son las más aisladas genéticamente de las otras y entre si; y segundo que, las especies restantes, aunque conforman un grupo coherente y continuo, pueden ser separadas en dos subgrupos: *P. vulgaris*, *P. costaricensis* y *P. polyanthus* de un lado y las subespecies de *P. coccineus* por el otro.

## 5. ZONA DE ESTUDIO

El trabajo de campo se realizó en los departamentos de Cauca, Nariño y Putumayo según el protocolo metodológico del proyecto SENA-COLCIENCIAS-999 VRI-UNICAUCA (Sanabria, 2002).

### 5.1 Municipio de Silvia

Esta situado en el noroeste del departamento del Cauca, suroccidente de Colombia (Figura 1) sobre el flanco occidental de la cordillera central (Sanabria y Vivas, 2003). En este municipio se encuentra el resguardo de Guambia en donde se realizaron las visitas y colectas (Figura 1).

Pertenece a la denominada formación Popayán; geológicamente se encuentra entre las clasificaciones agro-ecológicas III y VII pues se halla en cultivos como áreas que deben manejarse para la conservación de bosque y cuencas (Sanabria y Vivas, 2003). El territorio que abarca el resguardo, geológicamente pertenece a la asociación Silvia, la cual comparte con los municipios de Totoró, Santander de Quilichao, Puracé, Jámbalo y Silvia (García y otros, 1988). El material parental de estos suelos, está constituido por cenizas volcánicas que descansan sobre rocas ígneas como andesitas, basaltos, diabasas y algunos esquistos y anfibolitas. En sus colinas y montañas pueden apreciarse grandes afloramientos rocosos, tanto ígneos como metamórficos (CRC, 1997).

El relieve es muy diverso. Corresponde a la cordillera central a una Latitud entre los 2550 y 3880 m, la ubicación del municipio de Silvia y en particular del resguardo de Guambia en la cordillera central, hace que presente relieve quebrado o escarpado, con pendientes de 25, 50 y 70% y mayores, encontrándose sin embargo, principalmente áreas con relieve más suave y de pendientes menores como en el caso de los valles intermontanos, bordes de los ríos y las áreas de pie de ladera las variaciones altitudinales, al igual que las de temperatura dan lugar a diferentes zonas ambientales en la región de estudio a saber (CRC, 1997).

Presenta ecosistemas de subparamo y páramo con clima húmedo, con temperatura fluctuante entre los 6 °C y 14 °C, localizada en un rango altitudinal entre los 2000 –3000 m s n m con una precipitación que va entre los 2500 y los 3000 mm anuales. La humedad relativa es del 80 % y la nubosidad mayor corresponde a la parte alta de la cordillera (CRC,1997).

Los meses de mayor precipitación van de diciembre a febrero alternado con meses de menor precipitación con grandes variaciones en la determinación de las épocas de lluvia y sequía. Los vientos que contribuyen a modificar la temperatura, son fríos provenientes de páramo.

De acuerdo con la clasificación de zonas de vida de Holdridge (1978), Silvia presenta las siguientes zonas de vida: bosque húmedo montano bajo bh-MB y bosque muy húmedo montano bajo (bmh-MB), según Cuatrecasas selva subandina y una clasificación local como piso bajo o parte calentana (Sanabria, 2001).

La población del municipio de Silvia es en su mayoría indígena, predominando las etnias Guambiana y Páez, ubicados en la zona rural de este. En su organización interna, el municipio de Silvia posee seis resguardos: para la etnia Páez ( Nasa) Tumburao, Pitayo, Quichaya y pueblo nuevo. Y para la comunidad indígena Guambiana se encuentran Ambalo y Quizgo ( Sanabria y Vivas, 2003).

Entre los aspectos culturales estas comunidades destacan que el conocimiento tradicional relacionado con el manejo de las plantas es transmitido por varias generaciones como un valor cultural alimentario; aunque actualmente las poblaciones campesinas de esta región se ven afectadas por drásticos cambios socioeconómicos que han incidido en su saber, ocasionando una pérdida de valores familiares, comunitarios y socio-ambientales, ya que algunos cultivos comerciales han desplazado a los cultivos tradicionales y a los recursos nativos o locales.

La economía de esta región está basada principalmente en la agricultura y en menor escala la ganadería. Los productos son utilizados para el consumo familiar y para la comercialización local y regional. La cebolla (*Allium fistulosum*), ulluco *Ullucus tuberosus*, ajo *Allium sativum*, papa *Solanum tuberosum*.

## **5.2 Municipio de Totoró**

Esta situado en el noroeste del departamento del Cauca, suroccidente de Colombia entre los 02°29'32" de latitud norte y 76°24'17" de longitud oeste, esta ubicado en la vertiente occidental de la cordillera central (CRC, 1997) (Figura 1).

Zona montañosa con rangos de altitud entre los 1900- 3700 m s n m. Climas muy frío húmedo, medio húmedo y medio seco (IGAC, 1982) con una temperatura promedio de 12 a 24 °C y una precipitación promedio anual entre los 1.000 y 4.000 mm,. De acuerdo a la clasificación climática de Holdridge (1978), se presentan las

siguientes zonas de vida: bosque muy húmedo montano bajo (bmh-MB) y bosque pluvial montano bajo (bp-MB). El tipo de vegetación Ambientalmente presenta diferentes niveles de antropización, dada su localización y oferta para los procesos agrícolas y, específicamente, para el cultivo del café como monocultivo, Mejicano *Cucurbita ficifolia*, Achira *Cana edulis*. Frijol común *Phaseolus vulgaris* L, Maíz *Zea mays*, Cebolla *Allium fistolosum* en policultivos (CRC, 1997).

Este municipio comprende población indígena Nasa o Páez el cual posee los resguardos de Jevala, Novirao, Paniquita, Polindara y Totoró los cuales conviven con núcleos de la comunidad indígena Guambiana y población “blanca o mestiza.

Entre los aspectos culturales estas comunidades destacan el manejo de huertas, las cuales son consideradas como un espacio sagrado al cual le llaman Tul, en donde comparten un conocimiento ancestral relacionado con el manejo de las plantas pues hacen parte de su alimentación y memoria cultural.

Entre las actividades económicas de mayor importancia en este municipio son la agricultura la cual es basada en policulivos (huertas) y cultivo de maíz *Zea maíz*, la ganadería y el comercio, los principales cultivos son café (*Coffea arabiga*), plátano *Musa paradisiaca* L, trigo *Triticum aestivum* L, yuca *Solanum tuberosum* y papa *Solanum tuberosum* (Sanabria, 2001; CRC, 1997).

### **5.3 Departamento de Nariño**

Al sur de la Cordillera Andina colombiana se forma el llamado Nudo de los Pastos. El volcán Galeras se encuentra ubicado sobre la cordillera central, entre el oriente y el occidente andino (Plan de Manejo Institucional, 1998). El volcán Galeras fue declarado en su parte alta como santuario de flora y fauna en 1985 caracterizado por el entorno social y cultural (Plan de Manejo Institucional, 1998). Los seis municipios que conforman la circunvalar (Pasto, Tangua, Yaquanquer, Sandona, Consaca y la Florida) (Figura 1).

Los suelos son originarios de rocas eruptivas provenientes de la actividad volcánica. Los depositos volcánicos están constituidos por andesitas de variado tamaño, cenizas con diferente grado de compactación. además de los depósitos volcánicos formados a casi en su totalidad por material piroclastico; en general son suelos ácidos o ligeramente ácidos, con Ph.5.8 y con bajo contenido de bases; medios y altos contenidos de materia orgánica (5.6 A 9%) (Plan de Manejo Institucional IGAC, 1998).

Sobre la vertiente superior occidental del Volcán Galeras en donde se ubican los municipios de la Florida, Nariño y Sandona, se encuentran numerosos terrenos con grandes pendientes; contrariamente sobre su lado oriental existen terrenos ondulados con presencia de algunas planicies en el que se ubica el municipio de Yaquanquer (Plan de Manejo Institucional IGAC ,1998).

El clima en las estribaciones del volcán Galeras presenta unas temperaturas medias anuales entre los 3 y los 13°C, las temperaturas mas bajas corresponden a los meses de julio y agosto, con una precipitación anual promedio entre los 790 y los 2000 mm (Plan de Manejo Institucional, 1998).

Existen oscilaciones diarias de temperaturas alcanzan hasta los 25°C en la cumbre, aunque la temperatura promedio este a 17 °C al medio día y en horas de la madrugada llegue hasta los -8°C. Estos cambios determinan alteraciones fuertes en la humedad relativa que puede oscilar entre menos de 50% a mas de 90% (Plan de Manejo Institucional ,1998).

El bosque endémico de la zona ha sido remplazando por plantas cultivadas de la población rural desde hace centenares de años como: maíz *Zea maíz*, frijol veranero *Phaseolus dumosus* , café *Coffea arabiga*, cebolla *Allium fistulosum*, caña panelera *Saccharum officinarum*, cebada *Hordeum vulgare* aunque todavía existen pequeños relictos en los que todavía se conserva plantas como *Quercus sp*, *Hieronima colombiana*, *Tibouchina sp*, *Alnus jorullencis*, *Oreopanax sp*, *Clusia sp.*, *Drymis granatensis*, *Myrtus foliosa*, *Hesperomeles cibrata* (Plan de Manejo Institucional ,1998).

En la circunvalar del volcán Galeras habitan campesinos descendientes de grupos prehispánicos como los Quillacingas y los Pastos, también se encuentran pobladores procedentes de otras partes del país en proceso de colonización.

Actualmente las poblaciones campesinas de estas región se ven afectadas por drásticos cambios socioeconómicos que han incido en su cultura, ocasionando una pérdida de valores familiares, comunitarios y socio-ambientales, ya que algunos cultivos comerciales han desplazado a los cultivos tradicionales y a los recursos nativos o locales, por lo que estos grupos organizados en asociaciones campesinas u organizaciones indígenas están en procesos de recuperación de sus productos agrícolas tradicionales, cultura alimentaría y ecología regional.

Económicamente las unidades familiares se benefician de la agricultura mediante el manejo de huertas asociado con monocultivos como la cebada, el trigo *Triticum*

*aestivum* L, la caña panelera, el café y la ganadería de leche (Plan de Manejo Institucional, 1998).

#### **5.4 Departamento del Putumayo**

El Valle de Sibundoy está ubicado al sur occidente de Colombia, en las estribaciones del macizo andino en la región Amazónica, al nororiente del departamento de Putumayo subregion Andino amazónica el cual hace parte del Alto Putumayo. Políticamente son cuatro municipios al noroccidente del Putumayo: Santiago, Sibundoy San Francisco y Colón, sus coordenadas geográficas son 1°12'12" de latitud Norte y 76°51'15" de longitud Oeste (Mejia y Orellana, 2001). (Figura 1).

Esta subregion hace parte de la hoya alta del río Putumayo, desde su nacimiento en el complejo paramuno de Cascabel, hasta la salida en la "garganta del Balsa yaco" formada por el cañón del volcán Patascoy al occidente y las montañas del Portachuelo al oriente. Esta rodeada por los volcanes de Bordoncillo y Patascoy., los cerros de Juanoy, Cascabel y la cordillera del Portachuelo ( Mejia y Orellana, 2001).

La conformación geológica es pleistocena, con presencia de terrazas y rocas eruptivas. Los suelos son generalmente jóvenes y en algunos casos están en procesos de formación (Velasco y Ceron, 2000).

Esta zona se encuentra a una altura sobre los 2000 m s n m en su parte plana y 3300 m s n m en la parte mas alta, el cual presenta una zona de vida según Holdridge (1958) bosque húmedo montano bajo (bh-MB). El clima del valle del Sibundoy es muy húmedo con temperaturas máximas de 25°C y mínimas de 6.6 °C (Bristol, 1965).

En este valle existen agroecosistemas tradicionales llamadas chagras, por lo que no existe vegetación silvestre y no cultivada que represente la vegetación que debió distinguirse el valle hace unos cuantos años. De igual forma se presentan monocultivos de maíz *Zea maíz* y frijol común *Phaseolus vulgaris* en grandes extensiones en todo el valle.

La población del Putumayo se caracteriza por su fuerte influencia indígena; en el alto Putumayo se encuentran tres grupos poblacionales. Una, los denominados "blancos" asentados en las cabeceras municipales. En el segundo grupo los mestizos, los cuales son campesinos llegados de otros departamentos) dedicados

al jornaleo agrícola. El tercer grupo poblacional concentra a la población indígena pertenecientes a las comunidades Inga y Camentsa, estas dos etnias poseen culturas diferentes, no comparten la misma lengua y tradiciones (Sanabria, 2002).

La economía y aspectos culturales de la región se caracterizan por el sistema agrícola tradicional o agroecosistema tradicional llamado “chagra” en la que localizan plantas cultivadas y arvenses asociadas los dentro de los cuales se encuentran formas con utilidad artesanal, comestible, medicinal, ornamental y forrajera (Sanabria, 2002) además del cultivo comercial de frijol común *Phaseolus vulgaris*, como monocultivo; igualmente existen actividades comerciales representadas en almacenes de víveres, telas, cerámicas, artesanías indígenas, hoteles, restaurantes, colegios y escuelas (Velasco y Cerón, 2000).

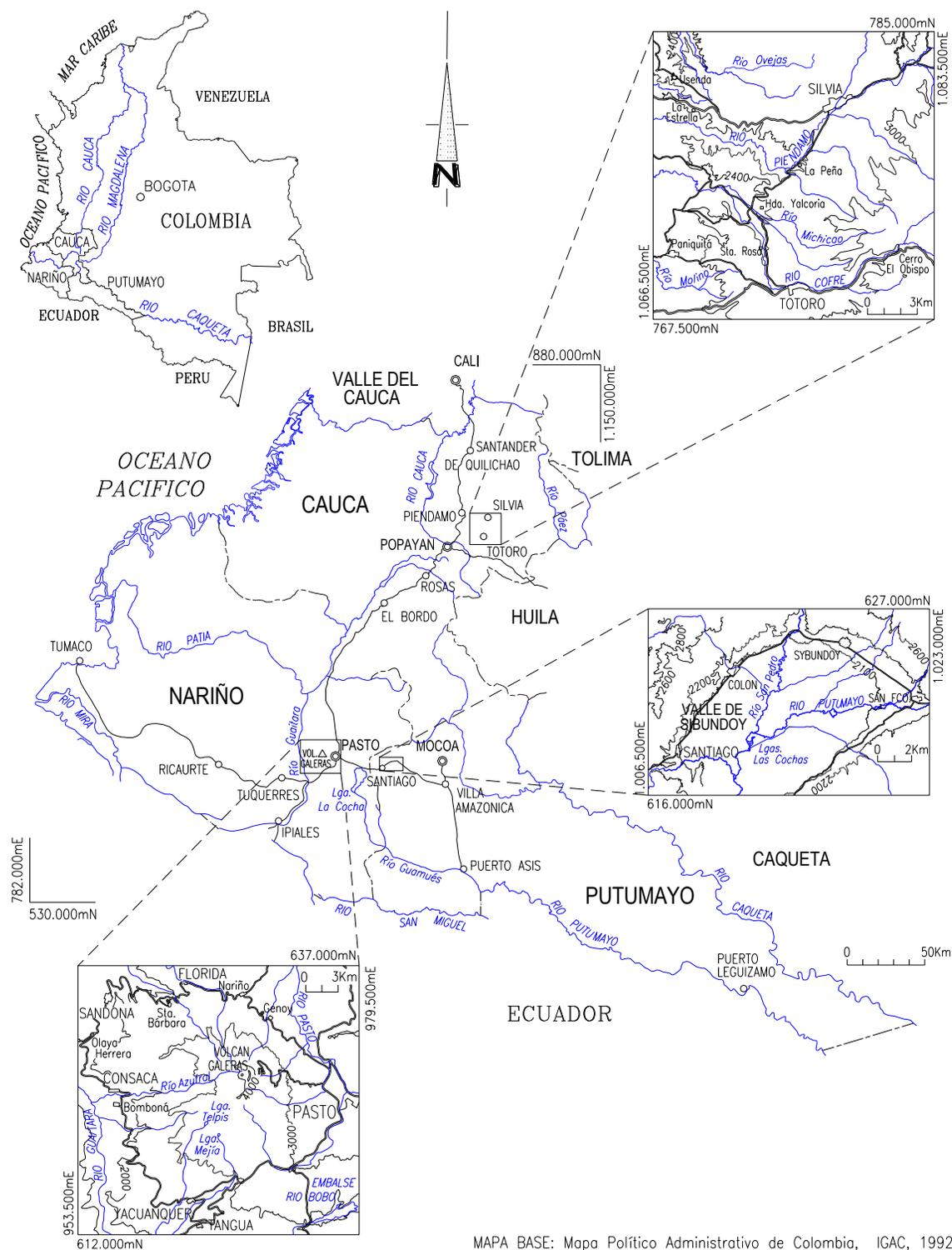


Figura 1. Mapa de localización del área de estudio en el Suroccidente Colombiano. Informe Técnico Final Proyecto SENA-COLCIENCIAS-UNICAUCA. 2005

## 6. METODOLOGÍA

La exploración etnobotánica se realizó siguiendo los aspectos metodológicos de Sanabria (2001, 1986), Hernández-X (1985) y Martín (2000).

### 6.1 Revisión bibliográfica

Este trabajo parte de revisiones bibliográficas para obtener información que permita establecer aspectos ecológicos (climas, vegetación, suelos), geográficos (mapas de localización geográfica), etnobotánicos (uso y manejo del recurso), descriptores varietales, antecedentes moleculares del frijol *Phaseolus dumosus* M. Los documentos se revisaron en las bibliotecas de la Universidad del Cauca, Universidad de Nariño, Universidad Nacional de Colombia (sede Palmira) Corporaciones Regionales, Instituto Geográfico IGAC, la biblioteca del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) y el Banco de germoplasma del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).

Las actividades desarrolladas según lo planteado en el proyecto general "Conservación y manejo *In situ* de arvenses y cultivares tradicionales en el suroccidente Colombiano. Sena-Colciencias-VRI/ 999, 2002, son las siguientes:

### 6.2 Fase de Campo

Se realizaron 6 recorridos de 3 días cada uno en diferentes fechas dispuestos para las zonas de estudio de los Departamentos de Cauca, Nariño y Putumayo durante dos años en periodos de lluvias y sequías según lo establecido en el proyecto general.

#### 6.2.1 Trabajo etnobotánico

Se realizó en todas las zonas visitadas en donde directamente, se desarrolló el reconocimiento y análisis de el conocimiento, uso y manejo del frijol *cacha*. Los recorridos de campo se realizaron mediante caminatas, colectas botánicas y descripciones agrícolas, involucrando activamente a los pobladores y cultivadores. Para las descripciones y entrevistas se utilizaron fichas etnobotánicas (Sanabria y Hernández, 2003) por uso y manejo de cada espécimen teniéndose en cuenta específicamente los nombres comunes, el conocimiento del ciclo biológico, la

forma de reproducción, edad de floración, periodo de floración, periodo caída de hojas, condiciones de crecimiento, germinación y descriptores de agroecosistemas. Se realizaron además recorridos etnobotánicos de campo y otras observaciones etnobotánicas en los diferentes hábitats (Sanabria y Hernández, 2003) (Figura 2).



Agroecosistemas



Mercados

Figura 2. Entrevistas y recorridos de metodología etnobotánica  
Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI . Informe Técnico Final. 2005

### Colectas botánicas

Para las colectas botánicas y muestra de germoplasma (semillas) se tuvieron en cuenta los siguientes componentes: fichas etnobotánicas, herbarios CAUP-Universidad del Cauca, Revisión del Herbario CIAT, el banco de germoplasma CIAT con las colectas previas de Daniel Debouck, y el herbario colombiano COL-Universidad Nacional.

Se realizaron colectas de material de *Phaseolus dumosus* M, y *Phaseolus coccineus* L en cada localidad de muestreo anteriormente descrita en los diferentes hábitats y agrohábitat según lo indicaron y reconocieron los pobladores, así como mediante los recorridos y observaciones etnobotánicas de campo.

Las muestras de flores y semillas se numeraron con el mismo código empleado para los ejemplares de herbario y se incluyeron. herbarios CAUP-Universidad del Cauca y el herbario colombiano -COL (Anexo 1). La información biológica del frijol

cache se obtuvo de áreas ruderales y en agroecosistemas con alturas entre los 2117 Y 2680 m.

Para la conservación y desplazamiento del material botánico se procedió a cambiar constantemente de periódico para que no le afectase los hongos y la humedad, en algunos casos se utilizó etanol al 70% y mediante un secador portátil. Las flores se depositaron en fijador vegetal FAA (Formaldehído 37%-15ml, Ácido Acético Glacial 95%-5ml, Etanol 96 -90 ml) por 2 horas posteriormente se dejaron en etanol al 70% (Tabla 1).

### **6.3. Trabajo de herbario**

El material de herbario se seco en el herbario CAUP de la Universidad del Cauca. Las muestras fueron determinadas por el doctor Daniel Debouck especialista en el género el cual hace parte de la unidad de recursos genéticos del CIAT Centro Internacional de Agricultura Tropical. Los 6 ejemplares de herbario incluyendo las variantes y los posibles híbridos se consignaron en los Herbarios CAUP-Universidad del Cauca, y el herbario colombiano COL- Universidad Nacional.

### **6.4. Trabajo de laboratorio**

#### **6.4.1 Descripción morfológica**

El reconocimiento, caracterización biológica y botánica de la especie *Phaseolus dumosus* M se realizó con 29 colectas de *P. dumosus* de 43 totales incluyendo como referente la especie relacionada simpatricamente *P. coccineus* (Anexo 1). Se realizó en los laboratorios de la Universidad del Cauca de acuerdo a la morfología de la planta con base en a las claves botánicas (Freytag y Debouck, 2002), Sistemática y Taxonomía del género *Phaseolus* (Debouck, 2001), a las revisiones con el especialista y a las descripciones varietales para frijol *Phaseolus vulgaris* de Muñoz y Soto (1993), (Tabla 2) como: Forma de bractéolas, patrón de distribución predominante de color del limbo del estandarte, color del estandarte, color de las alas de la corola, forma del estigma, curvatura de la vaina, longitud de la vaina, posición del pico de la vaina, tipo predominante del ápice de la vainas, ancho de la vaina, número de semillas por vaina, peso de semillas, pigmentación de la testa de la semilla, color básico de la testa de la semilla, presencia o ausencia de venaciones en la semilla, formas del hilo, forma predominante de la semilla, relación de tamaño de la semilla longitud / ancho, relación de semilla longitud / grosor (Anexo 2, Figura 4).

El proceso metodológico para identificación de los anteriores caracteres se realizó de la siguiente forma:

Flores: El material floral se conservó en un recipiente de plástico con el fijador vegetal FAA.

La caracterización de estigmas se realizó retirándolos de las flores y colocándolos en porta objetos para la observación y toma fotográfica en el microscopio óptico de campo oscuro a 4X. Los estigmas se conservaron en tubos Ependorf en etanol al 70%.

Para la Descripción de bractéolas se separaron de las flores para una mejor observación, medición y toma fotográfica con cámara digital. Posterior a esto se procedió a almacenarlas en los tubos Ependorf en etanol al 70%.

Vainas: La colecta se realizó para efectos de caracterización y toma fotográfica en campo y en laboratorio; este material se almacenó en bolsas de papel teniendo en cuenta que estas estuvieran secas y en buen estado para su posterior medición y caracterización.

Semillas: El material después de colectado se colocó a secar a temperatura ambiente 18°C; se conservaron a igual temperatura realizando revisiones periódicas de las muestras almacenadas en bolsas de papel con insecticida.

La caracterización de semillas se realizó describiendo caracteres cualitativos y cuantitativos (Anexo 2). El peso de las semillas se efectuó mediante balanza analítica.

La especie fue identificada con base en caracteres que la definen como: la forma de las bractéolas, disposición de estigma, forma de hilum, tipo de germinación. Las variantes y los posibles híbridos fueron determinados con base en el color de la semilla, color de flor; la descripción de las semillas tuvo en cuenta los colores primarios y secundarios que pudiesen presentar las semillas; lo que puede llevar a deducir que son posibles híbridos o guardan una forma intermedia entre los caracteres parentales o se aproximan al tipo de uno o del otro.

Los colores tanto de las semillas y las flores fueron confrontados en la tabla de colores de Muñoz y Soto (1993).

## **Respuesta fisiológica**

### **Fase vegetativa**

La preparación del suelo para la siembra se realizó en proporciones 4-2-1-1 (suelo- bioabono, arena, cascarilla) seguidamente se desinfecto con el funguicida Vitavax y se incorporo en bandejas germinadoras en donde se sembraron 10 semillas por colecta a las cuales se le describieron los siguientes estadios. Emergencia, tipo germinación, color venaciones, diámetro, y longitud de hipocotilo y epicotilo (Figura 3, Figura 4).

