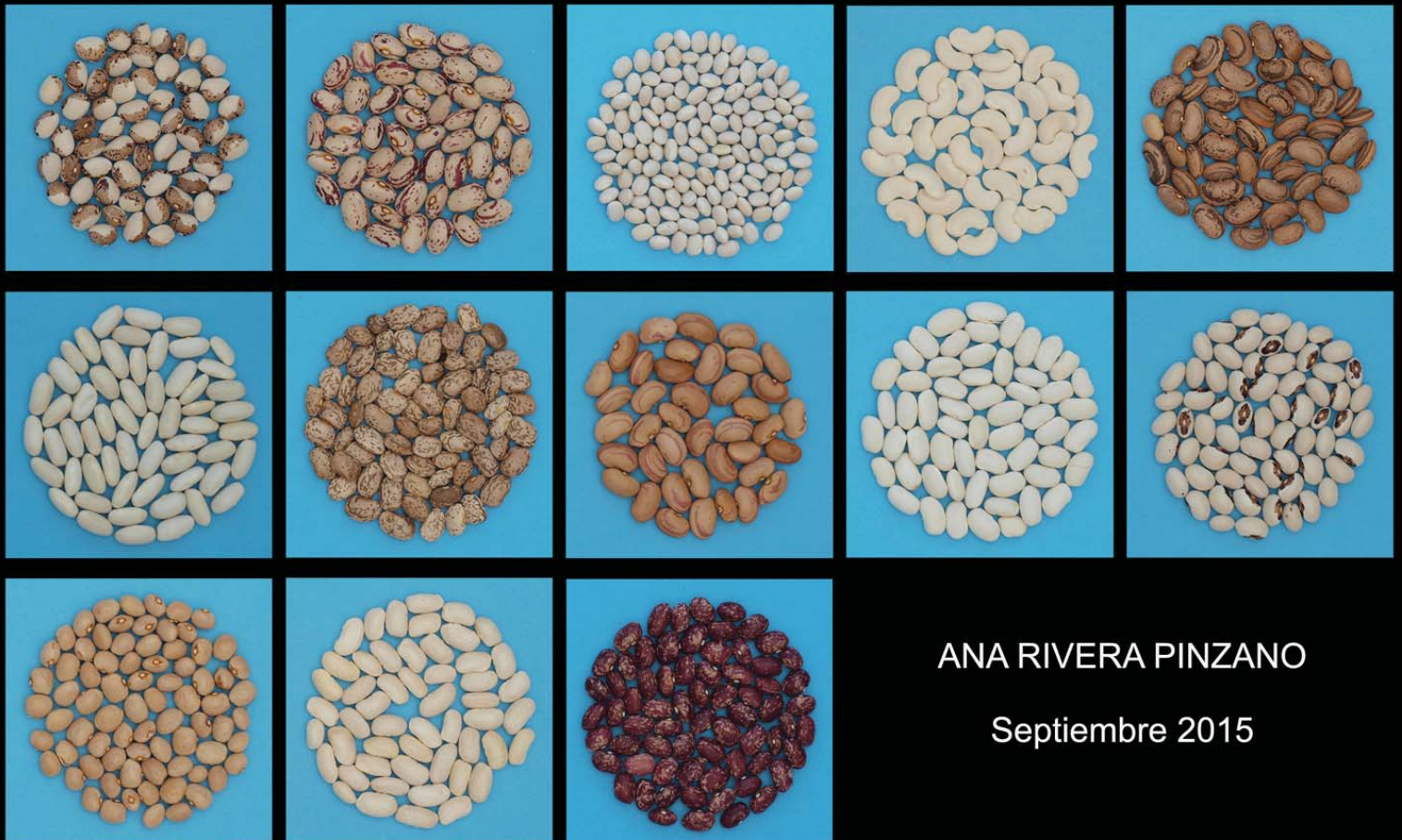




# Caracterización sensorial y culinaria de germoplasma de judía grano (*Phaseolus vulgaris* L.) y aplicación a la mejora genética



ANA RIVERA PINZANO

Septiembre 2015

**Ana Rivera Pinzano**

Tesis doctoral de la Universitat Politècnica de Catalunya  
Castelldefels, septiembre de 2015



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA  
BARCELONATECH

Departament d'Enginyeria Agroalimentària  
i Biotecnologia



Fundació  
**Miquel Agustí**

*Ilustración de la portada:*

Variedades tradicionales de judía colectadas en Cataluña. Fotografías realizadas por Daniel Fenero.