Esta descripción se realizó para observar la relación de la especie en cuanto a tipo de germinación, ya que este es un carácter que define la especie; conjuntamente con otras expresiones fisiológicas que solo perciben identificando la etapa vegetativa; que se desarrollo a partir de las semillas colectadas las cuales se sometieron a evaluaciones de acuerdo a las reglas estipuladas por la asociación internacional de evaluadores de semillas ISTA, (1999), se llevo acabo un balance de las etapas de desarrollo; como la fase vegetativa con las siguientes periodos de crecimiento: Días de emergencia, tipo germinación, emergencia de hojas primarias, primera hoja trifoliada, Color predominante de los cotiledones, Color de hipocotilo y epicotilo, Longitud de foliolos, Forma de los foliolos, Color de la nervaduras de las hojas (Figura 2). Esta descripción se realizó en el jardín botánico Álvaro José Negret de la Universidad del Cauca y en vivero y laboratorios de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira (Figura 3, Figura 4).



a) Colectas



b) Fase germinativa



b) Medición fase germinativa

Figura 3. a) Colectas, b) fase germinativa de la descripción morfológica Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI/ . Informe Técnico Final . 2005

FREYTAG & DEBOUCK, THE GENUS PHASEOLUS, SECT. PHHSIOU

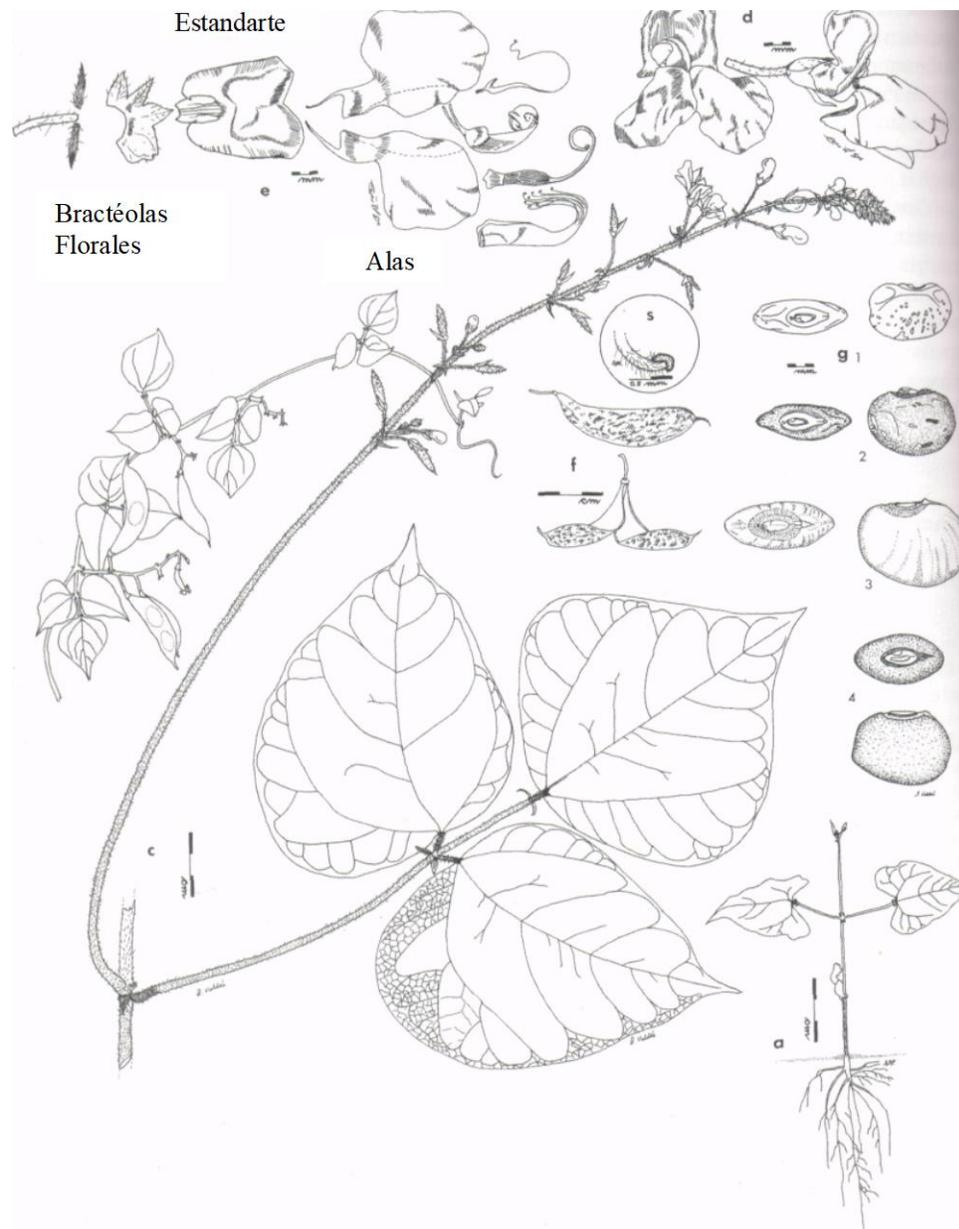


Figura 4. Ilustraciones de *Phaseolus dumosus* Macfady.-b. Tallo de planta madura. Extremo de la enredadera con las hojas maduras, la inflorescencia y vainas.- d. Flores, vista lateral y vista. Frontal o delantera –e. Vista detallada de la flor que demuestra todas las partes (estandarte y alas), incluyendo- s. extremo del estilo y el estigma según lo visto en el microscopio.-f. Las vainas, vista lateral y dehiscencia de los carpelos.-g. Tipos de semillas, vista lateral y vista desde el hilum. Dibujos a, d, e, f, g.(Freytag y Debouck, 2002).

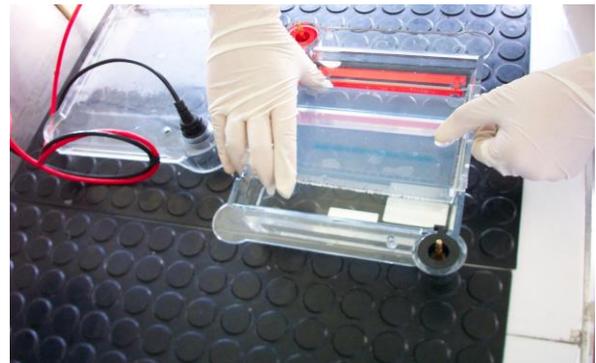
## 6.4.2 Caracterización molecular

Se utilizaron 26 accesiones provenientes de los departamentos de Cauca, Nariño y Putumayo (Anexo 3) en la definición del patrón molecular presente en las colecciones.. Se realizo en los laboratorios de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira en la Universidad Nacional sede Palmira en el Laboratorio Integrado de Investigaciones en Biología Molecular. Mediante una estancia de 4 meses en el año de 2004.

El análisis molecular se realizo con el uso de la técnica molecular RAMs. Para esto se tomaron muestras de la siembra de hojas jóvenes por ser un material fresco y en buenas condiciones; de la misma manera también se sembró material de referencia del banco de germoplasma del centro internacional de agricultura internacional CIAT de *Phaseolus polyanthus*, *Phaseolus coccineus* *Phaseolus vulgaris* L *Phaseolus lunatus* L entre silvestres y cultivados para ser confrontados y comparadas con el material colectado en campo; el material utilizado como referencia hace parte del banco de germoplasma del CIAT (Figura 5.) (Anexo 4).



Laboratorio



Electroforesis

Figura 5. Laboratorio biología molecular Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI/ . Informe Técnico Final , 2005.

Las pruebas moleculares se realizaron bajo el siguiente proceso:

**Obtención de muestras** : se tomaron semillas provenientes de las plantas colectadas de la variante de semilla amarilla (Tabla 11) y PSCV023, PSCV036 semilla blanca y los posibles híbridos PSCV008, PSCV016, PSCV040, PSCV043, posterior a esto se sembraron en bandejas de germinación 10 semillas por accesión de las cuales se tomaron de diferentes foliolos de la planta, las cuales

fueron colocadas en papel aluminio y guardadas a  $-80^{\circ}\text{C}$ , en un cuarto frío hasta su utilización (Figura 5).

**Métodos de Extracción** : la aplicación de las diferentes técnicas empleadas en biología molecular en el estudio del genoma, depende de la destreza para obtener ADN puro, con alto rendimiento y alta calidad, razón por la cual se utilizó el protocolo para la micro extracción de ADN robles colombianos de Dellaporta modificado (1983) el cual demostró su eficiencia en trabajos anteriores realizados en frijol, mora y uchuva y heliconias.

### **Extracción de ADN**

(Anexo 6), se tomaron 200 o 300 mg de tejido foliar joven o maduro y se maceraron en nitrógeno líquido, se transfirió el tejido a un tubo eppendorf y se adicionaron  $800\mu\text{l}$  del Buffer de extracción (Anexo 4), el cual había sido previamente calentado a  $65^{\circ}\text{C}$ , y  $55\mu\text{l}$  de SDS al 20%, se mezcló bien el tejido usando un vortex o una punta y se incubó a  $65^{\circ}\text{C}$  por 20 minutos, invirtiendo periódicamente. Posteriormente se adicionaron  $250\mu\text{l}$  de acetato de potasio 5M frío, se mezcló y se incubó en hielo durante 20 minutos en agitación, después se centrifugó a 12000 rpm. Se transfirieron  $800\mu\text{l}$  del sobrenadante a un tubo nuevo y se adicionaron  $640\mu\text{l}$  de isopropanol frío (mezclando unas 10 veces). Las muestras se colocaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  por dos horas. Al cabo de este tiempo se centrifugaron las muestras a 12.000 rpm durante 10 minutos y se les removió el isopropanol secando las gotas con una toalla absorbente, después se resuspendió en  $80\mu\text{l}$  de TE10:1 y se adicionó  $1.5\mu\text{l}$  de RNAsa (15 mg/ml) haciendo un corto Spin. Finalmente el ADN se almacena a  $4^{\circ}\text{C}$  para usar a los pocos días y a  $-20^{\circ}\text{C}$  para tiempos mayores.

### **Cuantificación del ADN**

Las concentraciones de ADN fueron estimadas por comparación con patrones de ADN del bacteriófago Lamda, de concentración inicial ( $539\text{ng}/\mu\text{l}$ ) y concentración final de  $10\text{ng}/\mu\text{l}$ . En la tabla 2 se muestran los patrones utilizados para la cuantificación.

Tabla 2 . Patrones del bacteriófago Lambda.

$\mu$ l ADN LAMBDA (20ng/ $\mu$ l)	BLUE JUICE	TE (1X)	VOLUMEN FINAL	CANTIDAD FINAL
1	0.5	4	5.5	20
2	0.5	3	5.5	40
3	0.5	2	5.5	60
4	0.5	1	5.5	80
5	0.5	0	5.5	100

En un gel de agarosa al 0.8% en buffer TBE 0.5X, con bromuro de etidio a una concentración final de 0.5 ug/ml, se sirvieron tanto los patrones del bacteriófago Lambda como las muestras a cuantificar 2  $\mu$ l de ADN. La cuantificación se efectuó por comparación visual de intensidad de las bandas de cada una de las muestras con el ADN Lambda para posteriormente determinar la concentración en ng/ $\mu$ l. El ADN cuantificado se diluyo en agua de HPLC hasta una concentración de 10 ng/ $\mu$ l. Se almaceno a  $-20^{\circ}\text{C}$

### Electroforesis

La visualización de ADN se realizo en un gel de agarosa al 0.8% preparado con TBE 0.5X (Tris-Borato-EDTA) y con bromuro e etidio 1 l (mg/ml). Se tomaron 6  $\mu$ l de cada una de las muestras de ADN y se tiñeron con 2  $\mu$ l de Blue Juice en seguida de este proceso el cóctel se sirvió en los pozos del gel. La electroforesis se corrió a 70 voltios durante una hora, el gel se observo en el transiluminador y se fotografió.

### Amplificación del ADN mediante PCR

#### Microsatélites RAMs

La amplificación se realizo con 7 primers. Reportados en trabajos anteriores como polimorfimorficos en evaluaciones de diversidad genética de la especie *Phaeoisariopsis griseola*, agente causal de la mancha angular en frijol (Henríquez, 2000), *Sphaceloma Manihoticola*, agente causal del alargamiento en yuca (Mejia, 2002), *Physalis* (Bonilla y Espinosa, 2003), *Rubus ssp* (Coronado y Coronado, 2003) y en especies animales como Hartón del Valle (Piedrahita, 2003), Cerdo criollo (Oslinger, 2003) (Tabla 3).

Tabla 3. Cebadores utilizados en microsatélites RAMS.

PRIMER	SECUENCIA
TG	HVHTGTGTGTGTGTGTGT
CCA	DDBCCACCACCACCACCA
CGA	DHBCGACGACGACGACGA
GT	VHVGTGTGTGTGTA
AG	HBHAGAGAGAGAGAGAGA
CA	DBDACACACACACACACA
CT	DYDCTCTCTCTCTCTCTC

Las siguientes designaciones son usadas para los sitios degenerados: H (A,T,C); B (G,T,C); V (G,A,C) y D (G,A,T).

Para la realización de las amplificaciones fue necesario estandarizar las condiciones de cada uno de los cebadores RAMs seleccionados, para esto se efectuaron diferentes curvas para determinar las concentraciones optimas de los elementos del coctel de amplificación.

De igual forma se realizaron ajustes del perfil térmico de PCR para cada uno de los cebadores, debido a que la temperatura de hibridación no es la misma para todos (Tabla 4, Tabla 5).

Tabla 4. Temperatura de hibridación utilizada para cada primer

PASOS	TEMPERATURA (C)	TIEMPO (min.)
Desnaturalización Inicial	95	5.00
Desnaturalización	95	5:00
Hibridación	—	0:45
Extensión	72	2:00
37 Ciclos desde paso 2		
Extensión Final	72	7:00

Tabla 5. Perfil térmico para RAMs.

Cebadores	Temperatura de hibridación (C)
AG-CA	50
CCA-TG-CT	55
GT-CGA	58

Los siete primers utilizados se probaron con cócteles de diferentes cantidades de buffer PCR1X y MgCl<sub>2</sub> (con todas las muestras (Tabla 5) , el producto amplificado fue observado mediante electroforesis en geles de agarosa al 5% y visualizado con luz ultravioleta en el transiluminador (Tabla 6).

Tabla 6. Cócteles para la amplificación con RAMs (μl)

REACTIVO	1	2	3	4	5	6	7	8
Buffer	2.5	2.5	2.5	2.5	1.6	2	2	3
DNTPs	4	4	4	4	4	4	4	4
Primer	2	2	2	2	2	2	2	2
MgCl <sub>2</sub>	1.5	2	2.5	3	1.5	1.5	2.5	1.5
ADN	2	2	2	2	2	2	2	2
Taq	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
H <sub>2</sub> O	12.8	12.3	11.8	11.3	13.7	13.3	12.3	12.3
TOTAL	25	25	25	25	25	25	25	25

Para la reacción de microsatélites RAMs se preparo el cóctel 3 de amplificación en un tubo estéril de microcentrifuga ( 1,5ml) para un volumen final de 25 μl. (Tabla7).

Tabla 7. Cóctel para la amplificación por RAMS.

REACTIVOS	VOLUMEN (μl)	[ ] INICIAL	[ ] FINAL
Buffer TAQ (Promega Stock)	2.5	10X	1X
dNTPs (2mM cada dNTPs Stock)	4	1.25mM	0.2mM
Primer 0.5μM Stock (tabla 3)	2	50μM	4 μM
MgCl <sub>2</sub> ( 25mM Promega Stock)	2.5	25mM	2.5mM
ADN 5 ng/μl	2	10ng/μl	20ng
Agua bidestilada, estéril y filtrada (0.2 μm	11.8		
Taq polimerasa (5 Units/μl; Promega Stock)	0.2	5 u/μl	1 unidad

Después de la amplificación con los primers de todas las muestras se realizo una electroforesis en geles de poliácridamida en concentraciones de 12%, 10%, 9%, 7%, 5%. La electroforesis se corrió a un voltaje de 160 voltios por una hora.

La observación de las bandas en el gel de poliacrilamida se realizó mediante un proceso de tinción con plata para ácidos nucleicos y proteínas (Anexo 3).

## **Análisis estadísticos**

### **3.5.2.1 Similitud Genética : Coeficiente de Similaridad de Nei-Li**

La similitud genética entre todas las introducciones fue calculada con el coeficiente de Nei –Li (1979), también conocida como similitud de DICE (Sneath y Sokal, 1973). Cuya formula es

$$S_{ij} = \frac{2a}{2a + b + c}$$

Donde:

SIJ = Similitud entre el individuo i y el j

a = N° de bandas presentes simultáneamente en los individuos i y j

b = N° de bandas presentes en i y ausentes en j

c = N° de bandas presentes en j y ausentes en i

Los pares negativos (0-0) son omitidos y a los pares positivos (1-1) el coeficiente de DICE les da doble peso (Sneath y Sokal, 1973) lo que es de utilidad en términos de similitud del ADN, en el que la ausencia compartida de una banda no es necesariamente una indicación de similitud entre dos individuos.

## **Matriz de Variable Binaria**

Al crear la matriz de variables binarias se tuvo en cuenta la ausencia y presencia de bandas; en el cual la ausencia de bandas se tomo como (0) y la presencia de bandas como (1). En esta matriz las accesiones forman filas y las bandas evaluadas en cada uno de ellos, columnas.

## **Método de Clasificación**

Con el programa SIMQUAL del paquete “ Numerical Taxonomy System for personal Computer” (NTSYS- pc versión 1.8), se construyo la matriz de similitud. El método utilizado fue el de distancia (o similitud) media UPGMA ( del

ingles UnWeighted pair- Grupp que es el mas usado y el que produce menor distorsión al ser comparada con a matriz original de similaridad. A partir de esta matriz se construyo un dendrograma con el programa TREE de NTSYS – PC (NTSYS-pc versión 2.02).

## **6.5 Sistematización**

Este aspecto se enfoco en el análisis y sistematización de los datos para la redacción del documento final. La sistematización se realizo teniendo en cuenta una recopilación la cual se enfoco hacia la etnobotánica, la morfológica y los análisis moleculares.

Para la organización de los datos etnobotánicos se realizaron entrevistas mediante fichas botánicas y etnobotánicas de campo (Sanabria y Hernández, 2003) . A medida que progresa el trabajo se podrán obtener diferentes tipos de datos, incluyendo información sobre los ejemplares de herbario en libretas.

La descripción morfológica se organizo de acuerdo a los descriptores varietales ( Muñoz y Soto, 1993) y las normas ISTA, (1999) para la caracterización de germoplasma y respuesta fisiológica, además de la realización de informes periódicos de salidas y el material campo.

Las pruebas moleculares fueron sistematizados en informes periódicos de laboratorio y en análisis estadísticos, estos generaron una matriz binaria de ceros y unos, cero ausencia y uno presencia. Las estimaciones de similitud se calcularon con el método de Nei- Li (1979). Se realizo un análisis cluster por el método UPGMA y se genero un dendrograma utilizando el paquete estadístico NTSYS-pc versión 2.0. La representación multidimensional de los individuos se realizo con un análisis de Correspondencia Múltiple generado mediante el programa SAS (Informe Técnico Final . Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI 2005).

De igual forma las 43 colectas fueron registradas en una base de datos (Anexo 1) la cual también esta disponible como una base de datos computarizada utilizando el programa Arcview (Informe Técnico Final. Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI 2005)

Posteriormente se realizaron los análisis de los datos y su presentación.

## 7. RESULTADOS

### DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE VARIANTES DEL FRÍJOL CACHA

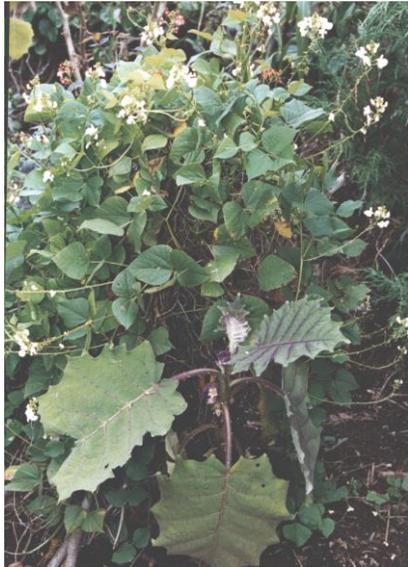
#### 7.1 Hábitats del frijol cache *Phaseolus dumosus* Macfady

En el departamento del Cauca en los municipios de Silvia y Totoró donde se encontraron la variante de semilla, y posibles híbridos. (Tabla 8) se localizan grupos indígenas Nasa y Guambiana los cuales mantienen el frijol cache como es llamado en la huerta (Tul) asociado a tutores como el maíz, árbol de paico y en cercas como límite de la huerta y como barreras protectoras junto a plantas de zapallo o mejicano y curuba. Al igual que con en asociación con la especie de frijol *Phaseolus coccineus* L, en estas huertas los suelos se les adiciona abono orgánico. Constantemente el frijol es manejado por medio de limpiezas y podas observándosele arbustivo, aunque conserve un hábito de crecimiento indeterminado trepador con flores blancas y semillas amarillas (Tabla 8) y flores blanco pigmentado morado claro y semillas café rojizo pintas amarillas PSCV008, PSCV043. (Figura 6). Se aprecia que aunque el frijol es frecuente dentro de agroecosistemas no se encontraron numerosas poblaciones en ninguna de los ambientes cultivados. Estos ejemplares pueden ser interpretados como un resultado de la selección por las comunidades de esta región, por el color de semilla, el sabor, la no utilización de agroquímicos y como una correspondencia entre las características que la especie presenta en a forma natural y la mayor preferencia que se les da a las formas tradicionales. Esta interpretación significaría que esta especie se encuentra en un estadio incipiente de domesticación lo cual concuerda con Debouck, 1991. (Tabla 8).

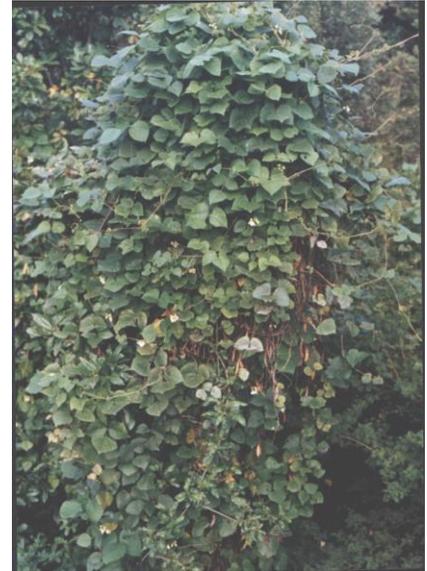
Las colectas de frijol cache de variante de semilla, y posibles híbridos (Tabla 8) con flores blancas y semillas amarillas (Tabla 8), se encontraron igualmente en zonas ruderales como bordes de ríos y quebradas y taludes asociado tutores o árboles grandes semicultivado en donde la demás vegetación es intervenida por la gran densidad que posee este frijol puesto que no es podado observándose así su predominante volubilidad en su hábito de crecimiento indeterminado trepador; propiciado así un espacio cerrado y con sombra y en donde no se le abona

Tabla 8. Colectas, descripciones *In situ* y hábitats del frijol *P. dumosus* Macfady en el departamento del Cauca

COLECTA N°	LUGAR DE COLECTA	DESCRIPCIÓN	POSIBLES ESPECIES	ALTURA (m)	HABITO DE CRECIMIENTO	AGROHÁBITATS
♣ PSCV003	D: Cauca, M: Silvia, C: el manzanal	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2680	Indeterminado trepador	Cerca, borde de camino
♣ PSCV 004	D: Cauca, M: Totoró, C: la peña	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2679	Indeterminado trepador	Cerca, borde de carretera
♣ PSCV005	D: Cauca, M: Silvia, C: Villanueva	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2704	Indeterminado trepador	Tul, tutor árbol paico
♣ PSCV006	D: Cauca, M: Silvia, C: las delicias	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2680	Indeterminado trepador	Cerca, dentro del tul, lado de casa
♣ PSCV009	D: Cauca, M: Silvia, C: el manzanal	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2507	Indeterminado trepador	Ribera de bosque secundario
♣ PSCV010	D: Cauca, M: Silvia, C: Miraflores	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2440	Indeterminado trepador	Tul, tutor árbol de paico
♣ PSCV012	D: Cauca, M: Totoró, C: Betania	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2682	Indeterminado trepador	Tul, tutor árbol de paico
♣ PSCV038	D: Cauca, M: Caldonó, C: Pueblo Nuevo	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2123	Indeterminado trepador	Tul, tutor naranjo junto a casa
♣ PSCV041	<i>P. dumosus</i>	cruce puente Popayán	Totoró/Cauca	2538	Indeterminado trepador	Borde de carretera, puente cruce Popayán
▼ PSCV008	D: Cauca, M: Silvia, C: el manzanal	F: blanca, S: rojo pintas amarillas	Híbrido( <i>P. dumosus</i> - <i>P. vulgaris</i> ) ( <i>P. dumosus</i> - <i>P. coccineus</i> )	2507	Arbustivo	Cultivo maíz, sin tutor
▼ PSCV043	D: Cauca, M: Silvia C: Miraflores	F: blanca, S: rojo pintas amarillas	Híbrido con características de híbrido natural	2395	Arbustivo	Tul, sin tutor, arbusto pequeño



Arbustivo Cultivado con tutor y asociado  
PSCV008



Indeterminado trepador Totoró  
amarilla silvestre PSCV009

Figura 6. Hábitats del fríjol *P. dumosus* L en el Departamento de Cauca Informe Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI .Técnico Final .2005.

En el departamento de Nariño en los municipios de Pasto, Yacuanquer, La Florida, se encontró la variante de semilla amarilla ( Tabla 9 ) y 3 posibles híbridos (Tabla 9).

El cultivo de este fríjol al cual le llaman *veranero* se utiliza primordialmente para el consumo, y se encuentra asociado a cercas como tutor pues no se halla en varas de maíz, pero si entre el sistema de huerta junto con otras plantas de clima frío como la col, la cebolla, el maíz tomate de árbol, arracacha y cilantro aunque gran parte de los suelos se dedican al cultivo de cebada (Figura 7).

También se encontraron en sistema ruderal de talud y borde de quebrada (Ver tabla) en suelos húmedos y de abundante materia orgánica debido a su distribución sobre la zona de influencia del volcán Galeras.

Tabla 9. Colectas, descripciones *In situ* y hábitats del frijol *P. dumosus* Macfady en el departamento de Nariño Informe Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI .Técnico Final . 2005

COLECTA N°	LUGAR DE COLECTA	DESCRIPCIÓN	POSIBLES ESPECIES	ALTURA (m)	HABITO DE CRECIMIENTO	AGROHÁBITAT
♣ PSCV013	D: Nariño, M: Yacuanquer, C: Mohechiza bajo	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2507	arbustivo	Cerca de huerta, lado de casa
♣ PSCV014	D: Nariño, M: Florida, C: Genoy	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2573	Indeterminado trepador	Cerca de huerta, lado de casa
♣ PSCV025	D: Nariño, M: Yacuanquer zona urbana	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2123	Indeterminado trepador	Ribera de quebrada, sin huerta
♣ PSCV 026	D: Nariño, M: Yacuanquer zona urbana	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2763	Indeterminado trepador	Cerca, al lado de carretera
♣ PSCV028	D: Nariño, M: Yacuanquer, C: chapacual	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i> (mezcla en la misma población)	2672	Indeterminado trepador	Talud al lado de la carretera, rastrojo
♣ PSCV030	D: Nariño, M: Yacuanquer, C: Mohechiza	F: blanca, S: no se colecto pl. seca	<i>Phaseolus coccineus</i>	2672	Indeterminado trepador	Cerca, delimitando la huerta
♣ PSCV031	D: Nariño, M: Nariño, C: Panchindo	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2672	Indeterminado trepador	Ribera de quebrada, borde de carretera
♣ PSCV032	D: Nariño, M: Nariño, C: Panchindo	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2283	Indeterminado trepador	Ribera de quebrada, borde de carretera
♣ PSCV033	D: Nariño, M: Nariño, C: Panchindo	F: blanca, S: amarilla (floración)	<i>Phaseolus dumosus</i>	2283	Arbustivo	Cerca del huerta al lado de casa
♣ PSCV034	D: Nariño, M: la florida, C: El Barranco	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2279	Indeterminado trepador	Cerca en talud al borde de carretera
♣ PSCV016	D: Nariño, M: la florida, C: El Barranco	F: rojas, S: negra pintas amarillas	Posible híbrido ( <i>P. coccineus</i> x <i>P. dumosus</i> )	2279	Indeterminado trepador	Cerca de huerta, lado de casa
▼ PSCV040	D: Nariño, M: Florida, C: Genoy	F: rosada, S: amarilla	Posible híbrido <i>P. dumosus</i> x <i>P. coccineus</i>	2123	Arbustivo	Alrededor de la casa, zona urbana

La vegetación característica arbórea y arbustiva (Tabla 9) usada como tutor por estas colectas en el cual el fríjol se encuentra con gran densidad expresando así el habito de crecimiento indeterminado trepador (Figura 7).



Semilla amarilla, hábitat en cerca  
PSCV031



Semilla amarilla de hábitat ruderal  
PSCVO30

Figura 7. Hábitats del fríjol *P. dumosus* en el Departamento Nariño. Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI/ . Informe Técnico Final . 2005

En el departamento del Putumayo Valle de Sibundoy en los municipios de Santiago, Sibundoy y San Francisco.

Tabla 10. Colectas, descripciones *In situ* y hábitats del frijol *P. dumosus* Macfady en el departamento de Putumayo (Valle del Sibundoy) Informe Técnico Final . 2005

COLECTA N°	LUGAR DE COLECTA	DESCRIPCIÓN	POSIBLES ESPECIES	ALTURA (m)	HABITATO DE CRECIMIENTO	AGROHÁBITAT
♣ PSCV019	D: Putumayo M: Santiago, zona urbana	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2125	Indeterminado trepador	Cerca, chagra, retirada de casa
◀ PSCV023	D: Putumayo M: Sibundoy C: Tamabioy	F: desconocida S: blanca	Variante <i>Phaseolus dumosus</i>	2125	Indeterminado trepador	Cerca al borde de carretera
♣ PSCV024	D: Putumayo M: Sibundoy C: San silvestre	F: blanca S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2125	Indeterminado trepador	Chagra, tutor limón
◀ PSCV036	D: Putumayo M: Santiago C: Vichoy	F: blanca S: blanca	Variante <i>Phaseolus dumosus</i>	2435	Indeterminado trepador	Cerca en borde de carretera junto a casa
♣ PSCV037	D: Putumayo M: Sibundoy C: San silvestre	F: blanca S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	2123	Indeterminado trepador	Chagra, tutor árbol limón
▼ PSCV022	D: Putumayo M: Sibundoy C: Tamabioy	F: escarlata S: escarlata o rojiza	Posible híbrido <i>P. dumosus</i> x <i>P. coccineus</i>	2121	Indeterminado trepador	Cerca al borde de carretera

En el Valle del Sibundoy habitan comunidades indígenas Ingas y Camentza por lo que existen agroecosistemas tradicionales como chagras, las cuales son sistemas que presentan vegetación natural intervenida. Dentro y alrededor de la chagra se encontraron ejemplares con flores blancas con semillas amarillas y semillas blancas (Tabla 10) y flores rojas y semillas café rojizo PSCV022, (Tabla 10) sobre tutores como árboles de eucalipto *Eucaliptus glóbulos* y *Sauce fraxinus* sp en este sistema al frijol no lo podan constantemente pues lo hacen cada vez que modifican todo el sistema para renovarlo, esto lo realizan en largos periodos favoreciendo su crecimiento como indeterminado trepador en árboles de gran dosel hacia otras plantas exponiendo así gran densidad, estableciéndose sistemas aéreos con otras plantas. Se le halló en cercas las cuales delimitan las chagras en asociaciones con frijol *Phaseolus coccineus* L, y plantas de crecimiento voluble o indeterminado como calabaza *Cucurbita ficciola*, maracuyá *Passiflora edulis* y cidra *Sechium edule* contrariamente no se encontró en hábitats naturales o silvestres como en las otras regiones recorridas (Fotos. 6). Se puede deducir por ello que los materiales colectados de esta especie se encuentran relacionados en cuanto a su morfología, uso y manejo ya que poseen características deseables a las necesidades y preferencias sociales directas como el autoconsumo y la comercialización (Figura 8).



Hábitat chagra (cultivado)



Tutor semilla amarilla (cultivado)

Figura 8. Hábitats del frijol *P. dumosus* en el Departamento Putumayo. Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI/ . Informe Técnico Final . 2005

La información generada de las colectas (Tabla 10) a partir de la descripción de la fase vegetativa y reproductiva que a continuación se expondrá; permitió conocer y evidenciar las características de la especie y las variantes presentes en *Phaseolus dumosus* Macfady.

## 7.2 Descripción fase germinativa

El seguimiento fenológico de las diferentes etapas de la fase vegetativa de las variantes y posibles híbridos caracterizados como parte de la especie *Phaseolus dumosus* M permitieron registrar las siguientes observaciones:

Las etapas de la fase vegetativa no presentaron diferencias marcadas en cuanto al tiempo en días después de la siembra hasta la aparición de la primera hoja (compuesta) trifoliada, tanto para variantes como para posibles híbridos el cual se desarrollo en 27 días (Tabla 11).

La emergencia de la semilla de las variantes color amarillo dorado (Tabla 11) y pajizo (PSCV023, PSCV036) mostraron en promedio de 9 a 12 días; en este estado las plantas presentaron una germinación epigea (característica particular para la especie *P. dumosus* M), Tiempo en el cual sus hipócotilos registraron un verde pigmentado con lila y sus epicotilos verdes; así mismo como cotiledones verde claro (Tabla 11).

La descripción vegetativa en los posible híbridos PSCV008, PSCV022, PSCV040, PSCV043 presentaron germinación epigea, excepto con el ejemplar PSCV040 el cual en algunas plantas se observo germinación hipogea característica para *Phaseolus coccineus* L; de igual forma que germinación epigea. Característica de *P. dumosus* M. el cual puede ser tomada como una característica intermedia entre *P. dumosus* M y *P. coccineus* L ubicándose así como un posible híbrido natural. En cuanto al diámetro y longitud de los cotiledones en la germinación epigea no se presentaron diferencias considerables y no hubo discriminación entre variantes de la especie; en cuanto al color en venaciones de las hojas el color patrón es el verde claro; en cotiledones predomina el verde claro, aunque se observaron diferencias en los ejemplares PSCV043, PSCV008 los cuales tuvieron un color verde claro con pigmentaciones púrpura, el color de hipócotilos y epicotilos presentaron patrones verde claro y verde claro con pigmentaciones púrpura en todas las variantes encontradas en los cuales no hay diferencias que los distingan y separen, similaridad que se presenta para la especie *P. coccineus* ( Figuras 10,11, 12, Tabla 11).



Epigea *P. dumosus* M  
Ejemplar PSCV028



Hipogea *P. coccineus* L  
Ejemplar PSCV002

Figura 9. Tipo Germinación epigea *P. dumosus* M (Proyecto Sena-Colciencias-999 VRI. Informe Técnico Final . 2005)

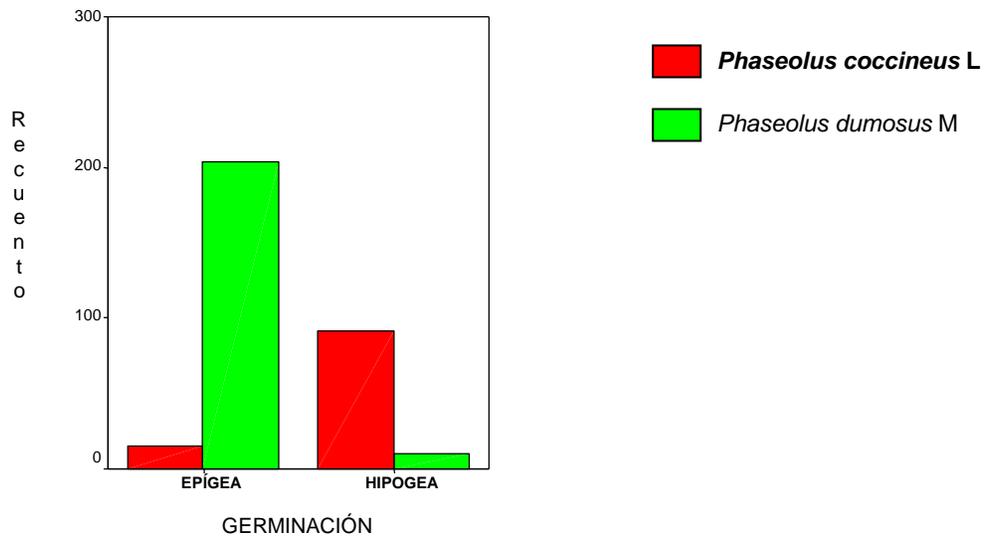


Figura 10. Numero y tipo germinación de las plántulas para *P. dumosus* y *P. coccineus*



a) *P. dumosus* L. PSCV003



b) *P. coccineus* L. PSCV002

Figura 11. Diferencia del color en la venación del envés de la hojas primarias entre las especies a) *P. dumosus* M (verde claro) y b) *P. coccineus* L. (Púrpura). Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI/ . Informe Técnico Final . 2005

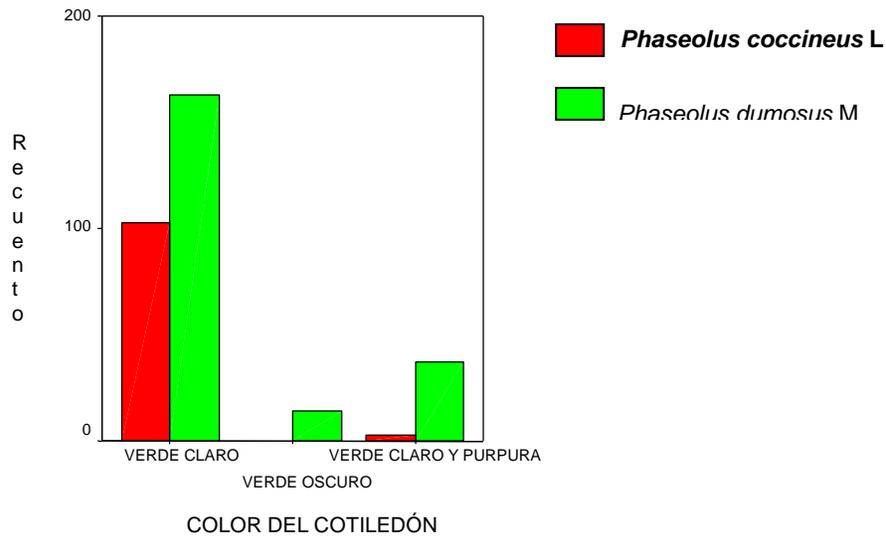


Figura 12. Color cotiledón para *P. dumosus* y *P. coccineus*

Tabla 11. Modalidades en la fase vegetativa de las variables cualitativas y promedios variables cuantitativas de *Phaseolus dumosus* M

<b>COLECTA N°</b>	<b>ESPECIE</b>	<b>GERMINACIÓN</b>	<b>COLOR COTILEDÓN</b>	<b>COLOR NERVADURAS</b>	<b>HIPOCOTILO COLOR</b>
PSCV003	<i>P. dumosus</i>	epigea	verde pálido	verde	verde
PSCV004	<i>P. dumosus</i>	epigea	verde oscuro	verde	púrpura
PSCV005	<i>P. dumosus</i>	epigea	verde oscuro	verde pálido	púrpura y verde
PSCV006	<i>P. dumosus</i>	epigea	verde pálido	verde pálido	púrpura y verde
PSCV007	<i>P. coccineus</i>	hipogea	verde pálido	púrpura	verde
PSCV008	híbrido	epigea	verde pal y púrpura	verde pálido	verde
PSCV009	<i>P. dumosus</i>	epigea	verde claro, verde	púrpura	verde pálido
PSCV010	<i>P. dumosus</i>	epigea	verde claro, verde	verde pálido	verde claro
PSCV011	<i>P. coccineus</i>	hipogea	verde pálido	verdes y púrpuras	verde
PSCV012	<i>P. dumosus</i>	epigea	verde pálido	verde oscuro, pálido	púrpura
PSCV014	<i>P. dumosus</i>	epigea	verde	verde oscuro, pálido	verde
PSCV015	<i>P. coccineus</i>	hipogea	verde pálido	púrpura	verde
PSCV018	<i>P. coccineus</i>	hipogea/epigia	verde pálido y verde	púrpura	verde
PSCV019	<i>P. dumosus</i>	Epigea	verde pálido	verde pálido	púrpura y verde
PSCV022	<i>P. dumosus</i>	Epigea	verde claro, púrpura	púrpuras y verde	verde y púrpura
PSCV023	<i>P. dumosus</i>	Epigea	verde pálido	verde pálido	púrpura
PSCV024	<i>P. dumosus</i>	Epigea	verde pálido	verde pálido	púrpura
PSCV025	<i>P. dumosus</i>	Epigea	verde pálido y púrpura	verde pálido	púrpura

(Continuación) Tabla 11. Promedios de la Fase vegetativa de las variables cuantitativas de *Phaseolus dumosus*.  
 Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI/ . Informe Técnico Final . 2005. (mm)

COLECTA EMERGENCIA N°	HIPOCOTILO EN DÍAS	LONGITUD		HOJA PRIMARIA 1		HOJA PRIMARIA 2	
		LONGITUD/ PROM EPICOTILO	PROM ANCHO/ PROM LARGO	PROM Ancho/ prom Largo	prom		
PSCV003	10	50	50.6	60	70.4	60.3	70.3
PSCV004	10	50.5	60.4	60	70.4	60.2	70.7
PSCV005	10	60.3	60	60.3	70.5	60.1	70.4
PSCV006	10	60.5	50.7	50.9	70.1	50.9	70
PSCV008	10	80.2	50.5	60.4	60.1	60.6	60.2
PSCV009	10	60.1	70.5	70.6	80.8	70.8	90.1
PSCV010	10	60.2	70.9	70.7	90.3	70.8	90.2
PSCV011	12	70	50.3	50.6	50.6	50.3	40.9
PSCV012	10	50.6	60.7	70.3	80.3	70.7	90
PSCV014	11	40.9	80.1	70.1	80.9	60.9	70.9
PSCV015	11	70	60.3	50.7	50.9	50.9	60.1
PSCV019	10	40.8	70.1	70.1	80.4	70.2	80.3
PSCV022	12	60.3	80.8	70.1	70.5	60.8	70.3
PSCV023	12	70	80.9	70.5	90.2	70.5	90.3
PSCV024	10	50.3	80.9	70	60.2	60.8	60.6
PSCV025	10	60.1	70.9	70.1	70.3	70	80

(Continuación) Tabla 11. Modalidades en la Fase vegetativa de las variables cualitativas de *Phaseolus dumosus*. Informe Técnico Final . 2005.

<b>COLECTA N°</b>	<b>ESPECIE</b>	<b>GERMINACIÓN</b>	<b>COLOR COTILEDÓN</b>	<b>COLOR NERVADURAS</b>	<b>HIPOCOTILO COLOR</b>
PSCV026	<i>P. dumosus</i>	epigea	verde pálido y púrpura	verde	púrpura
PSCV027	<i>P. coccineus</i>	hipogea	verde pálido	púrpura	blanco y púrpura
PSCV028	<i>P. dumosus</i>	epigea	verde pálido y púrpura	verde	púrpura
PSCV032	<i>P. dumosus</i>	epigea	verde pálido	verde	púrpura
PSCV034	<i>P. dumosus</i>	epigea	verde pálido	verde	púrpura
PSCV036	<i>P. dumosus</i>	hipogea	verde pálido	verde pálido	verde
PSCV039	<i>P. coccineus</i>	hipogea	verde pálido	verde	verde
PSCV040	<i>P. dumosus</i>	epigea	verde pálido	púrpura	púrpura
PSCV041	<i>P. dumosus</i>	epigea	verde pálido	verde	verde y púrpura
PSCV043	HIBRIDO	epigea	verde claro y púrpura	verde claro	verde

Continuación) Tabla 11. Promedios de la fase vegetativa para variables cuantitativas de *Phaseolus dumosus* (mm). (Informe Técnico Final . 2005).

COLECTA	EMERGENCIA	HIPOCOTILO	EPICOTILO	HOJA PRIMARIA 1		HOJA PRIMARIA 2	
	EN DÍAS	LONGITUD/ PROM	LONGITUD/PROM	ANCHO/PROM	LARGO/PROM	ANCHO/PROM	LARGO/PROM
PSCV026	10	50.6	70.4	70.4	80.1	70.8	80.7
PSCV027	12	50.8	10.5	50.7	70.1	50.9	70.1
PSCV028	10	50.3	6.4	70.1	80.5	70	80.6
PSCV032	10	60.1	80.0	70.6	80.8	70.5	80.5
PSCV034	10	40.3	60.7	60.6	70.4	60.6	70.1
PSCV036	11	20.3	70.3	70.1	70.6	60.9	70.1
PSCV040	11	20.6	90.9	70.4	70.4	70.3	70.6
PSCV041	10	60.7	70.1	70.5	80.8	70.6	80.8
PSCV043	10	30.9	80.1	70.0	70.8	70.3	70.8

Con el análisis de variables cuantitativas utilizados en la caracterización de la colección para *Phaseolus dumosus* M de las hojas se observó que esta especie tiene un crecimiento más rápido y la formación de sus primeras hojas trifoliadas es más lento puesto que esta las desarrolla a los 26 días. Contrario a esto, *P. coccineus* es una especie que presenta un crecimiento en talla más pausado pero que desarrolla sus primeras hojas trifoliadas más rápido en promedio a los 19 a 22 días. Con respecto al diámetro y longitud de las hojas primarias se apreció que las poblaciones no presentaron diferencias notables ya que son muy homogéneas, aunque el color de las hojas para *P. dumosus* es un verde claro excepto para los ejemplares PSCV008, PSCV022, PSCV040, PSCV043 los cuales presentaron una venación verde claro pigmentado púrpura y para *P. coccineus* un color púrpura más oscuro (Figura 11, Tabla 12).

Las características presentadas por cada una de las introducciones a las que se les hizo el seguimiento vegetativo con respecto al tipo de germinación epigea para *P. dumosus* M ratifican en gran parte el estatus taxonómico determinado por los especialistas del CIAT y la bibliografía citada.

### **7.3 Descripción fase reproductiva de las colectas**

#### **7.3.1 Variantes determinadas de *Phaseolus dumosus* Macfady.**

##### **Flores**

Todos los ejemplares colectados de la variante de color de semilla amarilla (Tablas 8,9,10,11,) encontrada en los tres departamentos y la variante de semilla blanca como PSCV023, PSCV036 colectados en el Putumayo se ubican como *Phaseolus dumosus* M (Tabla 12). El color predominante de la flor para ambas variantes es blanco; el cual se distribuye según los segmentos de la flor; el limbo del estandarte presenta color blanco, el cuello un color blanco pigmentado verde, así mismo la flor exhibió un color de alas promedio blanco con venaciones grises claro, sea en su limbo o en su cuello (Figura 13). El estigma tuvo una disposición general capitado introrso (Figura 14, Figura 15). En bractéolas florales; no se presentaron diferencias marcadas entre las variantes con respecto a sus diámetros y sus longitudes ni en su forma la que se encontró lanceoladas en todas las colectas de agroecosistemas o hábitats ruderales. Por el contrario *Phaseolus coccineus* difiere en el ancho pues más amplio y de longitud menor notándose la forma ovada (Figura 16, Figura 17, Tabla 12).



Variante *P. dumosus* M PSCV014



Variante *P. dumosus* M PSCV036



*Phaseolus coccineus* Linneo PSCV011

Figura 13. Color flores comparativo entre las variantes y la especie *P coccineus*



a) Capitado introrso PSCV036



b) Capitado introrso PSCV014



c) Capitado extrorso  
*P. coccineus*

Figura 14. Disposición de estigmas entre variantes de *P. dumosus* (a, b) con la especie *P. coccineus* c) Informe Técnico Final . 2005

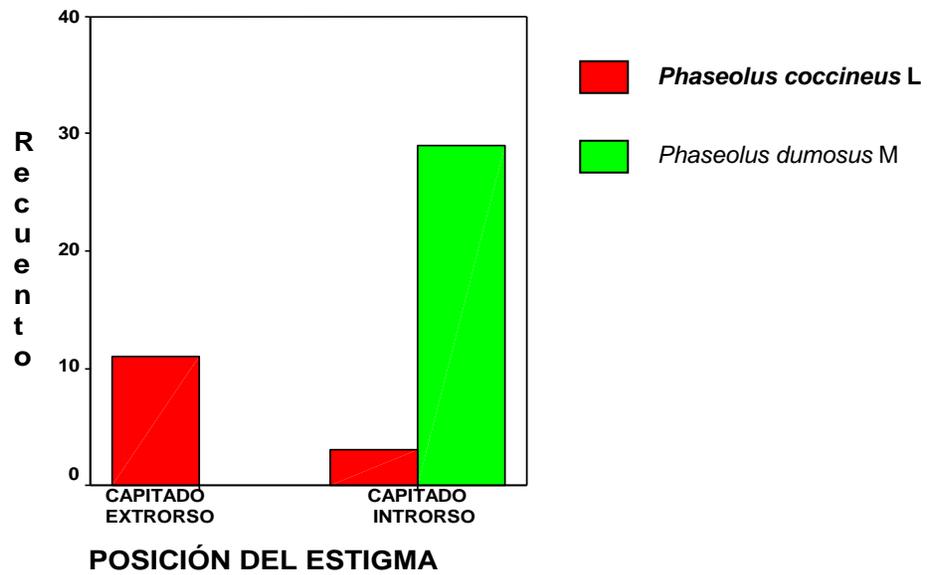
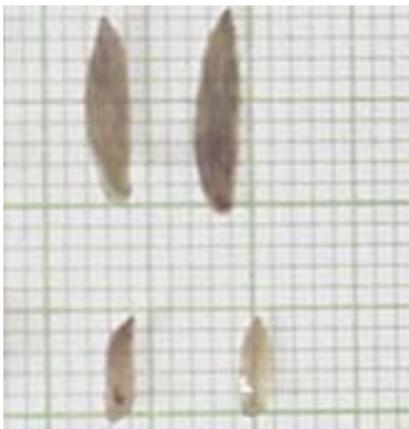
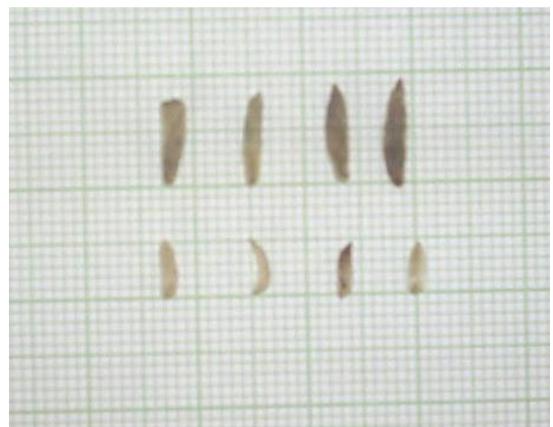


Figura 15. Posición estigma *P. dumosus*, *P. coccineus*



PSCV009



PSCV036

Figura 16. Bractéolas florales lanceoladas de las variantes en la especie *P. dumosus*. Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI/ . Informe Técnico Final . 2005

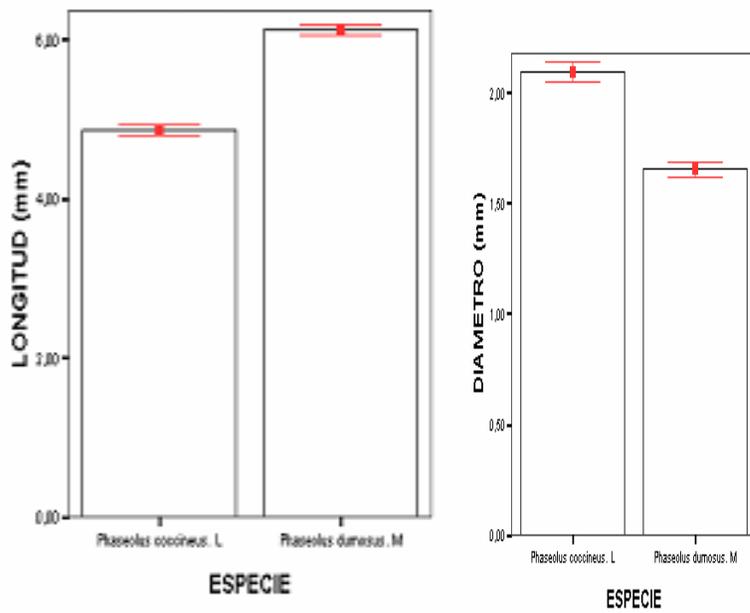


Figura 17. Diámetro y longitud promedio de bractéolas florales para *P. dumosus* variantes de semilla amarilla y blanca PSCV003,PSCV023 y *P. coccineus* PSCV011, PSCV027 (Tabla 11) (Informe Técnico Final . 2005).