Las fotografías que aparecen en este documento han sido realizadas por: Francesc Casañas, Daniel Fenero, Ana Rivera, Aurora Rull y Joan Simó.

*Corrección ortográfica:*

Álvaro Mancho

**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA**

*Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia*  
Programa de Doctorat en Tecnologia Agroalimentària i Biotecnologia



**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA**  
**BARCELONATECH**

**Departament d'Enginyeria Agroalimentària  
i Biotecnologia**

**Caracterización sensorial y culinaria de  
germoplasma de judía grano (*Phaseolus  
vulgaris* L.) y aplicación a la mejora genética**

*Autora*

**Ana Rivera Pinzano**

Memoria presentada para optar al título de  
DOCTORA POR LA UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA  
Castelldefels, julio de 2015

Director de tesis  
**Francesc Casañas Artigas**

En la tierra hay recursos suficientes para  
satisfacer las necesidades de todos  
pero no la avaricia de algunos.

Mahatma Gandhi

***A mis padres.***

# Agradecimientos

---

Dicen que la vida está llena de señales, solo es cuestión de saber leerlas. Yo no creo que en estas cosas pero tengo que reconocer mi sorpresa cuando hace un tiempo recordé que uno de mis cuentos preferidos de pequeña era "Juan y las habichuelas mágicas". Quizá el destino me tenía preparada esta aventura, pensé. Sea cosa del destino o no, aquí estoy intentando escribir las últimas líneas de esta tesis. Y digo intentando porque para mí es difícil expresar en palabras lo que ahora mismo siento. Esta tesis tiene un trocito de todos vosotros, porque de una manera u otra todos habéis formado parte de ella tanto dentro como fuera de la universidad. Por todo esto solo puedo decir MUCHÍSIMAS GRACIAS!!!

En primer lugar a las entidades que han hecho posible la realización de esta tesis: La Fundació Miquel Agustí y la Universitat Politècnica de Catalunya.

A Francesc, por confiar en mí y darme esta oportunidad. Pero también por todo lo que me has enseñado durante estos años, por tus sabios consejos, por los que me gustaban y los que no, de todos he aprendido. Gracias por tu esfuerzo y dedicación, sin ti nada de esto habría sido posible.

A Toni por enseñarme hacer "magia" con las judías y por los buenos ratos que hemos pasado entre judías y aviones.

A Roser por transmitir su pasión y dedicación al análisis sensorial de judías. Con tu experiencia todo ha sido más fácil.

Al resto de compañeros y amigos de la Fundació Miquel Agustí: Alexy y Boi, mis primeros compis en esta aventura. Carme, Josep, Lluís y Nando, un placer compartir con vosotros estos años. Y por supuesto a Aurora compañera de batallas, alegrías, aventuras y desventuras dentro y fuera de la universidad. Gracias de corazón por tu apoyo, no cambies nunca. Danielo, por tu amistad, por tus ganas y tu disposición y porque nunca tienes un no por respuesta, si hasta te has sacado el carnet de conducir. JoanCa y JoanSi por compartir conmigo vuestra experiencia, por estar siempre ahí, por vuestros consejos y por los mapas, las fotos... Tenéis un gran reto entre manos y estoy segura de que triunfaréis. Marçal, por tu infinita paciencia, por enseñarme todo lo que sé sobre estadística, por los miles de cafés y chocolatinas, las tardes en el ESAB sin ti no habrían sido lo mismo. A Roca, ese pequeño gran hombre que no deja indiferente a nadie, mucha suerte con los canguros. Y a la nueva gran incorporación, Silvia, muchos ánimos y a por todas.

A todos muchísimas gracias por vuestra dedicación, sin vuestro trabajo en el campo y en el panel de cata, esta tesis no habría sido posible. Viva el *agrofittness*.

A los coautores de los diferentes artículos, Pedro, Juanjo, Salva y Sara.

A Lucia y Teresa por compartir conmigo su experiencia y por su paciente espera.

A Mario y Simone por abrirnos las puertas de su casa. Gracias de verdad por vuestro cariño y amabilidad, ha sido un placer trabajar a vuestro lado.

A mis técnicas preferidas María y Sheila, por vuestra dedicación, por el trabajo realizado durante todos estos años y por vuestra amistad. Mi alergia y yo os lo agradecemos de corazón.