Tabla 12. Modalidades de descripción morfológica de variables cualitativas y promedios cuantitativos para flores de variantes de semilla amarilla y semilla blanca y semilla blanca de *Phaseolus dumosus* M. Informe Técnico Final . 2005.

COLECTA N°	COLOR PREDOMINANTE DE LAS ALAS	COLOR PREDOMINANTE DEL LIMBO DEL ESTANDARTE	PATRÓN DE DISTRIBUCIÓN DEL COLOR DEL LIMBO DEL ESTANDARTE	VENACIONES	COLOR PREDOMINANTE DE LAS VENACIONES	COLOR PREDOMINANTE DEL CUELLO DEL ESTANDARTE
PSCV003	blanco	blanco	uniforme	presente	gris claro	verde claro
PSCV004	blanco	blanco	blanco-uniforme	presente	gris claro	verde claro
PSCV005	blanco	blanco	blanco-uniforme	presente	gris claro	verde claro
PSCV006	blanco	blanco	blanco-uniforme	presente	gris claro	verde claro
PSCV009	blanco	blanco	blanco	presente	gris claro	verde claro
PSCV010	blanco	blanco	blanco-uniforme	presente	gris claro	verde claro
*PSCV011	naranja oscuro	rojo	uniforme	presente	gris claro	rojo
PSCV012	blanco	blanco	uniforme	presente	gris claro	verde claro
PSCV013	blanco	blanco	uniforme	presente	gris claro	verde claro
PSCV014	blanco	blanco	uniforme	presente	gris claro	verde claro
PSCV016	naranja oscuro	rojo oscuro	uniforme	presente	rojo	rojo
*PSCV017	naranja oscuro	rojo oscuro	uniforme	presente	rojo	rojo
PSCV023	Blanco	Blanco	uniforme	presente	gris claro	verde claro
PSCV024	blanco	blanco	uniforme	presente	gris claro	verde claro
PSCV025	blanco	blanco	uniforme	presente	gris claro	verde claro
PSCV026	blanco	blanco	uniforme	presente	gris claro	verde claro
*PSCV027	naranja oscuro	rojo	uniforme	presente	rojo	rojo

seralpmejE \**Phaseolus coccineus*

(Continuación) Tabla 12. (mm). Modalidades de descripción morfológica de variables cualitativas y promedios cuantitativos para flores de variantes de semilla amarilla y blanca de *Phaseolus dumosus* M. Informe Técnico Final . 2005

<b>Ejemplares colectados</b>	<b>Patrón de distribución del color del cuello del estandarte</b>	<b>Color predominante del cáliz</b>	<b>Posición estigma de la flor</b>	<b>Longitud bractéola</b>	<b>Diámetro bractéola</b>	<b>Forma bractéola</b>
PSCV003	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	6,5	1.5	Lanceolada
PSCV004	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	6.5	1.6	Lanceolada
PSCV005	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	6.9	1.9	Lanceolada
PSCV006	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	6.6	1.7	Lanceolada
PSCV009	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	8.2	2.6	Lanceolada
PSCV010	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	4.8	1.5	Lanceolada
110VCSP *	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	4.5	2	Ovada
PSCV012	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	6.6	1.6	Lanceolada
PSCV013	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	5	1.5	Lanceolada
PSCV014	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	6.2	1.6	Lanceolada
PSCV016	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	4,2	1.7	Ovada
PSCV019	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	6,3	1,5	Lanceolada
PSCV023	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	4.5	1.6	Lanceolada
PSCV024	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	5,7	1,2	Lanceolada
PSCV025	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	4,5	1,2	Lanceolada
PSCV026	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	4,7	1,1	Lanceolada
720VCSP *	Uniforme	Verde	Capitado e extrorso	5,0	2,7	Ovada

(Continuación) Tabla 12. Modalidades de descripción morfológica de variables cualitativas y promedios cuantitativos para flores de variantes de semilla amarilla y semilla blanca y semilla blanca de *Phaseolus dumosus* M. Informe Técnico Final . 2005

<b>Colecta N°</b>	<b>Color predominante de las alas</b>	<b>Color predominante del limbo del estandarte</b>	<b>Patrón de distribución del color del limbo del estandarte</b>	<b>Venaciones</b>	<b>Color predominante de las venaciones</b>	<b>Color predominante del cuello del estandarte</b>
PSCV028	Blanco	Blanco	Uniforme	Presente	Gris claro	Verde claro
PSCV030	Blanco	Blanco	Uniforme	Presente	Gris claro	Verde claro
PSCV031	Blanco	Blanco	Uniforme	Presente	Gris claro	Verde claro
PSCV032	blanco	Blanco	Uniforme	Presente	Gris claro	Verde claro
PSCV033	Blanco	Blanco	Uniforme	Presente	Gris claro	Verde claro
PSCV034	Blanco	Blanco	Uniforme	Presente	Gris claro	Verde claro
PSCV036	Blanco	Blanco	Uniforme	Presente	Gris claro	Verde claro
PSCV037	Blanco	Blanco	Uniforme	Presente	Gris claro	Verde claro
PSCV038	Blanco	Blanco	Uniforme	Presente	Gris claro	Verde claro
PSCV041	Blanco	Blanco	Uniforme	Presente	Gris claro	blanco

(Continuación) Tabla 12. Modalidades de descripción morfológica de variables cualitativas y promedios cuantitativos para flores de variantes de semilla amarilla y semilla blanca y semilla blanca de *Phaseolus dumosus* M. Informe Técnico Final . 2005

COLECTA N°	PATRÓN DE DISTRIBUCIÓN DEL COLOR CUELLO DEL ESTANDARTE	COLOR PREDOMINANTE DEL CÁLIZ	POSICIÓN ESTIGMA DE LA FLOR	LONGITUD BRACTÉOLA	DIÁMETRO BRACTÉOLAS	FORMA BRACTÉOLA
PSCV030	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	6,3	1,4	Lanceolada
PSCV031	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	6,4	1,4	Lanceolada
PSCV032	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	6,0	1,4	Lanceolada
PSCV033	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	5,1	1,3	Lanceolada
PSCV034	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	5,2	1,4	Lanceolada
530VCSP*	Uniforme	Verde	Capitado e extrorso	4,6	1,5	Ovada
PSCV036	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	6,8	1,7	Lanceolada
PSCV037	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	7,5	1,8	Lanceolada
PSCV038	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	5,2	1,4	Lanceolada
*PSCV039	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	4,9	1,6	Ovada
PSCV041	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	6,5	1,3	Lanceolada

seralpmejE \**Phaseolus coccineus*

## VAINAS

El perfil predominante de la especie muestra a la variante de semilla amarilla (6) en mayor porcentaje puesto que esta se encontró en los tres departamentos del suroccidente, con respecto a la variante de semilla blanca (10) (Figura. 18) ya que esta se encontró en el Departamento Putumayo. Las dos variantes de la especie *P. dumosus* presentaron vainas con grado de curvatura (medianamente curvo), dirección de la sutura placentar (inversa); espolón (medianamente curvo) para todas las variantes encontradas, Así mismo las vainas de esta especie no presentaron diferencias en cuanto al diámetro y longitud ver figuras entre la variante de semillas amarillas en los tres departamentos ni entre la variante de semilla blanca ver figuras . La descripción de las vainas para esta especie difieren con *Phaseolus coccineus* puesto que para *P. dumosus* el espolón o uña es medianamente curvo y para *P. coccineus* es curvado ( Figura 19, Tabla. 14).

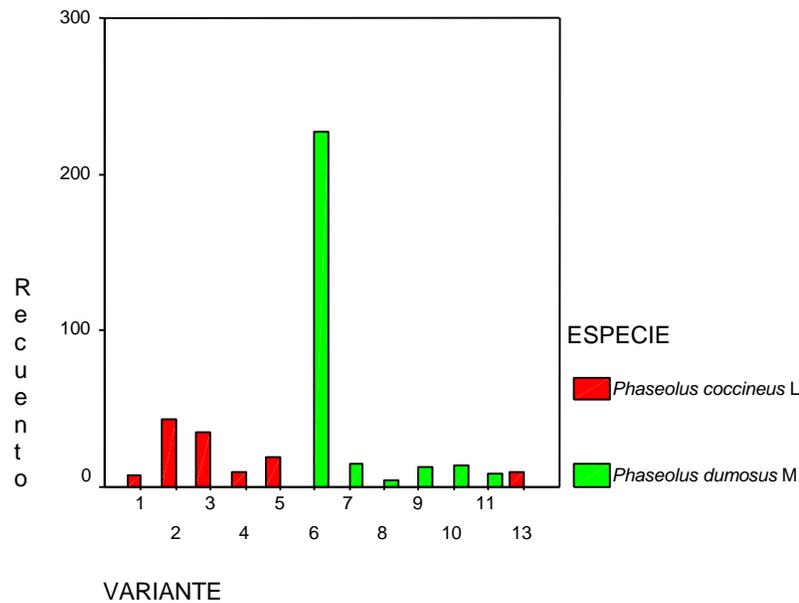


Figura 18. Perfil predominante de la vaina de variantes por especie *P. dumosus* y



Variante semilla amarilla  
*P. dumosus* M PSCV010



Variante semilla blanca *P. dumosus*  
PSCV023-PSCV036



Vainas *P. coccineus*  
PSCV011

Figura 19. Variantes de Vainas de *P. dumosus*, comparada con *P. coccineus*. Ver espolón.

Tabla 13. Modalidades de variables cualitativas y promedios cuantitativos de vainas de las variantes de semilla amarilla y semilla blanca de *Phaseolus dumosus* M. (mm)

COLECTA N°	VAINAS		PERFIL PREDOMINANTE DE LA VAINA	TIPO	TIPO PREDOMINANTE DEL ÁPICE DE LA VAINA SEGÚN DIRECCIÓN DE LA SUTURA			N° SEMILLAS POR VAINA
	LONGITUD	DIÁMETRO			SEGÚN GRADO DE CURVATURA	DIRECCIÓN DE LA SUTURA	N° SEMILLAS POR VAINA	
PSCV003	170	10.98	Medianamente curvo	Puntiagudo	Curvado	Inverso	3	
PSCV004	170.3	10.53	Medianamente curvo	Puntiagudo	Curvado	Inversa	3	
PSCV005	170	10.18	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	3	
PSCV006	131	10.69	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inverso	3	
PSCV009	140	10.69	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inverso	3	
PSCV010	160.5	10.27	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	3	
PSCV011	163.2	12.74	Medianamente curvo	Puntiagudo	Curvado	Inverso	4	
PSCV012	150.18	10.78	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	3	
PSCV013	140.5	10.16	Medianamente curvo	puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	4	
PSCV014	160.45	10.58	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	3	
PSCV016	170.47	10.85	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	3	
PSCV019	150.8	10.73	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	3	
PSCV023	150.7	10.81	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente Curvo	Inversa	2	
PSCV024	160.5	10.28	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	3	

(Continuación) Tabla 13. Modalidades de variables cualitativas y promedios cuantitativos de vainas de las variantes de semilla amarilla y semilla blanca de *Phaseolus dumosus*. Informe Técnico Final . 2005 (mm)

COLECTA N°	VAINAS		PERFIL PREDOMINANTE DE LA VAINA		TIPO PREDOMINANTE DEL ÁPICE DE LA VAINA SEGÚN GRADO DE CURVATURA	TIPO PREDOMINANTE DEL ÁPICE DE LA VAINA SEGÚN DIRECCIÓN DE LA SUTURA	TIPO PREDOMINANTE DEL ÁPICE DE LA VAINA N° SEMILLAS POR VAINA
	LONGITUD	DIÁMETRO		TIPO			
PSCV025	154.2	10.2	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inverso	4
PSCV026	160.44	10.95	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	3
*PSCV027	150.92	11.3	Medianamente curvo	Puntiagudo	Curvada	Inverso	3
PSCV028	180.82	10.93	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inverso	3
PSCV034	170	10.91	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	4
PSCV036	160.7	10.73	Medianamente curvo	Puntiagudo	medianamente curvo	Inverso	3
PSCV037	130.85	10.28	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inverso	3
PSCV041	172.4	10.3	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	3

ralpmejE \**Phaseolus coccineus*

## Semillas

La caracterización de las semillas presentaron 2 variantes para *Phaseolus dumosus* M ; Una de ellas con color primario amarillo dorado (Tabla 14) con hilum ovado, diámetro y longitud similares entre de la variante e igualmente entre variantes de la especie; esta variante presento mayor distribución en los tres lugares de colecta (Tablas 8,9,10) La variante de semillas de color primario Pajizo con ejemplares PSCV023, PSCV036, expusieron el hilum de forma ovada similar, aunque variaron de la semilla amarilla puesto que el Hilum de esta variante presento un ligero abultamiento; el peso, diámetro y longitud no fue diferenciable entre la variante pero si entre las variantes de la especie puesto que es menor a la variante amarilla (Tabla 14); de igual manera esta variante presento menor distribución puesto que solo se encontró en el departamento del Putumayo (Figura 20, 22. 13, Tabla 14); el cual se ve ratificado en la Figura 21 en donde el perfil de forma de hilum de las variantes de la especie muestra a la semilla amarilla (6) en mayor porcentaje de colecta y de datos tomados puesto que esta se encontró en los tres departamentos del suroccidente, con respecto a la variante de semilla blanca (11).



Variante semilla amarilla  
(Tabla 11)



Variante semilla blanca  
PSCV023-PSCV036

Figura 20. Semillas de variantes para la especie *P. dumosus* Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI/ . Informe Técnico Final . 2005



Tabla 14. Promedios de variables cuantitativas y modalidades cualitativas de semillas para la especie *P. dumosus*.  
Informe Técnico Final . 2005

COLECTA N°	TAMAÑO SEMILLAS			GROSOR SEMILLA	HILUM			COLORES SEMILLAS	
	PESO	ANCHO	LARGO		DIÁMETRO	LONGITUD	FORMA	PRIMARIO	SECUNDARIO
PSCV003	0.7391	10.3	17.47	6.4	2.1	4	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
PSCV004	0.7809	10.3	16.76	6.2	1.9	3.9	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
PSCV005	0.7648	10.66	17.5	6.3	1.8	3.8	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
PSCV006	0.7369	10.33	12.33	6.7	1.8	4	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
PSCV009	0.7693	10.8	17	6.89	1.6	7.62	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
PSCV010	0.6479	9.9	13.38	15.06	1.75	3.96	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
PSCV011	0.9531	11.58	15.84	7.21	1.7	4.2	Lanceolado	Lila	Lila
PSCV012	0.6478	10.33	16.9	6.46	1.86	3.54	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
PSCV013	0.8527	10.83	15.34	6.65	1.8	4.5	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
PSCV014	0.5291	10.63	16.2	7.3	1.9	4.252	Ovado	Crema suave	Amarillo dorado
PSCV016	0.8032	10.66	15.434	7.3	1.9	4.2	Ovado	Negro	Amarillo dorado
PSCV019	0.6334	10.11	15.9	8.54	1.57	3.71	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
PSCV023	0.6083	10.5	15.9	6.57	1.4	4.2	Ovado	Pajizo	Pajizo
PSCV024	0.7245	10.4	15.2	6.8	1.9	4	Ovado	Amarillo dorado	amarillo dorado
PSCV025	0.6178	10.6	15.1	4.5	1.9	4.2	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado

(CONTINUACIÓN) Tabla 14. Promedios de variables cuantitativas y modalidades cualitativas de semillas para la especie *P. dumosus*. Informe Técnico Final . 2005

PSCV026	0.7102	10.5	14	5.9	4.2	4.08	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo
720VCSP*	0.9505	10.3	14.1	6.5	1.9	3.5	Lanceolado	Lila	Lila
PSCV028	0.6307	9.7	15.5	3.3	1.8	4.9	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
PSCV030	0.6277	9.56	12.3	4	1.8	4	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
PSCV031	0.6922	10.6	13.2	6	1.8	4.1	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
PSCV032	0.9495	10.47	19	6.7	1.8	2.1	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
PSCV034	0.7228	10.48	13.8	6.17	1.8	4.1	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
530VCSP*	0.5946	9.7	15	6.3	1.4	4	Lanceolado	Crema	Canela
PSCV036	0.7317	9.3	15	6.5	1.6	5.6	Ovado	Pajizo	Pajizo
PSCV037	0.7358	10.4	13.5	6.6	1.8	4	Ovado	Amarillo dorado	Amartillo dorado
PSCV038	0.6417	10	13.01	5.9	1.7	3.9	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
930VCSP*	0.6417	10	14	10.6	1.7	3.9	Lanceolado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
PSCV041	0.7086	11	15.5	6.6	1.9	4	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado

seralpmejE \**Phaseolus coccineus*

Tabla 15. Características de las dos variantes de *Phaseolus dumosus* M

VARIANTE	GERMINACION	FLOR	ESTIGMA	BRACTÉOLA FLORAL	SEMILLA	FORMA HILUM
1	Epigea	Blanca	Capitado terminal Introrso	Lanceoladas	Amarilla dorado (Ver tabla)	Ovado
2	Epigea	Blanca	Capitado terminal Introrso	Lanceoladas	blanca	Ovado

### 7.3.2 Descripción de Posibles híbridos de *Phaseolus dumosus* Macfady.

La descripción como posibles híbridos adaptada en este trabajo parte del siguiente concepto:

Hibridación natural: cruzamiento al azar espontáneo entre poblaciones que tienen una historia previa de divergencia hasta el nivel de semiespecies y que están separadas por aislamiento ecológico parcial o reproductivo, o ambos (Grant, 1989).

Según Grant (1989), puede ocurrir entre especies simpátricas; o entre variantes que antes eran separadas y como resultado presentar tipos intermedios que se identifican por tener caracteres tanto de una especie como de otra.

Este estudio asume este concepto puesto que estos materiales fueron encontrados en campo en agroecosistemas y hábitats ruderales (Tablas 6,7,8) a los cuales se le describieron los siguientes caracteres.

#### Flores

El color de la flor en sus diferentes caracteres exhibieron marcadas diferencias comparadas a la descripción de las variantes para la especie las cuales presentaron todas las características hacia esta, indicando similaridad para los tres departamentos en aspectos cualitativos y cuantitativos. Contrario a esto los posibles híbridos PSCV008 PSCV02, PSCV040, PSCV043 presentaron caracteres que las diferencian de las variantes y entre los posibles híbridos., diferencias que se describirán a continuación.

Los posibles híbridos PSCV008, PSCV043 presentaron similitud en el color de flor distribuido según los siguientes caracteres; estandarte (cuello) verde pigmentado lila, (limbo) color blanco; alas de color blanco sea en su cuello o en su limbo (Figura 23). Disposición promedio del estigma capitado introrso (Figura 24, Figura 25) Bractéolas con forma ovadas el cual no es un carácter de *P. dumosus* el cual es visto en la (Figura 26, Tabla 17).



Posible híbridos PSCV008, PSCV043

Figura 23. Color flor para posibles híbridos de *P. dumosus* M



PSCV043



PSCV043

Figura 24. Posición estigma para posibles híbridos de *P. dumosus* M

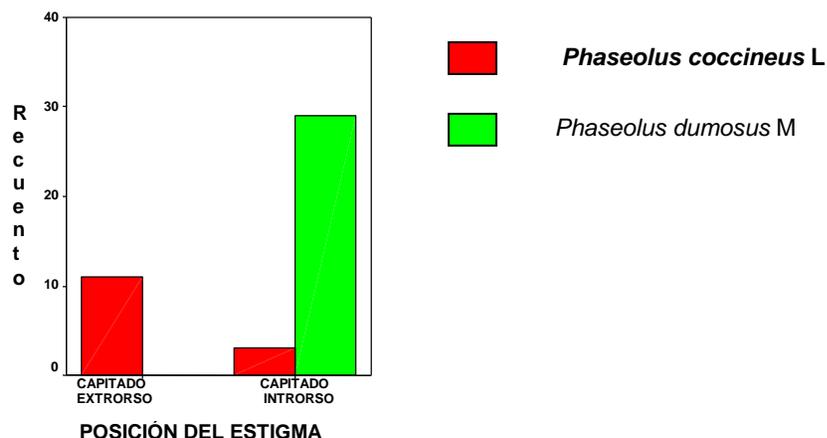
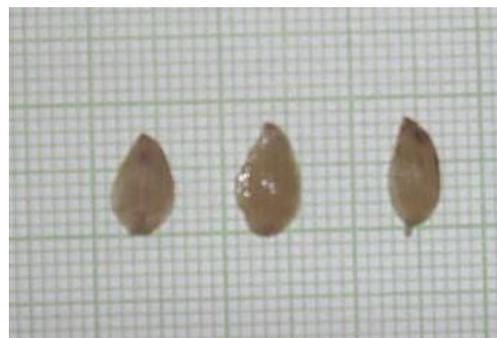


Figura 25. Posición del estigma de variantes y posibles híbridos de *P. dumosus* M. con *Phaseolus coccineus*



PSCV008



PSCV043

Figura 26. Bractéolas florales para posibles híbridos PSCV008-PSCV043

**PSCV022 y PSCV040.**

Estas muestras presentaron los siguientes patrones en tonalidad de color según las partes de la flor. Para PSCV022 La corola presentó el cuello del estandarte de color rojo y limbo de igual color contrario al color de sus alas el cual presentó un color naranja oscuro y color de sus venaciones color rojo (Figura 27). Estigma presentó una disposición promedio capitado terminal introrso similar a la variante anterior (Figura 28). Bractéolas florales ovadas; esta descripción difiere respecto a las anteriores variantes caracterizadas (Foto 19, Tabla 16).

PSCV 040 Este ejemplar presentó un color flor promedio rosado distribuido de la siguiente forma: el estandarte en su limbo y en su cuello de color rosado, alas con

venaciones de similar color rosado (Figura 27). Estigma con posición promedio capitado introrso Figura 28. Bractéolas de forma ovadas similar a la anterior descripción en tamaño y forma (Figura 29, Tabla 16).



PSCV022



PSCV040

Figura 27. Color de flor posibles híbridos PSCV022, PSCV040

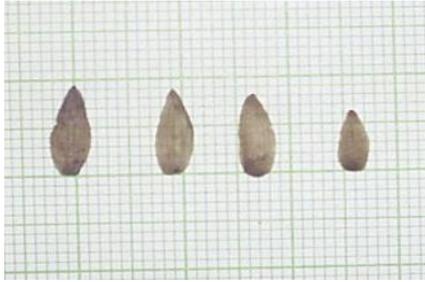


PSCV022



PSCV040

Figura 28. Disposición Estigma floral posibles híbridos PSCV022, PSCV040



PSCV022



PSCV040

Figura 29. Bractéolas florales posibles híbridos PSCV022, PSCV040 (Informe Técnico Final . 2005 ).

Tabla 16. Modalidades de variables cualitativas y promedios cuantitativos de la descripción floral de posibles híbridos. Informe Técnico Final . 2005

COLECTA N°	PATRÓN DE DISTRIBUCIÓN DEL COLOR DEL CUELLO DEL ESTANDARTE	COLOR PREDOMINANTE DEL CÁLIZ	POSICIÓN ESTIGMA DE LA FLOR	LONGITUD	DIÁMETRO	FORMA
				BRACTÉOLA	BRACTÉOLA	BRACTÉOLA
PSCV008	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	5,9	2,9	Ovada
PSCV011	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	4,5	2	Ovada
PSCV016	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	4,2	1,7	Ovada
PSCV022	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	7,3	2,5	Ovada
PSCV040	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	4,6	1,4	Ovada
PSCV043	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	6,8	3,2	Ovada
PSCV025	Uniforme	Verde	Capitado e introrso	4,5	1,2	Lanceolada

(Continuación) Tabla 16. Modalidades de variables cualitativas y promedios cuantitativos de la descripción floral de posibles híbridos (mm). Informe Técnico Final . 2005

<b>COLECTA N°</b>	<b>COLOR PREDOMINANTE DE ALAS</b>	<b>COLOR PREDOMINANTE LIMBO DEL ESTANDARTE</b>	<b>PATRÓN DE DISTRIBUCIÓN COLOR DEL LIMBO DEL ESTANDARTE</b>	<b>VENACIONES</b>	<b>COLOR PREDOMINANTE DE LAS VENACIONES</b>	<b>COLOR PREDOMINANTE CUELLO DEL ESTANDARTE</b>
PSCV008	blanco	verde pigmentado con lila	blanco con lila no uniforme	presente	gris claro	verde claro
PSCV011	naranja oscuro	rojo	uniforme	presente	gris claro	rojo
PSCV016	naranja oscuro	rojo oscuro	uniforme	presente	rojo	rojo
PSCV017	naranja oscuro	rojo oscuro	uniforme	presente	rojo	rojo
PSCV022	naranja oscuro	rojo oscuro	uniforme	presente	gris claro	blanco
PSCV043	blanco	blanco pigmentado con lila	uniforme	presente	gris claro	fucsia
PSCV040	rosada	rosada	uniforme	presente	rosada	rosada
PSCV027	naranja oscuro	rojo	uniforme	presente	rojo	rojo

## VAINAS

La caracterización de la vainas de los posibles híbridos PSCV040 y PSCV022 PSCV008 y PSCV043 representados en el grafico como 7, 11, 8,9, 10 se observa que el numero de las muestras es menor a la variante de semilla amarilla (6) puesto que estas muestras fueron especificas en regiones especificas (Figura 30); las vainas no presentaron diferencias significativas en cuanto al diámetro y longitud, grado de curvatura (medianamente curvo) y dirección de la sutura placenta (inversa); espolón (medianamente curvo) igualmente el promedio de semillas entre todos los ejemplares entre todas las variantes y posibles híbridos para esta especie es de 2 a 4 semillas por vaina. Mientras que al realizarse la comparación con la especie *P. coccineus* se pudo notar que se diferencian en la longitud de las vainas pues en *P. coccineus* y en el espolón pues para *P. dumosus* es medianamente curvo y para *P. coccineus* es curvado (Figuras 31, 22, 33, Tabla 17). Según el especialista estas diferencias discriminan las especies y las asemejan entre sus variedades y posibles híbridos.

### GRAFICO VAINAS VARIANTE POR ESPECIE

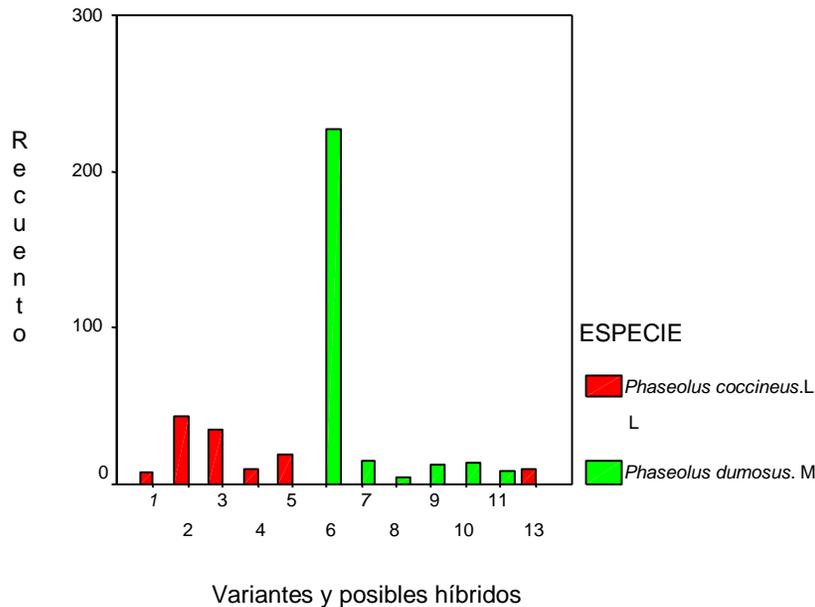


Figura 30. Vainas por especie evaluadas de posibles híbridos de *P. dumosus* L con *P. coccineus*.

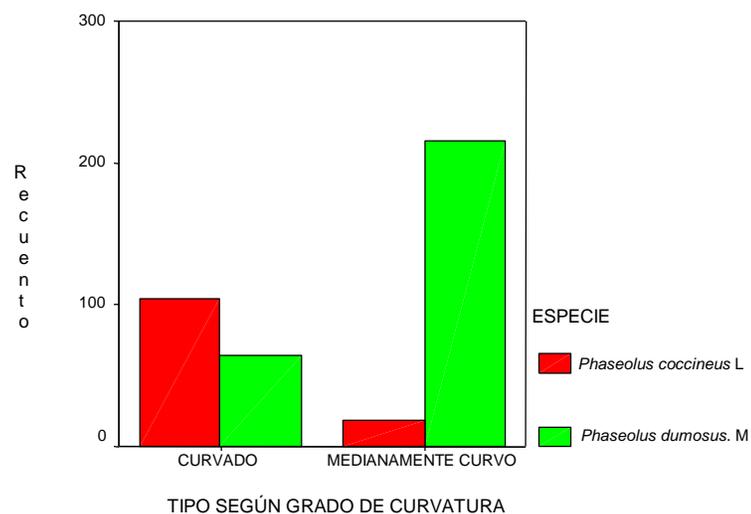


Figura 31. Grado de curvatura del las vainas entre posibles híbridos y variantes de *P. dumosus* M con *Phaseolus coccineus*



a) *Phaseolus dumosus*  
120-126 mm PSCV022



c) Vainas *Phaseolus coccineus*  
PSCV011- 140-145 mm



b) Vainas *Phaseolus dumosus* M  
PSCV043-PSCV008 - 70-100 mm

Figura 32. Diferenciación vainas posibles híbridos a) b) *Phaseolus dumosus*, b) c) *Phaseolus coccineus* .

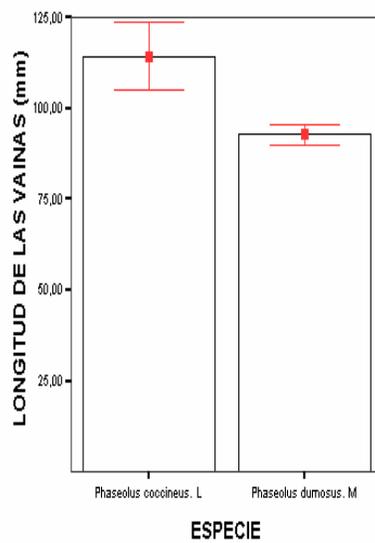
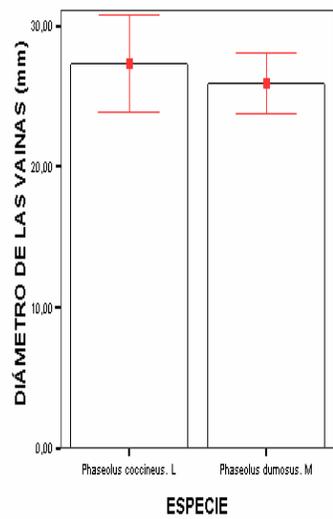


Figura 33. Diámetro y longitud de las vainas de variantes y posibles híbridos de *P. dumosus* M con *Phaseolus coccineus* (Informe Técnico Final . 2005).

Tabla 17. Modalidades de variables cualitativas y promedios cuantitativos de vainas para posibles híbridos *Phaseolus dumosus* M (mm) (Informe Técnico Final . 2005).

COLECTA N°	VAINAS		PERFIL PREDOMINANTE DE LA VAINA	TIPO	TIPO PREDOMINANTE DEL ÁPICE DE LA VAINA		
	LONGITUD	DIÁMETRO			SEGÚN GRADO DE CURVATURA	SEGÚN DIRECCIÓN DE LA SUTURA	N° SEMILLAS POR VAINA
<b>PSCV008</b>	162.5	10.38	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	2
<b>PSCV011</b>	163.2	12.74	Medianamente curvo	Puntiagudo	Curvado	Inverso	4
<b>PSCV016</b>	170.47	10.85	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	3
<b>PSCV019</b>	150.75	10.73	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	3
<b>PSCV022</b>	170	10.69	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	3
<b>PSCV023</b>	150.7	10.81	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente Curvo	Inversa	2
<b>PSCV040</b>	160.56	10.98	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inverso	4
<b>PSCV043</b>	160.98	10.36	Medianamente curvo	Puntiagudo	Medianamente curvo	Inversa	2

## Semillas

La caracterización de estos 4 posibles híbridos para esta especie señalados como PSCV008, PSCV022, PSCV040, PSCV043 ( Anexo 4) representados en el figura 34 como 7, 11, 8,9, 10 expresa que el numero de las muestras es menor a la variante de semilla amarilla (6) puesto que estas fueron colectadas en regiones específicas,

PSCV008 posee similares características respecto al color primario de semilla el amarillo y secundario café rojizo, forma de semilla (ovada, arriñonada y amorfa), forma del Hilum (ovado circular) diámetro y longitud y peso con PSCV043; el ejemplar PSCV022 presento un color de semilla café rojizo primario en todas las colectas y forma de semilla ovada, forma de hilum ovado, diámetro , longitud y peso los cuales no discriminaron dentro de la variante y entre las variantes de la especie ni entre la especie referente *P. coccineus* L. El ejemplar PSCV040 presento forma ovada con color amarillo dorado primario en todas las colectas; con hilum ovado, diámetro y longitud de la semilla no discriminantes dentro de los posibles híbridos y entre variantes de la misma especie ver colores de semilla (Figuras , 34 ,35, 66,37,38,39,40,41,42, Tabla 18)

Histogramas (variante por especie- forma de Hilum- color de semilla

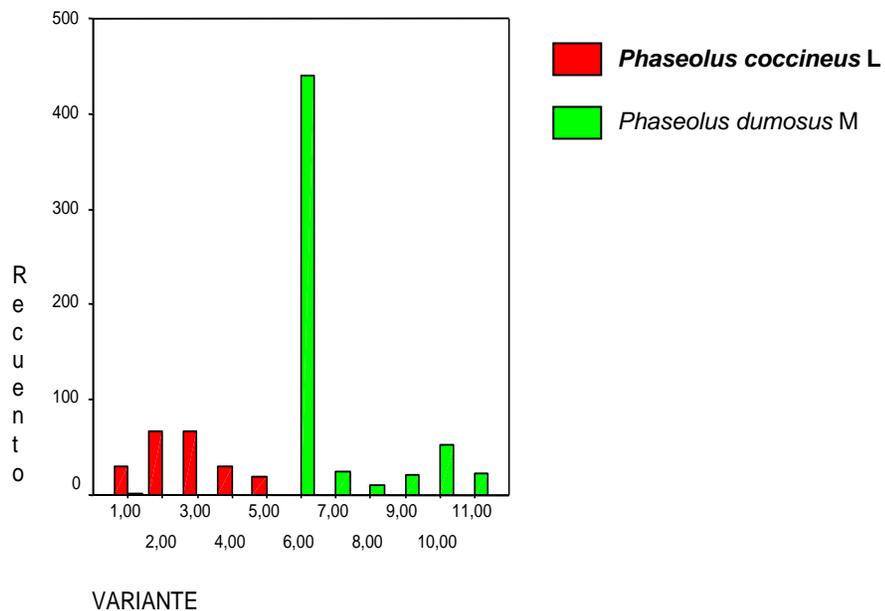


Figura 34. numero de semillas por variante evaluados para forma de hilum de posibles híbridos de *P. dumosus* M.

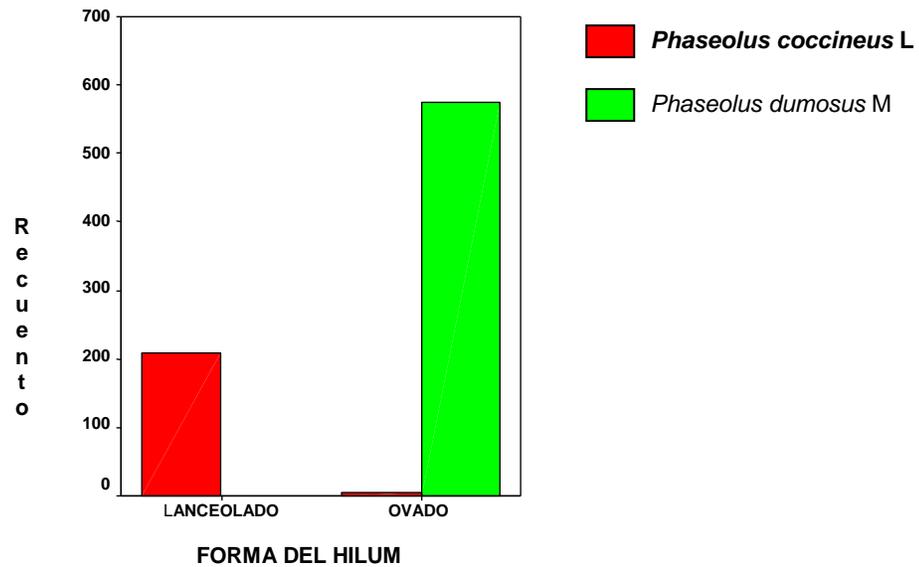


Figura 35. Forma de hilum de variantes y posibles híbridos de *P. dumosus* L. con *Phaseolus coccineus* (Informe Técnico Final . 2005).

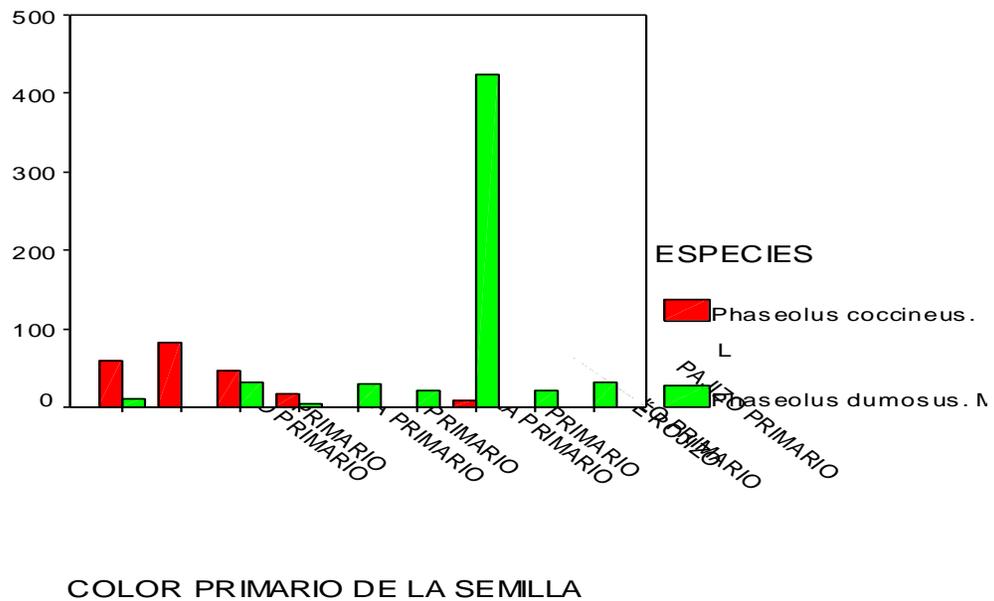


Figura 36. Frecuencia para colores de semillas entre posibles híbridos y variantes de *P. dumosus* con *Phaseolus coccineus* (Informe Técnico Final . 2005).

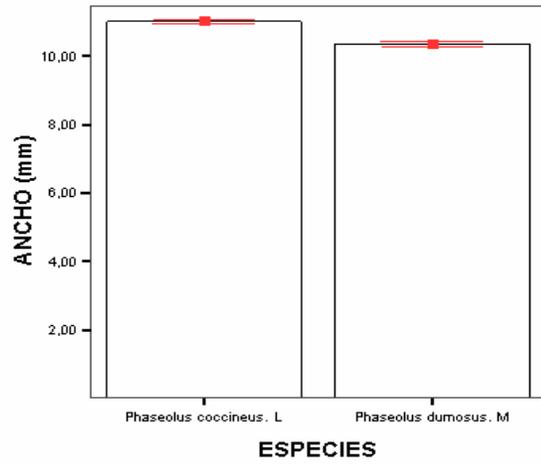


Figura 37. Ancho de semillas entre posibles híbridos y variantes de *P. dumosus* L con *Phaseolus coccineus* (Informe Técnico Final . 2005).

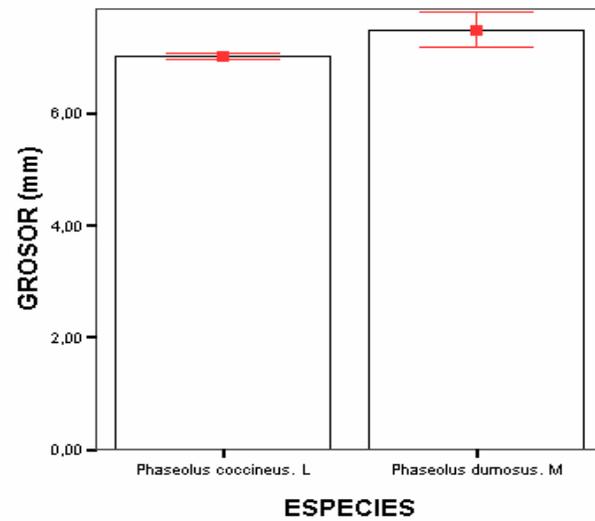


Figura 38. Grosor de semillas entre posibles híbridos y variantes de *P. dumosus* L con *Phaseolus coccineus* (Informe Técnico Final . 2005).

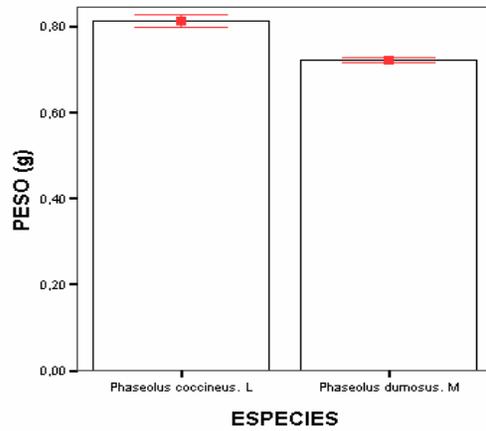


Figura 39. Peso de semillas entre posibles híbridos y variantes de *P. dumosus* L con *Phaseolus coccineus* (Informe Técnico Final . 2005).

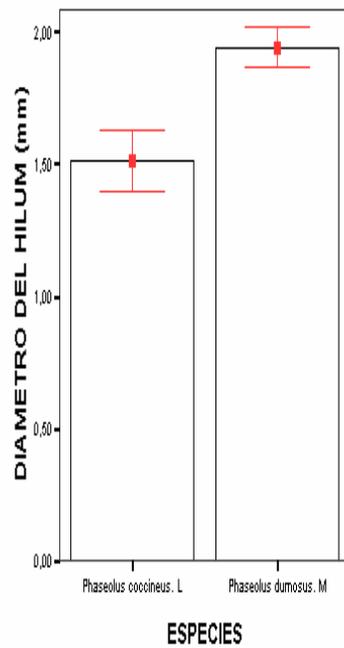


Figura 40. Diámetro del hilum entre posibles híbridos y variantes de *P. dumosus* L con *Phaseolus coccineus* (Informe Técnico Final . 2005).

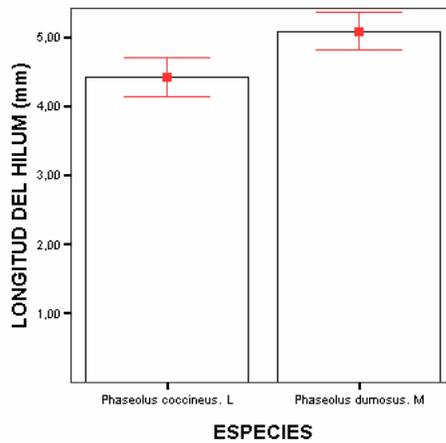


Figura 41. Longitud de hilum entre y posibles híbridos y variantes de *P. dumosus* L con *Phaseolus coccineus*



PSCV 022 (A:11.6-L: 13.6-G: 6.8 )



PSCV040(A: 12.5- L:15.7 -G: 6.23 )



PSCV008 (A: 10.3-L:17- G: 5.4)  
PSCV043 (A:10 - L: 15.7- G: 6)



PSCV016 (A:10.7-L: 14-G: 6.4)

Figura 42. Semillas posibles híbridos. Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI/ . Informe Técnico Final . 2005

Tabla 18. Modalidades de variables cualitativas y Promedios cuantitativos de semillas para posibles híbridos *Phaseolus dumosus* (mm) .

COLECTA N°	TAMAÑO SEMILLAS			GROSOR SEMILLA	HILUM			COLORES SEMILLAS	
	PESO	ANCHO	LARGO		DIÁMETRO	LONGITUD	FORMA	PRIMARIO	SECUNDARIO
PSCV008	0.5889	10.47	16.2	6	1.2	2.9	Ovado	Amarillo dorado	Café rojizo
PSCV011	0.9531	11.58	15.84	7.21	1.7	4.2	Lanceolado	Lila	Lila
PSCV016	0.8032	10.66	15.434	7.3	1.9	4.2	Ovado	Negro	Amarillo dorado
PSCV022	0.8203	10.7	15.9	6.8	1.72	4.2	Ovado	Café rojizo	Café rojizo
PSCV023	0.6083	10.5	15.9	6.57	1.4	4.2	Ovado	Pajizo	Pajizo
PSCV040	0.678	12.05	15.7	6.23	1.3	4	Ovado	Amarillo dorado	Amarillo dorado
PSCV043	0.5187	10.4	17	5.4	1.2	2.9	Ovado	Amarillo dorado	Café rojizo

Tabla 19. Características de los posibles híbridos de *Phaseolus dumosus* M

N° DE P. HÍBRIDOS	POSIBLE HÍBRIDO	GERMINACIÓN	FLOR	ESTIGMA	BRACTÉOLA	SEMILLA	HILUM
1	PSCV008 PSCV043	Epigea	Blanca-Lila	Introrso	Lanceoladas	Café rojizo pintas amarillo	Ovado
2	PSCV040	Epigea	Rosada	Introrso	Lanceoladas	Amarillo dorado	Ovado
3	PSCV022	Epigea	Naranja-lila	Introrso	Lanceoladas	Café rojizo	Ovado
4	PSCV016	Epigea	Naranja-lila	Introrso	Lanceoladas	Negras pintas amarillas	Ovado

Tabla 20. Caracteres de variantes y posibles híbridos de *Phaseolus dumosus* M.

Características estudiadas	Características	Variantes		Posibles híbridos			
		Fase vegetativa	Semilla amarilla	Semilla blanca	PSCV008-PSCV043	PSCV016	PSCV022
Habito de crecimiento	Indeterminado trepador	X	X	X	X	X	X
Días de emergencia radícula	10- 11	X	X	X	X	X	X
Tipo de germinación	Epigea	X	X	X	X	X	X
Color cotiledón	Verde claro con púrpura	X	X	X	X	X	X
Longitud epicotilo	50.3- 81.1 mm	X	X	X	X	X	X
Longitud hipocotilo	40.8- 70 mm	X	X	X	X	X	X
Color epicotilo	Blanco pigmentado lila	X	X	X	X	X	X
Color venaciones hoja	Verde claro	X	X	Verde - púrpura	Verde - púrpura	Verde - púrpura	X
<b>Fase reproductiva (mm)</b>							
Color flor	Blanco	X	X	Blanco pigmentado púrpura	Rosado	Rojo	Rosado
Forma estigma	Introrso	X	X	X	X	X	X
Forma bractéola	Lanceoladas	X	X	Ovadas	Ovadas	Ovadas	Ovadas
Diámetro bractéolas	1.3- 1.8 mm	X	X	2.9 - 3.1 (mm)	1.7-1.9	2.5-2.9	1.4.1.7
Longitud bractéolas	6.5- 7.5 mm	X	X	5.0 - 5.9 (mm)	4.2-4.5	7.0-7.3	4.6.5.0
Diámetro vaina	10.16- 10.98 mm	X	X	X	X	X	X
Longitud vaina	131-117 mm	X	X	X	X	X	X
Grado de curvatura espolón	Curvado	X	X	X	X	X	X
Numero de semillas por vaina	3 a 4 semillas	X	X	X	X	X	X
Forma de la semilla	ovada	X	X	Arriñonada	X	Cuadrada	X
Diámetro de la semilla	10.3-10.6 mm	X	X	10.40- 10.47	10-10.66	10-10.7	X
Longitud de la semilla	12.33- 17.47mm	X	X	16.2-17	15-15.43	15-15.9	X
Forma hilum	Ovado	X	X	Ovado circular	X	X	X
Diámetro hilum	1.6- 2.1	X	X	1.2-1.5	X	X	X
Longitud hilum	2.1- 5.6	X	X	2.9-3.1	X	X	X

#### 7.4. Patrones de diversidad genotípica del fríjol cachea *Phaseolus dumosus* M. Datos de marcadores RAMs comparados con la descripción morfológica

Para evidenciar y corroborar si la diversidad revelada por la información morfológica se realizó la caracterización molecular para definir el patrón molecular de 2 variantes y 5 posibles híbridos colectadas además de conocer la variabilidad presente en las colecciones y si estas pertenecen o evidencian ser parte de la especie *Phaseolus dumosus* Macfady.

##### 7.4.1 Análisis descriptivo

Los 4 primers RAMs evaluados generaron un total de 132 bandas distinguibles en un rango de longitud de 250 a 1000 pares de bases los cuales contribuyeron en mas de un 70 % a la discriminación de los materiales; el numero de loci polimorficos por cebador varia entre 6 para CGA y 9 para TG (Tabla 21).