A Miquel, por sus grandes lecciones.

A los conserjes y secretarias por hacernos la vida más fácil: siempre sabéis encontrar una solución para todo.

A los compis del ESAB a los que somos y los que fuimos, Ari, Clara, Cristina, Graciela, Jordis, Marta, Miriam, Olga, Sheila, Rivia y Xavi. Gracias por todos los ratos que hemos pasado juntos, entre todos hemos hecho esto mucho más ameno y divertido. Aprovechando que todo el mundo lee los agradecimientos, convoco desde aquí la comilona de Navidad.

A los amigos de la Autónoma, Alba M, Albert, Berta, Caro, Eli, Keyvan, Laura, Mireia P, Neus R, Nil, Oriol, Pau, Regina, Regius y Roser. Muchas gracias por hacer inolvidables los años de carrera.

A Ma, Mi y Mo, por seguir ahí como el primer día.

A Bosa, Joselito y Neusencia y las nuevas incorporaciones. Simple y sencillamente gracias por todo. Un día tendremos que asumir que los años pasan y nos hacemos mayores, pero para eso queda mucho, mientras tanto nosotros a lo nuestro.

A mis compis de piso, Alba, Albita, Cris, Diego, Frufrú, Laura y Nere (*mi hermana*), como yo siempre he dicho: mi familia de Barcelona, porque con vosotras siempre he sentido que vivía en familia. Gracias por vuestra amistad, por los buenos y no tan buenos momentos y sobre todo por tantos y tantos ratos de risas y disparates, nunca pensé que compartir piso fuera tan divertido.

A las amigas del instituto, a pesar de que nuestros caminos quedan un poco lejanos, tengo la suerte de poder seguir contando con vosotras.

A mis amigos de Pertusa, dicen que la familia no se elige pero los amigos sí, vosotros debéis ser unos amigos familia porque aunque el azar eligió por mi (o quien sabe quizá fue una conspiración de nuestros padres), yo nunca hubiera elegido tan bien. Gracias por estar siempre allí, por vuestro apoyo incondicional y sobre todo por seguir formando parte de mi vida.

Finalmente a mi pequeña gran familia, mis primos y mis tíos, en especial a José, Rosalía, y Rosa por acogerme en vuestras casas y en vuestras vidas. Vuestro cariño y apoyo ha sido fundamental en estos años.

A mis padres Antonio y Milagros por darme todo lo que hoy soy y por enseñarme a disfrutar de la tierra desde pequeña. Muchas gracias por estar siempre siempre allí.

Y por supuesto a ti David, muchas gracias por estar a mi lado, por tu apoyo y comprensión durante todos estos años y por enseñarme que no se hace cima hasta que no se llega al campo base. Ha sido un placer compartir juntos esta recta final, nunca pensé que llegaríamos a la meta de la mano. No tengo ni idea que nos deparara el futuro, yo por si acaso ya he sembrado unas habichuelas, y quien sabe a dónde nos conducirán.

# RESUMEN

---

En las últimas décadas se ha realizado una gran labor en la recolección y conservación de recursos fitogenéticos, lo que ha incrementado considerablemente el número de entradas almacenadas *ex situ* en los bancos de germoplasma. Sin embargo, estos materiales están infrautilizados, debido entre otras causas, a la falta de caracterización y evaluación de los mismos. Esta situación contradice las aparentes necesidades de los fitomejoradores que buscan alcanzar nuevos ideotipos más productivos y nutritivos que consuman menos insumos y satisfagan las preferencias sensoriales de los consumidores. La judía grano (*Phaseolus vulgaris* L.) tiene una elevada calidad nutricional y cierta capacidad de protección frente a algunas enfermedades, es la leguminosa más importante para el consumo humano y constituye una de las principales fuentes de proteína a nivel mundial. En esta especie, la falta de evaluación es especialmente patente en los caracteres sensoriales y culinarios, lo cual bloquea la mejora genética para estos aspectos y dificulta la consolidación de las judías en las dietas de los consumidores más exigentes.

Esta tesis doctoral pretende contribuir a la racionalización de las colecciones de judía procedentes de Cataluña y, a su vez, abordar la caracterización sensorial y culinaria tanto de dichas entradas, como del conjunto de entradas de la colección nuclear de judías española. Un mayor conocimiento de la variabilidad en este numeroso grupo de materiales nos va a permitir profundizar en el control genético del grado de curvatura de la variedad Ganxet y abordar un programa de mejora en otra variedad tradicional de interés, Tavella Brisa.