Para la evaluación de la estructura genética del genero *P. dumosus* y *P. coccineus*, se seleccionaron 4 de los 7 cebadores utilizados; el primer GT no amplificó y fue descartado, de los 8 cócteles utilizados se escogió el 3 por mostrar mayor polimorfismo y buena resolución de las bandas (Tabla 6).

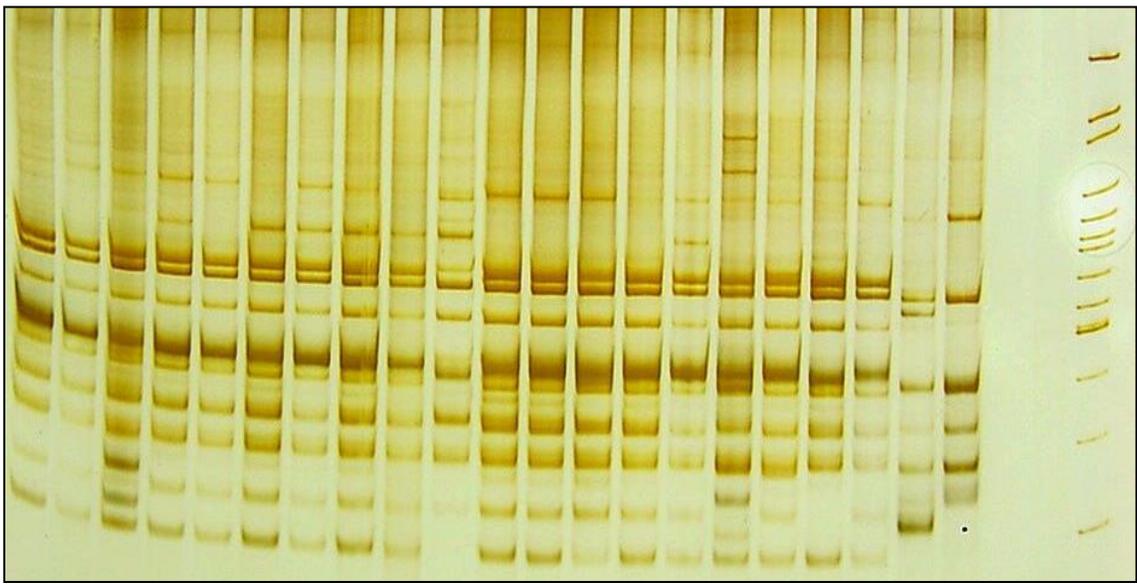
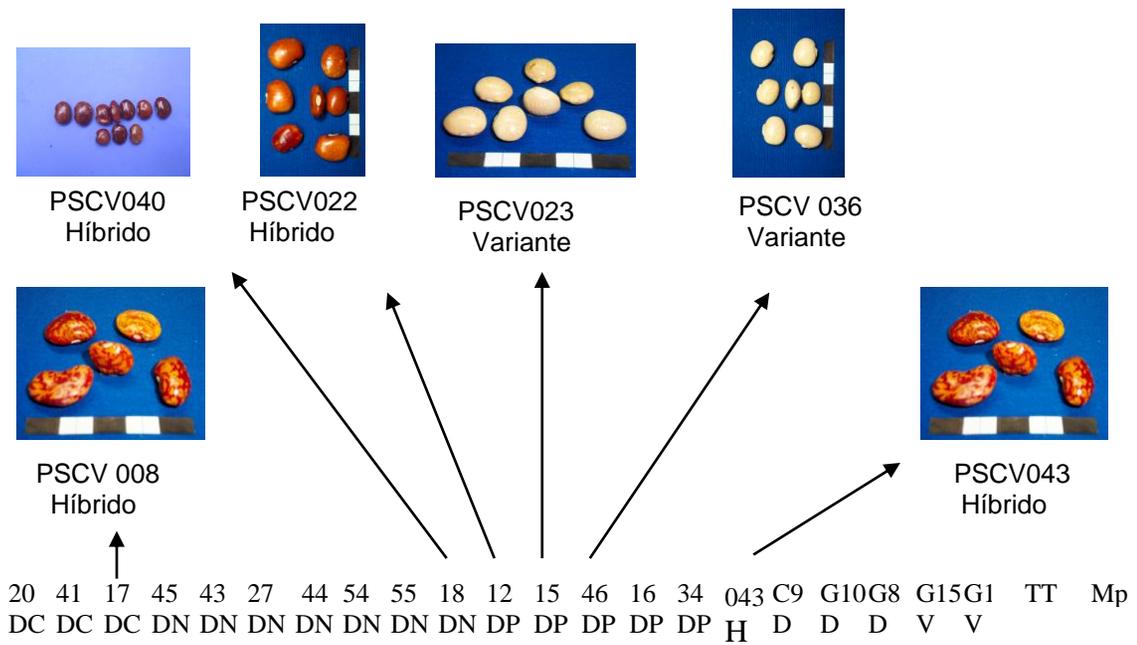
Los 4 cebadores utilizados originaron un gran numero de bandas, las cuales fueron organizadas en una matriz binaria, en la cual la presencia es 1 y ausencia es 0. para el registro se tuvieron en cuenta bandas polimorficas cuando eran observados independientes a nivel de poblaciones o especies. No se tuvieron en cuenta aquellas bandas de difícil lectura, para no incurrir en un criterio subjetivo y tampoco se tuvieron en cuenta bandas monomorficas. A partir de esta matriz se realizaron todos los análisis estadísticos.

Tabla 21. Cebadores utilizados, N° de bandas totales, N° bandas polimorficas para la evaluación de la diversidad genética en *P. dumosus* y *P coccineus*

Cebador	N° Bandas totales	N° Bandas polimorficas
TG	31	15
CGA	34	14
CT	33	22
CCA	34	17

Patrón de amplificación generado por el cebador TG (Figura 43 ,44).





Referente *Phaseolus polyanthus* G10 D, G8 D, C9 D-Referente *Phaseolus vulgaris* G15 V, G14 V

Figura 44. Patrón de amplificación generado por el cebador TG para la variante de semilla blanca y posibles híbridos de *Phaseolus dumosus* M (Informe Técnico Final . 2005).

Se puede observar en la Figura 43 Y 44 correspondientes al primer TG que los ejemplares PSCV003, PSCV004, PSCV005, PSCV006, PSCV009, PSCV010, PSCV012, PSCV014, PSCV024, PSCV025, PSCV026, PSCV028, PSCV034, PSCV032, PSCV041, pertenecientes a la especie *P. dumosus* y que fueron colectados en los departamentos del Cauca, Nariño y Putumayo respectivamente presentan patrones de bandas comunes, debido a que se trata del mismo material, y no presentan diferencias discriminantes a nivel morfológico.

Entre los materiales que presentaron diferencias entre *P. dumosus*, en las descripciones morfológicas se encuentran PSCV008, PSCV022, PSCV040, PSCV043 los cuales fueron catalogados por el especialista Daniel Debouck como posibles híbridos de esta especie; al ser caracterizados molecularmente presentaron bandas diferentes a los otros ejemplares (Figura 22) permitiéndose detectar variabilidad dentro de las muestras colectadas, lo cual se ve reflejado en características morfológicas como color de la semilla, color de flor, forma de bracteas entre otras. Así mismo estos ejemplares presentaron mayoría de bandas comunes con el resto de ejemplares de *P. dumosus*.

El análisis mediante el coeficiente de Nei-Li, y la agrupación con la distancia promedio deja ver una clara separación de las dos especies *P. dumosus* y *P. coccineus*, conocidos como frijol cache. De igual forma se observa una estrecha relación entre *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. El dendrograma de análisis de similitud muestra un coeficiente de 68% para las tres especies. Contrario a esto, *P. lunatus* (G252319) conforma un grupo aparte, presentando un coeficiente de similitud de 48% con relación al grupo de *P. dumosus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris*. El análisis demuestra un acercamiento de *P. dumosus* hacia *P. vulgaris* (G104 y G7429) presentando un coeficiente de similitud de 72%, aunque no se aleja significativamente de *P. coccineus*, conformándose así un complejo de cercanía entre las tres especies (Figura 23).

En las pruebas moleculares se observa una mayor variabilidad en el grupo conformado por las colectas pertenecientes a *P. coccineus*, presentando un rango de similitud entre 80% a 95%; estos resultados se ven reflejados en el mayor número de variantes morfológicas encontrados en *P. coccineus*, contrastante con las variantes encontradas para *P. dumosus*. El grupo de *P. dumosus* presenta un rango de similitud más alto entre %85 a 100%, presentando en algunos casos haplotipos ( PSCV 006, PSCV005 y PSCV010; PSCV014, PSCV025 y PSCV026; PSCV032 y PSCV023) (Figura 23).

Los ejemplares de las colectas PSCV040 con un nivel de similitud del 85% PSCV008 con un porcentaje de similitud del 93%, PSCV043 con una similitud del 68% junto con las accesiones del Banco de Germoplasma del Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT utilizadas como patrón o referencia con

un porcentaje de similaridad del 94% para *P. dumosus*, los cuales muestran los menores rangos de similitud dentro del grupo de *P. dumosus*. Esto coincide con las descripciones morfológicas que las distinguen como posibles híbridos al presentar mayoría de características morfológicas enmarcándolas hacia *P. dumosus* aunque difieren de las variantes (Tabla 11) las cuales muestran mayor similitud y que se asemejan más a la caracterización taxonómica hecha por Macfady para la especie *P. dumosus* L ; deduciendo que esta especie guarda una composición genética homogénea manifestada en los altos rangos de similitud entre variantes y posibles híbridos.

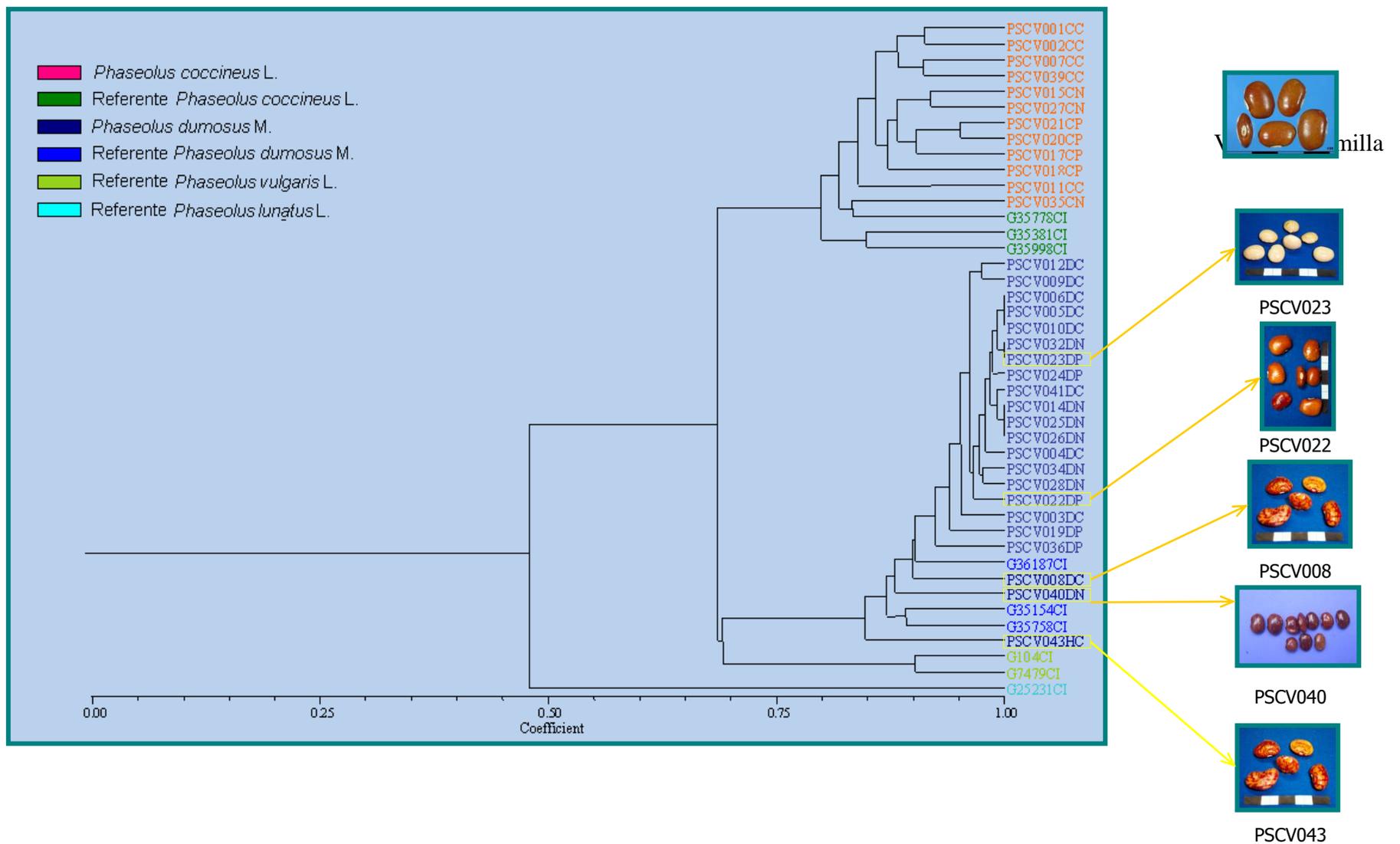


Figura 45. Dendrograma de la estructura genética de 33 individuos de *Phaseolus* Spp. Basado en el coeficiente de similitud de Nei-Li y calculado de los datos combinados de los 4 primers Microsatélites RAMs con el método clasificación UPGMA, usando los programas SHN Y TREE DE NTSYS-pc versión 1.8 (Exeter Software, Setauket, NY,USA) Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI/ . Informe Técnico Final 2005

## 8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El objetivo de este estudio fue describir morfológicamente las variantes de la especie *Phaseolus dumosus* Macfady en el suroccidente colombiano; el evaluar las diferentes características morfológicas permitió describir la variación presente en los ejemplares botánicos colectados.

Los resultados de este estudio indican que las variantes y posibles híbridos presentaron habito de crecimiento tipo IV indeterminado trepador , pese a que los posibles híbridos PSCV008, PSCV040, PSCV043 se encontraran en estado arbustivo a causa del continua poda que se le hace para manejar su volubilidad; por ende puede llegar a confundirse con un estado de crecimiento determinado el cual se observa cuando el follaje termina en inflorescencia y no en meristemos apicales como es común en el habito de crecimiento indeterminado trepador.

De igual modo el ciclo de vida encontrado para todas las colectas fue perenne , lo cual fue corroborado por los habitantes de las regiones recorridas.

Esto concuerda con el estudio de Muñoz y Soto (1996) y Basurto y otros (1993), los cuales afirman que las formas silvestres y cultivados de los frijoles *Phaseolus polyanthus* y *Phaseolus coccineus* son del tipo indeterminado trepador, con ciclo de vida anual para *P. vulgaris*, en tanto que para *P. dumosus* y *P. coccineus* y *P. lunatus* son perennes.

Según los datos, de los 26 ejemplares colectados en agroecosistemas y hàbitats silvestres las dos variantes muestran flores blancas con bractéolas florales lanceoladas y 2 posibles híbridos PSCV008, PSCV043 con color de flor blanco pigmentado lila, esto difiere de otros posibles híbridos de *P. dumosus* los cuales presentaron coloración floral naranja- roja en el caso de PSCV022 y PSCV016 y rosada para la muestra PSCV040. Los híbridos manifestaron bractéolas ovadas como se presenta para *Phaseolus coccineus*; aunque la similitud entre las variantes y los posibles híbridos se encuentra en el estigma pues todos presentan una disposición terminal capitado introrso característica específica de *P. dumosus*.

Los resultados de esta descripción concuerdan con los de Smartt (1964), el cual plantea que las formas cultivadas de *P. dumosus* muestran flores de color blanco o lila pálido o muy intenso en ocasiones con las alas y estandarte con diferentes colores y con disposición estigmática terminal capitado introrsa, y los cultivados de *P. coccineus* tienen flores rojas o blancas en algunos casos anaranjadas o rosas estas últimas consideran híbridos y con disposición estigmática extrorsa.

Conforme a esta afirmación posiblemente los ejemplares PSCV016, PSCV040, PSCV022 fueron resultado de cruces entre las especies *P. dumosus* x *P. coccineus* puesto que estos materiales tienen características tanto de *P. dumosus* como de *P. coccineus* afirmación que puede ser sustentada en la disposición del estigma pues para estos fue terminal capitado introrso, tipo de germinación epigea, forma de hilum ovado para *Phaseolus dumosus* y bractéolas ovadas y color de flor rosado caracteres distintivos para la especie *Phaseolus coccineus*; lo cual indica que estos ejemplares tienden más hacia la especie *P. dumosus* por presentar mayoría de caracteres hacia ella.

Según Smartt (1969), Freytag y Debouck (2002), la especie *P. vulgaris* morfológicamente silvestre presenta flores lila y blancas con disposición de estigma lateral introrso y bractéolas ovadas y en formas cultivadas una disposición astigmática extrorso. Aunque ninguno de los posibles híbridos presentó estigma terminal lateral introrso los ejemplares PSCV008 Y PSCV043 presentaron estigma terminal capitado introrso el cual es un poco semejante con *P. vulgaris*; si bien en los aspectos en los que más se puede observar su hibridación es en las bractéolas (ovadas) la forma de la semilla (arriñonada y en algunas semillas amorfas) y la forma del Hilum (ovado casi circular); según se observó en la descripción morfológica y indicaciones del especialista en el género Daniel Debouck.

Características de las vainas en *P. dumosus* como el patrón de curvatura (medianamente curvo), espolón (medianamente curvo), tamaño (diámetro y longitud) similar; no presentaron marcadas diferencias para separar entre variantes y posibles híbridos; lo cual difiere notoriamente en las vainas de *P. coccineus* puesto que exhiben mayor longitud y diferente espolón, que en esta especie es curvado. Lo anterior está de acuerdo con el estudio realizado por Delgado y Betancourt (1996) los cuales describieron el grado de curvatura para *P. dumosus* como medianamente curvo; pero difiere en la longitud puesto que fue menor y el diámetro fue similar al presente estudio.

El número de semillas por vaina de ejemplares encontrados cultivados en agroecosistemas y hábitats silvestres descritos entre variantes y posibles híbridos en este estudio fue de 3 a 4 por consiguiente esta de acuerdo con Delgado y Betancourt (1996) quienes encontraron que *P. dumosus* tenía de 4 semillas por vaina aunque estos no describen si son accesiones silvestres o cultivadas o los

lugares de colecta. Se Puede indicar entonces que no existen diferencias entre los hábitats silvestres y cultivados en cuanto a numero de semillas puesto que posiblemente se deba a una posible ruta de manejo el cual consiste en su paso de áreas intervenidas o agroecosistemas hacia la vegetación ruderal entre los caminos veredales o carretera, taludes cercanos a viviendas o poblaciones pasando a cercas vivas y posteriormente hacia el agroecosistema.

Las semillas descritas entre las variantes presentaron un color de testa amarillo dorado y pajizo o blanco con hilum ovados los cuales fueron caracteres que permitieron diferenciarlos como variantes, puesto que estos poseían un tipo de germinación epigea, flor blanca, estigma introrso y bractéolas florales lanceoladas los cuales son características propias para identificar la especie *P. dumosus* y que permitieron diferenciarlos de los posibles híbridos los cuales tuvieron colores de semillas café rojizo PSCV022 y PSCV008, PSCV043 pintas café rojizo, pigmentado amarillo dorado y amarillo dorado oscuro PSCV040.

Los resultados anteriores están de acuerdo con Arias (1980) en Basurto quien reporto una correspondencia entre la flor y el grano de *Phaseolus polyanthus*(=*dumosus*) con la formas de colores para las flores blancas produciendo semillas con testa de color claro, bayo, amarillo, rojo o blanco, y las flores rosa o lila, produciendo semillas con testa de colores negro, marrón, pintos en la zona de Huatusco y Coscomatep, Veracruz, México.

El peso, longitud, diámetro, color de semilla resultado de este estudio no difieren con los trabajos de Delgado y Betancourt (1996) mesoamericanos y suramericanos de *Phaseolus polyanthus* y *Phaseolus coccineus* y Guaca y Rosas (1996), en el Suroccidente Colombiano departamento del Cauca para las especies *Phaseolus polyanthus* y *Phaseolus vulgaris* L, caso de especial atención ya que la variante de semilla amarilla es común en los tres trabajos. Se puede notar entonces que estas características son estables en plantas estudiadas. Pero no entre la variante de semilla blanca puesto que el peso, longitud, diámetro son menores.

Sin embargo estas dos variantes difieren en el peso con la especie *P. coccineus* L puesto que el peso en *P. dumosus* es mayor, así *Phaseolus coccineus* tenga mayor longitud que la especie *P. dumosus*.

Entre los caracteres que mostraron uniformidad en este estudio se encuentran: Días de emergencia, color de cotiledón, longitud del epicotilo, color de venaciones en la hoja, forma de semilla, forma de Hilum, vainas (grado de curvatura de la vaina, diámetro y longitud.), forma de estigmas. Estos resultados son similares a los obtenidos por Delgado y otros (1996).

Las características que presentaron variabilidad en este estudio fueron el color de la flor, color de semilla, forma de bractéolas, tipo de germinación (Híbridos), forma de Hilum (Híbridos). Estos caracteres fueron mayores a los descritos por Delgado y Betancourt (1996), quienes llegaron a la conclusión que las características de mayor variabilidad en *P. dumosus* son el tipo de germinación y la forma del estigma; resultados que indican que no se presentó igualdad de variables y que en el primer estudio fueron mayores los caracteres que mostraron variabilidad.

La relación morfología y molecular demuestra que los ejemplares de la variante de semilla amarilla y la variante de semilla blanca Pertenecientes a *P. dumosus*; presentaron totalidad de bandas comunes Inter e intraespecíficamente, reveladas a partir patrones electroforeticos mediante las pruebas moleculares, lo cual puede ser sustentado morfológicamente ya que estas dos variantes presentaron similitud de caracteres aunque discriminaron en el color de la semilla, mas hayan sido colectados en diferentes hàbitats geográficos de los departamentos del Cauca, Nariño y Putumayo.

Los materiales que presentaron diferencias morfológicas en la especie *P. dumosus*, como: PSCV008, PSCV022, PSCV040, PSCV043 fueron catalogados como posibles híbridos, ya que diferían en el color de la semilla, color de flor, forma de bracteas entre otras con respecto a las variantes; a partir de la caracterización molecular estos materiales revelaron un numero de bandas diferentes; aunque compartían mayoría de ellas con las variantes y con los materiales referentes de la especie *Phaseolus polyanthus* lo que condujo agrupar a estos posibles híbridos entre la especie *P. dumosus* y a detectar variabilidad dentro de la colección.

Estos datos en correlación con la descripción morfológica dejan observar que existe similitud entre estas dos caracterizaciones tanto en las variantes como en los posibles híbridos los cuales expresan estados intermedios en mayor proporción para *P. dumosus*, aunque estén presenten caracteres de *P. coccineus* y *P. vulgaris*; así mismo con las descripciones morfológicas se apreció que existe más acercamiento entre *P. dumosus* y *P. vulgaris* en aspectos como el tipo de germinación epigeo similar entre *P. vulgaris* y *P. dumosus* y la disposición del estigma lateral introrso Para *P. vulgaris* y para *P. dumosus* capitado terminal introrso.

La cercana relación entre las especies *P. coccineus*, *P. dumosus*, *P. vulgaris* es evidenciada en este estudio , semejante a lo observado con polimorfismos de ADNcp en el trabajo realizado por Schmit et al (1993). De igual forma, Llaca et al (1994), reflejo mayor cercanía de *P. vulgaris* con *P. dumosus* observado con ADNcp. Contrario a esto Luque (2001) en su estudio con AFLPs no evidencio la

cercana relación entre *P. vulgaris* con *P. dumosus*. no obstante sugirió mayor cercanía entre las especies *P. dumosus* y *P. coccineus*.

Los resultados de este estudio coinciden con la separación realizada anteriormente de estas con base en los caracteres morfológicos. Los cuales concuerdan con estudios anteriores que sitúan a nivel de especie a *P. dumosus* (P. Schmit y Debouck, 1991; Schmit et al., 1993) y no como subespecies de *P. coccineus* (Delgado salinas , 1988; Piñero y Eguiarte, 1998).

Según el Informe Técnico Final (2005), la información tradicional recopilada de las tres zonas de estudio habitadas por comunidades indígenas y campesinas no discriminan entre especies pero si en nombres pues varían de una región a otra. En el Cauca es conocido como *cacha*, en Nariño como “*fríjol añero*” o “*veranero*” y el Putumayo (Valle del Sibundoy) como “*fríjol tranca*”; (Informe Técnico Final . 2005) esto puede basarse de acuerdo a consideraciones de las comunidades de cada región y de algunas características de este según sus características morfológicas como forma tamaño, color, rendimiento, resistencia a diferentes estreses y de consumo sabor, facilidad de cocción el cual es dado preferiblemente a las variantes de semilla amarilla y blanca (*Phaseolus dumosus*) sugiriendo que lo conocen simplemente como variedades diferentes del mismo *cacha*, *añero* o *tranca*, al igual que el frijol que color de flor roja variedad de semillas (*moradas*, *crema pintas café*, *negras*) (*Phaseolus coccineus*), el cual es más usado como medicina (manchas en la piel) que como alimento. Estas dos especies presentan características comunes como el hábito de crecimiento y tipo de desarrollo y su ciclo biológico plurianual, que hace que las comunidades lo consideren como una misma planta con diferentes variantes en cuanto a las semillas. Aunque en el cultivo lo separan del frijol común *Phaseolus vulgaris* como lo conocen puesto que este necesita de fertilizantes.

Al realizar el estudio morfológico a las colectas y al ser confrontado con los datos tradicionales; se estableció que los nombres *cacha*, *añero* o *veranero*, *tranca* *fríjol Popayán* (Putumayo) pertenecen a dos especies *Phaseolus dumosus* y *Phaseolus coccineus* puesto que presentan características propias que las separan; de igual forma las variantes y posibles híbridos que más se emplean en las comunidades como el de semilla amarilla y blanca presentaron homogeneidad al ser caracterizados morfológicamente agrupándose entre la especie *P. dumosus* M.

Los datos tradicionales y la caracterización morfológica al ser confrontadas con la caracterización molecular son congruentes ya que las variantes y posibles híbridos genéticamente son altamente similares y la especie *Phaseolus coccineus* es muy divergente y bajo esta técnica se puede notar que hay mayor separación que con lo morfológico.

## 9. CONCLUSIONES

- Las variantes de *Phaseolus dumosus* encontrados en hábitats cultivados y silvestres presentaron diferenciación morfológica de las que fueron ubicadas como posibles híbridos.
- Las variantes y posibles híbridos de *P. dumosus* M mostraron en la fase germinativa una emergencia de los cotiledones similar los 10 y 12 días.
- El tipo de germinación epigea es un carácter determinante para la identificación de *Phaseolus dumosus* L, aunque se debe tener en cuenta algunas características al ser comparado con *Phaseolus vulgaris* L quien también posee germinación epigea.
- En la fase reproductiva se encontraron los caracteres que mas aportaron a la diferenciación de las especies, variantes y posibles híbridos como (color de flor, forma de estigma, forma de bractéolas, color semilla, forma de Hilum, forma y longitud de la vaina y curvatura del espolón).
- Con base en la identificación botánica se encontró que los ejemplares PSCV008, PSCV016, PSCV022, PSCV040, PSCV043 presentaron variaciones en las características morfológicas reportadas en las identificaciones botánicas para la especie *Phaseolus dumosus* M., pero de acuerdo al especialista Daniel Debouck y a las descripciones morfológicas las cuales comparten mayoría de caracteres hacia esta especie, se pueden tratar de posibles híbridos naturales de la especie.
- En comparación de la morfología de las variantes y los posibles híbridos con los patrones de bandas que se distinguen por los microsatélites RAMs, los resultados muestran congruencia general entre los datos moleculares y la caracterización morfológica.
- En las pruebas moleculares se observa una mayor variabilidad en el grupo conformado por las colectas pertenecientes a *P. coccineus*. El grupo de *P. dumosus* presenta un rango de similitud más alto presentando en algunos casos haplotipos. Estos resultados se ven reflejados en el mayor numero de variantes morfológicas encontrados en *P. coccineus*, contrastante con las variantes encontradas para *P. dumosus*.

- El manejo en conjunto de las dos especies relacionadas como frijol cache por parte de las comunidades indígenas y campesinas del suroccidente colombiano posibilitan el flujo genético entre estas dos especies dada su cercanía genética demostrada en los análisis moleculares, es así como la siembra de semillas de *P. dumosus* y *P. coccineus* en un mismo lugar, genera el desarrollo simpátrico de las dos especies y la generación de híbridos como se reportó en este trabajo.

## 10. RECOMENDACIONES

- Ampliar y evaluar los descriptores morfológicos para *Phaseolus dumosus*, con base en la revisión de herbarios y consulta a especialistas en botánica. para conocer más sobre la diversidad presente en esta especie.

Evaluar las variables cualitativas de mayor aporte a la variación en este estudio como fueron color de flores, disposición del estigma, forma de bractéolas, color de semilla, forma de hilum. para establecerlos como descriptores en la especie *Phaseolus dumosus* M.

- Para posteriores estudios de caracterización morfológica y molecular se debe aumentar la colección de trabajo con el fin de tener mayor información sobre la distribución de la especie; lo que puede conducir a dilucidar la relación entre factores ambientales y la presencia determinada de variabilidad.
- Es importante conocer el comportamiento de la especie *Phaseolus dumosus* Macfady en la zona . Para ello es necesario plantear un trabajo en condiciones agronómicas en invernaderos para poder comparar su crecimiento, fenología y rendimiento tanto en condiciones *In situ* como *Ex situ*.
- Sería útil para la conservación de la diversidad, coleccionar y documentar germoplasma en áreas de cultivo y en hábitats silvestres no intervenidos, ya que estos sistemas de cultivo junto con ciertos genotipos del frijol se modifican y desaparecen.
- El análisis de la interacción de las metodologías en etnobotánica podrían arrojar luces para el entendimiento de los factores socioculturales que inciden en el uso, manejo, conservación y mejoramiento de los recursos vegetales, en los diversos ambientes y entre distintas culturas. Ello, cobra significancia en problemáticas tales como la producción alimentaría

tradicional, el mejoramiento en salud comunitaria, así como el de crecimiento de la calidad ambiental en las diversas regiones.

- Los diferentes estudios de identificación de diversidad vegetal de materiales cultivados en agroecosistemas realizados mediante descripciones morfológicas, moleculares o cualquier otro tipo de caracterización biológica deben involucrar información etnobotánica que permita ampliar el conocimiento en cuanto a su distribución, uso y manejo. Con el fin de encontrar la forma óptima de aprovechar este recurso vegetal.
- Se debe plantear una estrategia académica como la del proyecto Conservación y manejo *In situ* de arvenses y cultivares en el suroccidente colombiano Sena-Col 999 VRI que permita fortalecer los grupos de investigación interdisciplinaria hacia un beneficio del entorno científico y social.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

AGUILAR, José Alfredo. Cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en Aguas Calientes México. Situación actual y comparación del plasma germinal 1940-1984. Tesis Maestría Chapingo, México, escuela nacional de agricultura, Colegio de Postgraduados. 1986.

ALTIERI, Miguel y MERRICK, Laura. Conservación *In situ* de recursos fitogenéticos a través del mantenimiento de cultivos tradicionales. En publicaciones del Museo Nacional de Agricultura. Chapingo, México. 1989.

AVERS, CH. J. Evolution. En: AGUILLAR J. A. Cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en aguas calientes México. Situación actual y comparación del plasma germinal 1940-1984. Tesis Maestría Chapingo, México, Escuela Nacional de Agricultura, Colegio de Postgraduados. 1986.

BAENA, M., JARAMILLO, S y MONTOYA, J. Conservación *In Situ* de la diversidad vegetal en áreas protegidas y en fincas. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos ( IPGRI), Roma, Italia. 2003.

BALL, G. Taxonomía biológica. 1 ed, México. Ediciones Científicas Universitarias. 1989.

BASURTO, F., MORENO, D., ALFARO, M y VILLEGAS, A. Frijol gordo abreviador ; una forma precoz de *Phaseolus coccineus* L. ssp. *Darwinianus* Hernández X. y Miranda C. Revista de Geografía Agrícola. Estudios de Agricultura Mexicana. Numero 22. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 1986.

BEROVIDES, V y ALFONSO, M. Biología Evolutiva. Editorial Pueblo y Educación. Ciudad de la Habana, Cuba .1995.

BRISTOL, M. Sibundoy Ethnobotany. Harvard University. Cambridge, Massachusetts. 1965.

CAMACHO, L. H. OROZCO, S. H. and BASTIDAS, G. Yield component vs plant spacing in beans. Bean Improvement cooperative Annual Report 11. 1998

CONSULTATIVE GROUP ON INTERNATIONAL AGRICULTURAL RESEARCH (CGIAR). The United Nations Conference on Environment and Development, Brazil. 1992.

CORPORACION AUTONOMA REGIONAL DEL CAUCA. Plan de Ordenamiento Territorial. Cauca , Totoró. 1997.

CORONADO, Ana y CORONADO Yasenia. Caracterización molecular con microsatélites aleatorios RAMs de la colección de mora *Rubus* spp. De la Universidad Nacional de Colombia. Tesis de grado Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. 2003

CLAUSEN, R. C. Base genética para la evolución de las plantas cultivadas. Notas de curso en etnobotánica. Compiladas por Hernández, X y Paczka, R. Compilacion Universidad Autónoma de Chapingo . México. Pag. 107. 1989

CRISTAL, N. Orígenes históricos de la biodiversidad. Memorias I Congreso Nacional Sobre Biodiversidad. Universidad del Valle, Colombia. 17-23 p. 1994.

CUEVAS J. A. Notas de curso en etnobotánica. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 1989.

DARWIN, Charles. El origen de las especies, 8 edición, México. 1964.

DE LA LOMA, J. L. En: AGUILAR, José Alfredo. Cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en Aguas Calientes México. Situación actual y comparación del plasma germinal 1940-1984. Tesis Maestría Chapingo, México. Escuela Nacional de Agricultura , Colegio de Postgraduados. 1986.

DELGADO, O., y BETANCOURT, F. Caracterización fenotípica de 40 accesiones de frijol *Phaseolus coccineus* y 41 accesiones de *Phaseolus polyanthus*, en el centro de investigaciones de Obonuco, municipio de Pasto. Tesis ingeniero agrónomo. Universidad de Nariño.

DELGADO SALINAS, A. Variation, taxonomy, domestication, and germplasm potentialities in *Phaseolus coccineus*. En: Luque Eduardo. Caracterización de la diversidad genética de la colección núcleo de *Phaseolus coccineus* L. y *Phaseolus polyanthus* G mediante el uso de AFLPs. Universidad Nacional de Colombia. 2001.

DOBZHANSKY, T. Genetics and the origin of species. Third edition, revised. Columbia University Press. New York, U.S.A 364 p. 1951.

DOBZHANSKY, T., AYALA, F., STEBBINS, L., y VALENTINE. Evolución. Universidad de California. Ediciones Omega S.A. 1980

DOBZHANSKY, T. Polyploidy and distribution. 1980. En: GRANT. V. Especiación vegetal. Primera edición. México. 1989.

EXCOFFIER, L. AMOVA ( Análisis of Molecular Variance) 156. Genetics and Biometry Laboratory. University of Geneva, Switzerland, 1992.

FELDMAN, M. y SEARS, E.R. En: Aguilar, José Alfredo. Cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en aguas calientes México. Situación actual y comparación del plasma germinal 1940-1984. Tesis Maestría Chapingo, México, Escuela Nacional de Agricultura , Colegio de Postgraduados. 1986

FREYTAG, G and DEBOUCK. Taxonomy, distribution, and ecology of the Genus *Phaseolus* ( Leguminosae- Papilionoideae) in North America, Mexico and Central America. Brit – pag 45-47, 2002.

FONTDEVILA, A. 1978. El mantenimiento de la variabilidad genética de las poblaciones. Investigación y Ciencia . En: Aguilar, José Alfredo. Cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en aguas calientes México. Situación actual y comparación del plasma germinal 1940-1984. Tesis Maestría Chapingo, México, Escuela Nacional de Agricultura, Colegio de Postgraduados. 1986

FORERO, E. Avances de la botánica colombiana: Estudios sobre leguminosas. En: V SIMPOSIO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA BIOLÓGICAS: 2005 Popayán). Ponencia del V simposio de investigación en Ciencia Biológicas. Popayán. ACCB- Capitulo Cauca, Universidad del Cauca.

GRANT. V. Population structure in relation to macroevolution. En: Grant. V. Especiación vegetal. Primera edición. México. 1977.

GRANT, V. Especiación vegetal. 1 edición. Editorial Limusa, S.A. México. 1989.

GUACA, Nelson y ROSAS, Luis Antonio. Estudio comparativo de la fenología, crecimiento y rendimiento del frijol común (*Phaseolus vulgaris*) y (*Phaseolus polyanthus*) en unicultivo. Trabajo de grado licenciatura en Biología. Universidad del Cauca.1996.

HARLAN, R. J. Crops and Man. Foundations for Modern Crop Science. American Society of Agronomy. Madison Wisconsin. Pag. 63-64. 1975.

HARLAN, J.R., J. M. J. DE WET. Some thoughts about weeds. Econ. Bot. 19:16-24. 1965.

HERNÁNDEZ X. Exploración etnobotánica y su metodología. Revista de Geografía Agrícola. Tomo 1. 163 p. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 1985.

HERNÁNDEZ X. Concepto de etnobotánica. Notas de curso en etnobotánica. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 1989.

HOLDRIDGE, L. Ecología basada en zonas de vida. Instituto Iberoamericano de Ciencias Agrícolas. En: Sanabria Olga lucia. Manejo vegetal en agroecosistemas Tradicionales de Tierradentro Cauca, Colombia. Primera edición. Popayán Colombia 2001.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). Edition 1999, Zurich, Switzerland. 1999.

LLACA, V. DELGADO SALINAS, A. GEPST, P. Chloroplast DNA as an evolutionary marker in the *Phaseolus vulgaris* complex. En: Theor Appl Genet. Vol. 88, (Sep- Nov); p. 646-652. 1993.

LEUVIN, R. Human Evolution. Second Edition Blackwel Scientific Publicatios. Boston Oxford London. 1989.

LODISH, H., BERCK, A., ZIPURSKY, L. Biología celular y molecular. 4 edición. p 1-21. España. p 1-21. 2002.

LUQUE, E. Caracterización de la diversidad genética de la colección núcleo de *Phaseolus coccineus* L. y *Phaseolus polyanthus* Greenman mediante el uso de AFLPs. Trabajo de grado biología. Universidad Nacional de Colombia. 2001.

MARTIN, G. M. Etnobotánica Pueblos y Plantas. 1ª edición. Royal Botanicals Gardens, Reino Unido. p.121-122. Serie 1. 2000

MEJIA B., Luis Alexander y ORELLANA M. Galo Patricio. Dialogo de saberes para la revaloración ecológica y el fortalecimiento de los agroecosistemas tradicionales en chagras indígenas del municipio de Sibundoy Putumayo. Tesis de grado. Universidad Nariño. San Juan de Pasto, Colombia. 2001.

MANGELSDORF, P. Evolution under domestication. The American Naturalist. Vol (857). 1952.

MILLER, M.P. AMOVA- PREP 1.01. A program for the preparation of AMOVA input files from dominant- market raw data. Departament of biological sciences, northern Arizona University, flagstaff, AZ. USA:

MIRANDA, C. Evolución de *Phaseolus vulgaris* y *Phaseolus coccineus*. 1979 En: AGUILAR, J. A. Cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) En Aguas Calientes, México: Situación actual y comparación del plasma germinal 1940-1984. Tesis Maestría Chapingo, México, Escuela Nacional de Agricultura, Colegio de Postgraduados 1986.

MIRANDA, C. Origen de *Phaseolus vulgaris* . 1967 En: AGUILAR, J. A. Cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) En Aguas Calientes, México: Situación actual y comparación del plasma germinal 1940-1984. Tesis Maestría Chapingo, México, Escuela Nacional de Agricultura, Colegio de Postgraduados 1986.

MUÑOZ, G., y FERNÁNDEZ DE SOTO, J. Descriptores varietales de arroz, frijol, maíz, sorgo. CIAT Colombia 1993.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583-590. 1978

NEI, M. ; LI, W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of rección endonucleasa. *Proc nat Acad Sci* 79: 5267- 5273. 1979

ODUM, P. E. Ecología. 3ª Editorial Interamericana. México. 1982.

PLAN DE MANEJO INSTITUCIONAL. Santuario de flora y fauna Galeras. Parques Nacionales de Colombia, Popayán. 1998

PIÑERO y EGUIARTE. 1988. En: SCHMIT, V Y DEBOUCK. Observations on the origin of *Phaseolus polyanthus* Grennman. *Econ . Bot.* 45: 345-364.

PROYECTO FAO/PNUMA. Conservación *In situ* de los recursos genéticos. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Documento técnico No. 7 FP 6105-85-01. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. 1991.

RAMOS, P. En : AGUILAR, J. A. Cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en Aguas Calientes, México: Situación actual y comparación del plasma germinal 1940-1984. Tesis Maestría Chapingo, México, Escuela Nacional de Agricultura , Colegio de Postgraduados. 1986.

RANGEL , O. Diversidad Biótica 1. Universidad Nacional de Colombia. Santa Fe de Bogota, Colombia. 1987.

RINDOS, D. Origen de la agricultura. Ediciones Bellaterra, S.A. España. 2000.

ROMERO, B. Semillas biología y tecnología. Ediciones Mundi-Prensa España. Pág. 227-245. 1988.

ROSAS, Luis. SANABRIA, Olga. GUACA, Nelson. ZAMBRANO, Leonidas. Aspectos etnobotánicos y productividad del *Phaseolus polyanthus* G. En: *Cespedesia*. Vol. 21, N. 67 ; p. 121-129, 1996.

SANABRIA, Olga Lucia. Proyecto conservación y manejo *In situ* de arvenses y cultivares tradicionales en el suroccidente Colombiano. Sena-Colciencias-VRI/ 999 2002.

SANABRIA O L, NAVIA C H, MOLANO N A, ORJUELA Y MUÑOZ E. Conservación y manejo *In situ* de arvenses y cultivares tradicionales en el suroccidente colombiano. Sena-Colciencias-VRI/ 999 Informe Técnico Final.. 34 pp 2005.

SANABRIA, Olga Lucia. Manejo vegetal en agroecosistemas tradicionales de Tierradentro Cauca, Colombia. Editorial Universidad del Cauca. Popayán, Colombia 2001.

SANABRIA, Olga Lucia y BALCAZAR, Flor de Maria. Plantas comestibles de Tierra dentro. Editorial Universidad del Cauca. Cauca, Colombia. 2000

SANABRIA, Olga Lucia. Etnobotánica: Aspectos metodológicos aplicados. Revista Unicauca-Ciencia. Vol 3. Pag 47-48. Popayán, Cauca, Colombia. 1998.

SANABRIA, Olga Lucia. Etnoflora Yucatanense. Uso y manejo forestal en la comunidad del Xul, en el sur de Yucatán. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Xalapa. Veracruz. México. 1986.

SANABRIA, Olga Lucia y ZAMBRANO Leonidas. Evaluación *In situ* de la productividad del germoplasma nativo comestible en la zona indígena del sur occidente Colombiano, Informe Técnico. PREBELAC-NYBG-USA- UNICAUCA. Popayán, Cauca. 1997.

SANABRIA, Olga Lucia y HERNÁNDEZ Ernesto, Manual de etnobotánica para trabajo de campo. En prensa. Editorial Universidad del Cauca- VRI . Popayán. 2004.

SANABRIA, Olga Lucia y VIVAS Rodrigo. Factores sociales y culturales relevantes que deben ser tenidos en cuenta en la reglamentación y aplicada de la decisión 391 de la CAN y de la política de acceso y aprovechamiento de los recursos genéticos de Colombia. Estudio general de caso, comunidades locales campesinas e indígenas del Departamento del Cauca. Instituto Alexander Von Humbolt, Fundación Acción Ambiental, Universidad del Cauca. Popayán. 2003.

SANCHES, R. Terminología genética y fitogenética. Cuarta edición. México. 1990.

SCHMIT.V, JARDÍN DU. P, DEBOUCK..D.G. Use of chloroplast DNA polymorphisms for the phylogenetic study of seven *Phaseolus* taxa including *P.*

*vulgaris* and *P. coccineus*. En: Theor Appl Genet. Vol. 87 (mayo. 1993); p. 506-516.

SCHMIT, V. and DEBOUCK, D. G. Observations o the origin of *Phaseolus polyanthus* Greenman. En: Economic Botanic. Vol. 45, N. 3 (Jul- Sep. 1991); p.345-364.

SCHMIT, V., DU JARDIN, J.P. BAUDOIN y D.G. DEBOUCK. Use of chloroplast DNA polymorphisms for the phylogenetic study of seven *Phaseolus* taxa including *P. vulgaris* y *P. coccineus*. En: Theor Appl Genet. Vol. 87(May. 1993); p. 506-516

SOCIEDAD MEXICANA DE FITOGENETICA, A, C. Avances en el estudio de los recursos fitogenéticos de México. Chapingo 1 a edición 1991.

STANSFIELD, W.D. The science of evolution. Publishing Co. New York, USA. 1977. En: AGUILAR, José Alfredo. Cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en Aguas Calientes México. Situación actual y comparación del plasma germinal 1940-1984. Tesis Maestría Chapingo, México, Escuela Nacional de Agricultura, Colegio de Postgraduados.

TANKSLEY, S. D. and S.R MCCOUCH. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. En: Luque Tovar Eduardo. Caracterización de la diversidad genética de la colección núcleo de *Phaseolus coccineus* L. y *Phaseolus polyanthus* Greenman mediante el uso de AFLPs. Tesis de grado biología. Universidad Nacional de Colombia. 2001.

The World Conservation Union (UICN). From strategy to action: How to implement the report of the World Commission on Enviroment and Development. (Draft). 1988.

VAVILOV, N. I. En: HERNANDEZ X. Evolución de las plantas cultivadas. Notas de curso en etnobotánica. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México. 1989.

VELASCO, A y CERON, M. Estudio etnobotánico de la medicina tradicional y su relación con las plantas medicinales como una herramienta básica para la atención primaria en salud. Cabildo Indígena San Andrés, Valle del Sibundoy. Trabajo de Grado Licenciatura en Biología. Universidad del Cauca. Popayán. 2000

VOYSEST, Oswaldo. Variedades de frijol en América Latina y su origen. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. 1983.

WELLHAUSEN, E.J. ; Fuentes O., A.; and Hernández C., A. In collaboration with Mangelsdorf. En Aguilar, José Alfredo. Cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en Aguas Calientes México. Situación actual y comparación del

plasma germinal 1940-1984. Tesis Maestría Chapingo, México, Escuela Nacional de Agricultura, Colegio de Postgraduados. 1986.

#### Paginas de Internet

DUARTE J. Marcadores moleculares. 2003

<http://www.Ciencias.uma.es.publicaciones/encuentros46/biogeo.html>

FAO. Informé sobre el estado de los recursos fitogenéticos en el mundo. 1996.

<http://www.fao.org/FOCUS/S/96/06/02-s.htm.org>

MARIN, A L. Variabilidad genética y análisis y similitud de los genotipos brasileños de la élite del frijol común ( *Phaseolus vulgaris* L.). Universidad Federal de Vicosa, Departamento de fitotecnia. Brazil. 1999.

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-90162003000200011&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162003000200011&lng=en&nrm=iso)

MILLER, M.P. AMOVA- PREP 1.01. A program for the preparation of AMOVA input files from dominant- market raw data. Departament of Biological Sciences, Northern Arizona University, flagstaff, AZ. USA:

<http://herb.bio.nau.edu/miller/amovaprp.htm>.

SARUKHÁN JOSE. Selección artificial. 1998.

[http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/070/htm/sec\\_13.htm](http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/070/htm/sec_13.htm)

MENDEL GREGOR. Experimentos en híbridos de plantas. 1865.