El trabajo realizado ha permitido clasificar las entradas colectadas en Cataluña en 20 grupos representativos, empleando descriptores morfológicos y moleculares. Dentro de la variedad con mayor número de entradas colectadas, Ganxet, también se ha efectuado un proceso de racionalización, en el que se han seleccionado 24 líneas puras que representan la variabilidad intravarietal. Tanto en la colección nuclear de judías española como en la colección procedente de Cataluña se ha estimado una elevada variabilidad para los caracteres sensoriales internos y culinarios y algo menor para los caracteres sensoriales externos. El análisis de esta información en función del origen de domesticación ha permitido establecer que las variedades de origen andino tienen la piel más perceptible, son más harinosas y tienen mayor *flavor* que las variedades mesoamericanas. El mismo análisis realizado en función del color de la semilla ha mostrado que las semillas de color blanco tienen la piel más rugosa, son menos harinosas, tienen menor *flavor* y presentan menor número de judías enteras tras la cocción. Se ha establecido también que el grado de curvatura extremo de la variedad Ganxet está genéticamente correlacionado con un elevado contenido de proteína y con la cremosidad. Este carácter ha mostrado un control genético sencillo (máximo 3 loci), baja influencia ambiental en su expresión y además resulta fácil de medir, lo que



sugiere que Ganxet podría emplearse para incrementar el contenido de proteína y la textura cremosa en otras variedades de judía, mediante procesos de retrocruce. Finalmente, como resultado del programa de mejora de la variedad Tavella Brisa, se ha obtenido una nueva variedad denominada Croscat, que conserva las características morfológicas y sensoriales de la variedad histórica y corrige defectos agronómicos como el encamado. Lo que facilita la mecanización de la cosecha y evita las mermas por patologías. Todo esto contribuye a demostrar que las colecciones conservadas *ex situ* tienen un extraordinario potencial, pero para que este se ponga de manifiesto es necesario invertir grandes esfuerzos en su caracterización, evaluación y mejora.

**Palabras clave:** Variedades tradicionales de judía, Recursos fitogenéticos, Textura de la judía, Ganxet, Tavella Brisa, Colección nuclear de judías española.

# ABSTRACT

---

In recent decades, much work has gone into collecting and conserving phylogenetic resources, resulting in a considerable increase in the number of entries stored *ex situ* in germplasm banks. However, these resources have been underexploited because, amongst other reasons, they have yet to be characterized and evaluated. Breeders need this information to obtain more productive and nutritious ideotypes that require less care and fulfill consumers' sensory preferences. The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is the legume most consumed by humans. Being one of the most important sources of protein worldwide, it has high nutritional quality and affords some protection against certain diseases. In this species, the need for evaluation is especially evident for sensory and culinary traits. The lack of data about these traits blocks breeding for greater sensory appeal and impedes the consolidation of beans in the diets of the most demanding customers.

This doctoral thesis aims to contribute to the rationalization of seed banks of beans collected in Catalonia and to expand the information available about the sensory and culinary traits of these materials as well as of those in the core collection of Spanish beans. Greater knowledge of the variability in this large group of entries will enable us to learn more about the genetic control of the degree of curvature in the Ganxet landrace and to orient a breeding program for another traditional landrace of interest, Tavella Brisa.

The work done for this thesis has enabled the entries collected in Catalonia to be classified into 20 representative groups on the basis of morphological and molecular markers. It has also led to a rational ordering within the landrace with the greatest number of entries collected, Ganxet, in which 24 inbreds representing the variability within the landrace have been selected. Both in the core collection of Spanish beans and in the entries collected in Catalonia, the estimated variability for internal sensory traits and culinary traits is high, whereas the variability for the external sensory traits is somewhat lower. Analyzing this information in function of the area where the materials were originally domesticated has shown that Andean varieties have more perceptible seed coats, are mealier, and have stronger flavor than Mesoamerican varieties. An analysis of these traits in function of the color of the seeds has shown that white seeds have rougher seed coats, are less mealy, have milder flavor, and tend to break more during cooking. The data also show that the extreme curvature of seeds in the Ganxet landrace is genetically correlated with high protein content and low mealiness. Seed curvature is an easy-to-measure trait with relatively simple genetic control, involving at most 3 loci, and environmental factors have little influence on its expression. Thus, Ganxet could be used to increase protein content and decrease mealiness in other varieties of beans through backcrossing. In the Tavella Brisa landrace, a breeding program has enabled the obtainment

of a new variety, Croscat, that conserves the morphologic and sensory traits of the historic landrace while eliminating agronomic defects such as lodging, facilitating mechanical harvesting and avoiding losses due to disease. These gains underline the high potential of ex situ conservation of entries once resources have been invested in characterizing, evaluating, and improving these materials.