[http://www.ucm.es/info/antilia/asignatura/practicas/trabajos\\_ciencia/mendel.htm](http://www.ucm.es/info/antilia/asignatura/practicas/trabajos_ciencia/mendel.htm)

# **ANEXOS**

## ANEXO1

### Cuadro de Colectas

MUESTRA CAMPO	ESPECIE	LOCALIDAD	MPIO/DPTO	AGROHABITAD	GEOPOSICION	ALTURA (m.s.n.m)
PSCV001	<i>P. coccineus</i> *	El Manzanal	Silvia / cauca	cultivado	N 02° 38' 16.1" W 76° 22' 10.5"	2680
PSCV002	<i>P. coccineus</i> *	El Manzanal	Silvia / cauca	cultivado	N 02° 38' 16.1" W 76° 22' 10.5"	2680
PSCV003	<i>P. dumosus</i>	El Manzanal	Silvia / cauca	cultivado	N 02° 38' 16.1" W 76° 22' 10.5"	2680
PSCV004	<i>P. dumosus</i>	La Peña	Totoró/Cauca	cultivado	N 02° 30' 36.2" W 76° 23' 06.8"	2679
PSCV005	<i>P. dumosus</i>	Villanueva	Silvia / cauca	cultivado	N 02° 38' 43.6" W 76° 21' 38.1"	2704
PSCV006	<i>P. dumosus</i>	Las Delicias	Silvia / cauca	cultivado	N 02° 37' 55.4" W 76° 20' 31.5"	2680
PSCV007	<i>P. coccineus</i>	Ambachico	Silvia / cauca	cultivado	N 02° 36' 11.4" W 76° 22' 53.5"	2524
PSCV008	<i>P. dumosus</i> **	Agoyá	Silvia / cauca	cultivado	N 02° 35' 15.5" W 76° 22' 52.6"	2507
PSCV009	<i>P. dumosus</i>	Agoyá	Silvia / cauca	silvestre	N 02° 35' 15.5" W 76° 22' 52.6"	2507
PSCV010	<i>P. dumosus</i>	Miraflores	Silvia / cauca	cultivado	N 02° 33' 09.8" W 76° 25' 07.8"	2440
PSCV011	<i>P. coccineus</i>	Miraflores	Silvia / cauca	cultivado	N 02° 33' 09.8" W 76° 25' 07.8"	2440
PSCV012	<i>P. dumosus</i>	Betania	Totoró/Cauca	cultivado	N 02° 31' 32.6" W 76° 23' 06.8"	2682
PSV013	<i>P. dumosus</i>	Muechiza bajo	Yacuanquer/Nariño	cultivado	N 02° 06' 43.7" W 77° 25' 10.8 "	2507
PSCV014	<i>P. dumosus</i>	Jenoy	Pasto / Nariño	cultivado	N 01° 15' 48.4" W 77° 20' 08.5"	2573
PSCV015	<i>P. coccineus</i>	Jenoy	Pasto / Nariño	cultivado	N 01° 15' 48.4" W 77° 20' 08.5"	2573
PSCV016	<i>P. dumosus</i>	El barranco	La florida / Nariño	cultivado	N 01° 17' 20.9" W 77° 22' 30.5"	2297
PSCV017	<i>P. coccineus</i> *	Santiago	Santiago/Putumayo	cultivado	N 01° 18' 44.8" W 77° 00' 03.8"	2117
PSCV018	<i>P. coccineus</i>	Santiago	Santiago/Putumayo	cultivado	N 01° 18' 44.8" W 77° 00' 03.8"	2117
PSCV019	<i>P. dumosus</i>	La Menta	San Francisco/Put	cultivado	N 01° 09' 23.6" W 77° 56' 38.8"	2125
PSCV019	<i>P. dumosus</i>	La Menta	San Francisco/Put	cultivado	N 01° 09' 23.6" W 77° 56' 38.8"	2125
PSCV019	<i>P. dumosus</i>	La Menta	San Francisco/Put	cultivado	N 01° 07' 40.9" W 77° 56' 38.8"	2121
PSCV020	<i>P. coccineus</i> *	San Andrés	Santiago/Putumayo	cultivado	N 01° 07' 40.9" W 76° 59' 25.9 "	2121
PSCV021	<i>P. coccineus</i> *	San Andrés	Santiago/Putumayo	cultivado	N 01° 07' 40.9" W 76° 59' 25.9 "	2121
PSCV021	<i>P. coccineus</i> *	San Andrés	Santiago/Putumayo	cultivado	N 01° 10' 40.6" W 76° 53' 43.6 "	2125
PSCV022	<i>P. dumosus</i> *	Tamabioy	Sibundoy/Putumayo	cultivado	N 01° 10' 40.6" W 76° 53' 43.6 "	2125
PSCV023	<i>P. dumosus</i>	Tamabioy	Sibundoy/Putumayo	cultivado	N 01° 11' 44.7" W 76° 55' 44.7"	2123
PSCV024	<i>P. dumosus</i>	El egido	Sibundoy/Putumayo	cultivado	N 01° 11' 44.7" W 76° 55' 44.7"	2123
PSCV025	<i>P. dumosus</i>	Yacuanquer	Yacuanquer/Nariño	cultivado	N 01° 07' 12.3" W 76° 53' 43.6 "	2763

PSCV026	<i>P. dumosus</i>	Yacuanquer	Yacuanquer/Nariño	cultivado	W 77° 23' 29.1 "	2747
					N 01° 06' 47.7"	
					W 77° 23' 10.8 "	
					N 01° 06' 43.7"	2672
PSCV027	<i>P. coccineus</i>	Muechiza	Yacuanquer/Nariño	cultivado	W 77° 25' 10.8 "	2676
					N 01° 07' 49.1"	
PSCV028	<i>P. dumosus</i>	Chapacual	Yacuanquer/Nariño	silvestre	W 77° 24' 39.1 "	
PSV029	<i>P. coccineus</i>	Muechiza	Yacuanquer/Nariño	cultivado	N 01° 06' 43.7"	2672
					W 77° 24' 10.8 "	
PSV030	<i>P. dumosus</i>				N 01° 06' 43.7"	2672
		Muechiza	Yacuanquer/Nariño	cultivado	W 77° 24' 10.8 "	
PSV031	<i>P. dumosus</i>	Panchindo	La florida	silvestre	N 01° 17' 10.6"	2283
					W 77° 24' 39.1 "	
PSV032	<i>P. dumosus</i>	Panchindo	La florida	silvestre	N 01° 17' 10.6"	2283
					W 77° 24' 39.1 "	
PSV033	<i>P. dumosus</i>	Panchindo	La florida	cultivado	N 01° 17' 26.3"	2279
					W 77° 24' 10.9 "	
PSV034					N 01° 17' 29.4"	2435
	<i>P. dumosus</i>	El Barranco	La Florida/Nariño	cultivado	W 77° 22' 33.3 "	
					N 01° 17' 29.4"	2435
PSCV035	<i>P. coccineus</i>	El Barranco	La Florida/Nariño	cultivado	W 77° 22' 33.3 "	
					N 01° 12' 18.4"	2123
PSCV036	<i>P. dumosus</i>	Vichoy	Santiago/Putumayo	cultivado	W 76° 55' 12.3 "	
PSV037	<i>P. dumosus</i>	San silvestre	Sibundoy	cultivado	N 01° 08' 43.6"	2123
					W 76° 55' 44.7 "	
PSCV038	<i>P. dumosus</i>	Pueblo nuevo	Caldono	cultivado		
PSCV039	<i>P. coccineus</i>	Pueblo Nuevo	Caldono/Cauca	cultivado		
					N 01° 15' 29.9"	2123
PSCV040	<i>P. dumosus</i>	Jenoy	Pasto / Nariño	cultivado	W 76° 19' 12.9 "	
		cruce puente			N 02° 33' 09.7"	2538
PSCV041	<i>P. dumosus</i>	Popayan	Totoró/Cauca	cultivado	W 76° 25' 07.8 "	
PSV042	<i>P. coccineus</i>	vía Piendamó	silvestre	silvestre	N 02° 37' 19.4"	2395
		-Silvia			W 76° 28' 47.4 "	
PSV043	Posible híbrido	Agoya	Agoya	Cultivado	N 02° 35' 15.9"	2507
					W 76° 22' 52.6 "	

Proyecto Sena-Colciencias-Unicauca 999 VRI Contrato 586/2002 Código 1103-07-12529  
Sanabria O.L. y otros 2005

**Anexo 2.** Colecta realizada en el suroccidente colombiano para *Phaseolus dumosus* M. Proyecto Sena-Colciencias- 999 VRI/ . Informe Técnico Final . 2005.

COLECTA N°	COLECTA	DESCRIPCIÓN	POSIBLES ESPECIES	GEOPOSICION	ALTURA (msnm)
♣ PSCV003	D: Cauca, M: Silvia, C: el manzanal	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 02° 38' 16.1" W 76° 22' 10.5"	2680
♣ PSCV 004	D: Cauca, M: Totoró, C: la peña	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 02° 30' 36.2" W 76° 23' 06.8"	2679
♣ PSCV005	D: Cauca, M: Silvia, C: Villanueva	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 02° 38' 43.6" W 76° 21' 38.1"	2704
♣ PSCV006	D: Cauca, M: Silvia, C: las delicias	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 02° 37' 55.4" W 76° 20' 31.5"	2680
▲ PSCV007	D: Cauca, M: Silvia, C: Ambachico	F: escarlata, S: crema pintas cafés	<i>Phaseolus coccineus</i>	N 02° 36' 11.4" W 76° 22' 53.5"	2524
▼ PSCV008	D: Cauca, M: Silvia, C: el manzanal	F: blanca, S: rojo pintas amarillas	Híbrido( <i>P. dumosus</i> - <i>P. vulgaris</i> ) ( <i>P. dumosus</i> - <i>P. coccineus</i> )	N 02° 35' 15.5" W 76° 22' 52.6"	2507
♣ PSCV009	D: Cauca, M: Silvia, C: el manzanal	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 02° 35' 15.5" W 76° 22' 52.6"	2507
♣ PSCV010	D: Cauca, M: Silvia, C: Miraflores	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 02° 33' 09.8" W 76° 25' 07.8"	2440
▲ PSCV011	D: Cauca, M: Silvia, C: Miraflores	F: escarlata, S: morada	<i>Phaseolus coccineus</i>	N 02° 33' 09.8" W 76° 25' 07.8"	2440
♣ PSCV012	D: Cauca, M: Totoró, C: Betania	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 02° 31' 32.6" W 76° 23' 06.8"	2682
♣ PSCV013	D: Nariño, M: Yacuanquer, C: Mohechiza bajo	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 02° 06' 43.7" W 77° 25' 10.8 "	2507
♣ PSCV014	D: Nariño, M: Florida, C: Genoy	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 01° 15' 48.4" W 77° 20' 08.5"	2573
▲ PSCV017	D: Putumayo, M: Santiago, zona urbana	F: escarlata, S: negra	<i>Phaseolus coccineus con interrogante por (flores gigantes)</i>	N 01° 18' 44.8" W 77° 00' 03.8"	2117
▲ PSCV018	D: Putumayo, M: Santiago, zona urbana	F: rosada, S: morada pintas negras	<i>Phaseolus coccineus</i>	N 01° 18' 44.8" W 77° 00' 03.8"	2117
♣ PSCV019	D: Putumayo, M: Santiago, zona urbana	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 01° 09' 23.6" W 77° 56' 38.8"	2125

▼ PSCV022	D: Putumayo, M: Sibundoy, C: Tamabioy	F: escarlata, S: escarlata o rojiza	Posible híbrido P. dumosus x P. coccineus	N 01° 07' 40.9" W 76° 59' 25.9"	2121
◀ PSCV023	D: Putumayo, M: Sibundoy, C: Tamabioy	F: desconocida, S: blanca	Variante <i>Phaseolus dumosus</i>	N 01° 10' 40.6" W 76° 53' 43.6"	2125
♣ PSCV024	D: Putumayo, M: Sibundoy, C: San silvestre	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>		
♣ PSCV025	D: Nariño, M: Yacuanquer zona urbana	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 01° 11' 44.7" W 76° 55' 44.7"	2123
♣ PSCV 026	D: Nariño, M: Yacuanquer zona urbana	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 01° 07' 12.3" W 77° 23' 29.1 "	2763
▲ PSCV 027	D: Nariño, M: Yacuanquer, C: Mohechiza	F: escarlata, S: morada	<i>Phaseolus coccineus</i>	N 01° 06' 47.7" W 77° 23' 10.8 "	2747
♣ PSCV028	D: Nariño, M: Yacuanquer, C: chapacual	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i> (mezcla en la misma población)	N 01° 06' 43.7" W 77° 25' 10.8 "	2672
♣ PSCV030	D: Nariño, M: Yacuanquer, C: mohechiza	F: blanca, S: no se colecto pl. seca	<i>Phaseolus coccineus</i>	N 01° 06' 43.7" W 77° 24' 10.8 "	2672
♣ PSCV031	D: Nariño, M: Nariño, C: Panchindo	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 01° 06' 43.7" W 77° 24' 10.8 "	2672
♣ PSCV032	D: Nariño, M: Nariño, C: Panchindo	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 01° 17' 10.6" W 77° 24' 39.1 "	2283
♣ PSCV033	D: Nariño, M: Nariño, C: Panchindo	F: blanca, S: amarilla (floración)	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 01° 17' 10.6" W 77° 24' 39.1 "	2283
♣ PSCV034	D: Nariño, M: la florida, C: el barranco	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 01° 17' 26.3" W 77° 24' 10.9 "	2279
▲ PSCV035	D: Nariño, M: la florida, C: el barranco	F: escarlata, S: crema pintas café	<i>Phaseolus coccineus</i>	N 01° 17' 29.4" W 77° 22' 33.3 "	2435
◀ PSCV036	D: Putumayo, M: Santiago, C: Vichoy	F: blanca, S: blanca	Variante <i>Phaseolus dumosus</i>	N 01° 17' 29.4" W 77° 22' 33.3 "	2435
♣ PSCV037	D: Putumayo, M: Sibundoy, C: San silvestre	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 01° 12' 18.4" W 76° 55' 12.3 "	2123
♣ PSCV038	D: Cauca, M: Caldone, C: pueblo nuevo	F: blanca, S: amarilla	<i>Phaseolus dumosus</i>	N 01° 08' 43.6" W 76° 55' 44.7 "	2123

▲ PSCV039	D: Cauca, M: Caldono, C: pueblo nuevo	F: rosada, S: crema pintas café	<i>Phaseolus coccineus</i>		
▼ PSCV040	D: Nariño, M: Florida, C: Genoy	F: rosada, S: amarilla	Posible híbrido P. dumosus x P. coccineus	N 01° 15' 29.9" W 76° 19' 12.9 "	2123
▼ PSCV043	D: Cauca, M: Silvia C: Miraflores	F: blanca, S: rojo pintas amarillas	Híbrido con características de híbrido natural	N 02° 37' 19.4" W 76° 28' 47.4 "	2395

- ♣ Variante semilla amarilla
- ◀ Variante semilla blanca
- ▼ Posibles híbridos
- ▲ Referentes *Phaseolus coccineus* L

### ANEXO 3

Descriptores utilizados para la caracterización morfológica de 43 materiales de la colección de *Phaseolus dumosus* y *Phaseolus coccineus*

DESCRIPTORES CUALITATIVOS			
<b>1. CARACTERIZACION FASE GERMINATIVA</b>			
Tipo Germinación	Emergencia en días	Color cotiledón	Color nervaduras
Color hipocotilo			
<b>2. CARACTERIZACION DE LA FLOR</b>			
Color predominante de las alas	Color predominante del limbo del estandarte	Patrón de distribución del color del limbo del estandarte	Venaciones
			Ausencia
			Presencia
Color predominante del cuello del estandarte	Patrón de distribución del color del cuello del estandarte	Color predominante del cáliz	Posición estigma de la flor
<b>3. CARACTERIZACION DE LA VAINA</b>			
Perfil predominante de la vaina	Tipo predominante del ápice de la vaina		Según dirección de la sutura
	Curvada	Tipo	Según grado
medianamente curvo		de curvatura	Inversa
			Normal
<b>4. CARACTERIZACION DE LA SEMILLA</b>			
Forma semilla	Forma hilum	Colores semillas	
		Primario	Secundario

Descriptores utilizados para la caracterización morfológica de 43 materiales de la colección de *Phaseolus dumosus* y *Phaseolus coccineus*

<b>DESCRITORES CUANTITATIVOS</b>					
<b>1. CARACTERIZACION DE LA FASE GERMINATIVA</b>					
<b>Hipocotilo</b>	<b>Longitud</b>	<b>HOJA PRIMARIA 1</b>		<b>HOJA PRIMARIA 2</b>	
<b>Longitud/ prom</b>	<b>epicotilo/prom</b>	<b>Ancho/prom</b>	<b>Largo/prom</b>	<b>Ancho/prom</b>	<b>Largo/prom</b>
<b>2. CARACTERIZACION HOJAS EN PERIODO REPRODUCTIVO</b>					
<b>HOJAS</b>					
<b>Diámetro</b>	<b>Longitud</b>				
<b>3. CARACTERIZACION DE LAS VAINAS</b>					
<b>VAINAS</b>					
<b>Diámetro</b>	<b>Longitud</b>				
<b>4. CARACTERIZACION DE LA SEMILLA</b>					
	<b>Tamaño semillas</b>			<b>Hilum</b>	
<b>Peso</b>	<b>Ancho</b>	<b>Largo</b>	<b>Grosor semilla</b>	<b>Diámetro</b>	<b>Longitud</b>

**ANEXO 4.** Listado de la colecta para pruebas moleculares

MUESTRA LAB	MUESTRA CAMPO	ESPECIE	LOCALIDAD	MPIO / DPTO	ESTA
19	PSCV001	<i>P. coccineus</i> *	El Manzanal	Silvia / Cauca	Cultivado
22	PSCV002	<i>P. coccineus</i> *	El Manzanal	Silvia / Cauca	Cultivado
41	PSCV003	<i>P. dumosus</i>	El Manzanal	Silvia / Cauca	Cultivado
20	PSCV004	<i>P. dumosus</i>	La Peña	Totoró / Cauca	Cultivado
1	PSCV005	<i>P. dumosus</i>	Villanueva	Silvia / Cauca	Cultivado
2	PSCV006	<i>P. dumosus</i>	Las Delicias	Silvia / Cauca	Cultivado
6	PSCV007	<i>P. coccineus</i>	Ambachico	Silvia / Cauca	cultivado
17	PSCV008	<i>P. dumosus</i> **	Agoya	Silvia / Cauca	cultivado
9	PSCV009	<i>P. dumosus</i>	Agoya	Silvia / Cauca	silvestre
7	PSCV010	<i>P. dumosus</i>	Miraflores	Silvia / Cauca	cultivado
36	PSCV011	<i>P. coccineus</i>	Miraflores	Silvia / Cauca	cultivado
3	PSCV012	<i>P. dumosus</i>	Betania	Totoró / Cauca	cultivado
27	PSCV014	<i>P. dumosus</i>	Jenoy	Pasto / Nariño	cultivado
28	PSCV015	<i>P. coccineus</i>	Jenoy	Pasto / Nariño	cultivado
31	PSCV017	<i>P. coccineus</i> *	Santiago	Santiago / putumayo	cultivado
14	PSCV018	<i>P. coccineus</i>	Santiago	Santiago / putumayo	cultivado
34	PSCV019	<i>P. dumosus</i>	La Menta	San Francisco / Put	cultivado
32	PSCV020	<i>P. coccineus</i> *	San Andrés	Santiago / putumayo	cultivado
29	PSCV021	<i>P. coccineus</i> *	San Andrés	Santiago / putumayo	cultivado
12	PSCV022	<i>P. dumosus</i> *	Tamabioy	Sibundoy / Putumayo	cultivado
15	PSCV023	<i>P. dumosus</i>	Tamabioy	Sibundoy / Putumayo	cultivado
16	PSCV024	<i>P. dumosus</i>	San Silvestre	Sibundoy / Putumayo	cultivado
44	PSCV025	<i>P. dumosus</i>	Yacuanquer	Yacuanquer / Nariño	cultivado
54	PSCV026	<i>P. dumosus</i>	Yaquanquer	Yacuanquer / Nariño	cultivado
42	PSCV027	<i>P. coccineus</i>	Muechiza	Yacuanquer / Nariño	cultivado
39;55	PSCV028	<i>P. dumosus</i>	Chapacual	Yacuanquer / Nariño	silvestre
43	PSCV032	<i>P. dumosus</i>	Panchindo	La Florida / Nariño	cultivado
45	PSCV034	<i>P. dumosus</i>	El Barranco	La Florida / Nariño	cultivado
40	PSCV035	<i>P. coccineus</i>	El Barranco	La Florida / Nariño	cultivado
46	PSCV036	<i>P. dumosus</i>	Vichoy	Santiago / Putumayo	cultivado
37	PSCV039	<i>P. coccineus</i>	Pueblo Nuevo	Caldono / Cauca	cultivado
18	PSCV040	<i>P. dumosus</i>	Jenoy	Pasto / Nariño	cultivado
38	PSCV041	<i>P. dumosus</i> *	La Peña	Totoró / Cauca	cultivado
56	PSCV043	<i>P. dumosus</i> **	Miraflores	Silvia / Cauca	cultivado
C9	G35154	<i>P. polyanthus</i>	Puebla	Nuevo Necaxa / MEX	Cultivado
G10	G35758	<i>P. polyanthus</i>	Santa Maria de Jesús	Sacatepequez / GTM	silvestre
G8	G36187	<i>P. polyanthus</i>	Abejorral	Antioquia	cultivado
C7	G35778	<i>P. coccineus</i>	Totonicapan	San Cristobal / GTM	silvestre

G6	G35381	<i>P. coccineus</i>	Francisco I. Madero	Durango / MEX	silvestre
G3	G35998	<i>P. coccineus</i>	Betania	Antioquia	cultivado
G15	G104	<i>P. vulgaris</i>		Antioquia	cultivado
G14	G7479	<i>P. vulgaris</i>	Teloloapan	Guerrero / MEX	silvestre
G17	G25231	<i>P. lunatus</i>	Manzanillo	Colima / MEX	silvestre
* Accesiones con posible estado de hibridación o introgresión ** Híbrido natural					
<b>Muestras C:</b> granja CIAT-Popayán; <b>muestras G:</b> banco de germoplasma CIAT-Palmira					

## ANEXO 5

### Materiales de referencia CIAT

MUESTRA	BANCO DE GERMOPLASMA	ESPECIE	LOCALIDAD	MPIO / DPTO	ESTADO BIOLÓGICO
G35778		<i>P. coccineus</i>	Totonacapan Francisco I.	San Cristobal / GTM	silvestre
G35381		<i>P. coccineus</i>	Madero	Durango / MEX	silvestre
G35998		<i>P. coccineus</i>	Betania	Antioquia	cultivado
G104		<i>P. vulgaris</i>		Antioquia	cultivado
G7479		<i>P. vulgaris</i>	Teloloapan	Guerrero / MEX	silvestre
G25231		<i>P. lunatus</i>	Manzanillo	Colima / MEX	silvestre

## ANEXO 6

### **Protocolo para la micro extracción de ADN de robles colombianos Dellaporta Modificado.**

Se maceraron aproximadamente 100 mL de tejido vegetal con Nitrogeno líquido en un mortero de cerámica hasta obtener un polvo fino y seco. El tejido se resuspendio en 600  $\mu$ L de buffer de extracción (conformación NaCl 0.5 M, Tris pH 7.5 0.2 M, EDTA 10 mM, SDS 1% y agua bidestilada) con el fin de destruir membranas celulares. Esta suspensión se puso en baño Maria a 65° C, agitando cada 10 minutos. A cada muestra se agregaron 300  $\mu$ L de Acetato de Amonio 7.5 M y se dejo a temperatura ambiente por 10 minutos. Luego de esto se centrifugaron las muestras a 12.000 rpm por 10 minutos y se recupero el sobrenadante al cual se le agregaron 600  $\mu$ L de isopropanol y se incubo a – 20°C pr 12 horas para precipitar el ADN. Se centrifugo nuevamente a 12.000 rpm por 15 minutos para recuperar los ácidos nucleicos eliminando el sobrenadante. El precipitado se lavo con 800  $\mu$ L de etanol al 70% frío y se centrifugo por 15 minutos a 12.000 rpm. Se seco el precipitado a temperatura ambiente por una hora y se resuspendio en 100  $\mu$ L de buffer 1X TE (200 mL de solución Tris-HCl 1 M y EDTA 0.5 M). Por último se agrego a cada muestra 2  $\mu$ L de RNAsa y se conservo a 4°C hasta su utilización (Murillo y Murillo, 2003; Bonilla y Espinosa, 2003; Henríquez, 2000).

**Cuantificación del ADN:** las concentraciones de ADN se estimaron por comparación con patrones de ADN del bacteriofago Lambda en un gel de agarosa al 0.8% en buffer TBE 0.5  $\mu$ g/mL. La cuantificación se realizo por comparación visual de la intensidad del as bandas. El ADN cuantificado se diluyo en agua HPLC hasta concentración de 5 ng/ $\mu$ L y se almaceno a –20°C (Bonilla y Espinosa, 2003).

**Amplificación de ADN mediante PCR utilizando RAMS (Microsatélites Amplificados Aleatoriamente):** luego de la selección de cebadores teniendo en cuenta su habilidad para revelar polimorfismo, el número de bandas polimórficas y reproducibilidad, se estandarizo la reacción para los cebadores microsatélites RAMS. Para esto se realizaronn curvas para determinar las concentraciones optimas de Magnesio, Taq polimerasa, cebador, dNTPs y ADN; se ajusto el perfil térmico de PCR para cada uno de los cebadores, debido a que para cada uno la temperatura es diferente. La amplificación se llevo a cabo en termociclador PTC-100 programable Termal Controller de MS Research, Inc ® (Murillo y Murillo, 2003; Bonilla y Espinosa, 2003; Henríquez, 2000).

Los productos amplificados se separaron por electroforesis durante cuatro horas en buffer TBE 0.5X (Tris-Borato 0.045 M, EDTA 0.001 M) usando Bromuro de Etidio (0.8  $\mu$ g/mL) para la tinción. Se visualizo en un transiluminador con luz

ultravioleta y se fotografió en un equipo de fotodocumentación Gel-Doc 1000 (BIO-RAD), unido a un sistema procesador video copia controlado por un software de análisis molecular. La longitud de los productos de amplificación se estimaron por comparación con un marcador Lambda ( $\gamma$ ) de 100 pb de Promega (Bonillas y Espinosa, 2003).

## ANEXO 7

### TINCIÓN CON PLATA PARA ACIDOS NUCLEICOS Y PROEINAS

(Nota: cantidades para un gel tamaño aproximado Mini protean III)

#### 1. FIJACIÓN

Metanol: 15ml  
Ácido Acético: 3.6ml  
Formaldehído 37%: 15ul  
Completar con agua a un volumen de 30ml.  
Agitar por lo menos 1 hora.

#### 2. LAVADO

Etanol: 30ml  
Agua: 30ml  
3 lavados de 20 minutos cada uno

#### 3. PRETRATAMIENTO

Tiosulfato de sodio (2 g/l proteger de la luz)  
Se agita por un minuto suavemente.

#### 4.LAVADO

3 lavados con agua destilada por 20 segundos cada uno.

#### 5.IMPREGNANTE

Nitrato de plata: 0.06g  
Formaldehído: 22.5 ul  
Completar con agua hasta 30ml

#### 6. LAVADO

Dos lavados con agua de 20 segundos cada uno.

#### 7. REVELADO

Carbonato de Sodio 1.8g  
Formaldehído: 15ul  
Tiosulfato de sodio (2g/l) 600ul  
Completar con agua hasta 30 ml  
Agitar hasta la aparición de las bandas.

#### 8. LAVADO

Dos lavados con agua, uno rápido y otro por 2 minutos

### **9. FIJADOR**

Metanol: 15ml  
Ácido Acético 3.6ml  
Completar con agua a 30ml.

Se agita por 10 minutos ( se sugiere en hielo, pues demora un poco la aparición de las bandas.

### **10. PRESERVAR**

Metanol: 15ml.  
Agua: 15ml

Nota: en todos los casos , utilizar agua destilada estéril.