**Keywords:** Bean landraces, Genetic resources, Texture of beans, Ganxet, Tavella Brisa, Spanish core collection of common beans

# RESUM

---

Durant les darreres dècades s'ha realitzat una gran tasca en la recol·lecció i conservació de recursos fitogenètics un fet que ha incrementat considerablement el nombre d'entrades emmagatzemades *ex situ* als bancs de germoplasma. Tot i així, aquests materials estan infrautilitzats com a conseqüència, entre d'altres motius, de la falta de caracterització i avaluació dels mateixos. Aquesta situació contradiu les aparents necessitats dels milloradors que volen assolir nous ideotips més productius i nutritius, que consumeixin menys insums i satisfacin les preferències sensorials dels consumidors. La mongeta gra (*Phaseolus vulgaris* L.) té una elevada qualitat nutricional i certa capacitat de protecció respecte a certes malalties, és la lleguminosa més important per al consum humà i constitueix una de les principals fonts de proteïna a nivell mundial. En aquesta espècie la manca d'avaluació és especialment patent en els caràcters sensorials i culinàries, la qual cosa bloqueja la millora genètica per aquests aspectes i dificulta la consolidació de les mongetes a les dietes dels consumidors més exigents.

Aquesta tesi doctoral pretén contribuir a la racionalització de les col·leccions de mongeta procedents de Catalunya i a la vegada abordar la caracterització sensorial tant d'aquestes entrades com de les que formen part de la col·lecció nuclear de mongetes espanyola. Un major coneixement de la variabilitat d'aquest nombrós grup d'entrades hauria de permetre aprofundir en el control genètic del grau de curvatura de la varietat Ganxet i, abordar un programa de millora de una altra varietat tradicional de interès, Tavella Brisa.

El treball realitzat ha mostrat gran variabilitat agronòmica i morfològica de les varietats de mongeta recol·lectades a Catalunya. La classificació d'aquests materials utilitzant caràcters morfològics i moleculars han permès crear 20 grups representatius. Dins de la varietat amb major nombre d'entrades recol·lectades, Ganxet, també s'ha efectuat un procés de racionalització; en el qual s'han seleccionat 24 línies pures que representen la variabilitat intravarietal. Tant a la col·lecció nuclear de mongetes espanyola com a la col·lecció procedent de Catalunya s'ha estimat una gran variabilitat pels caràcters sensorials interns i culinàries i una mica més baixa en els caràcters sensorials externs. L'avaluació d'aquesta informació, en funció de l'origen de domesticació, ha permès establir que les varietats d'origen andí tenen una pell més perceptible, són més farinoses i tenen major *flavor* que les varietats mesoamericanes. El mateix anàlisi realitzat en funció del color de la llavor ha mostrat que les llavors de color blanc tenen la pell més rugosa, són menys farinoses, tenen menor *flavor* i presenten un menor nombre de mongetes senceres després de la cocció. També s'ha establert que el grau de curvatura extrem de la varietat Ganxet està genèticament correlacionat amb l'elevat contingut de proteïna i la cremositat. Aquest caràcter ha mostrat un control genètic senzill (màxim 3 loci) i poca influència ambiental en la seva expressió. Tot això, juntament amb la facilitat de

mesurar-ho, suggereix que Ganxet podria utilitzar-se per a incrementar el contingut de proteïna i la textura cremosa en d'altres varietats de mongeta a través de processos de retroencreuament. Finalment, com a resultat del programa de millora de la varietat Tavella Brisa s'ha obtingut una nova varietat denominada Croscat, que conserva les característiques morfològiques i sensorials de la varietat històrica i corregeix defectes agronòmics com ara l'ajagut. Aquest fet, facilita la mecanització de la collita i evita les minves per patologia. Tot plegat contribueix a demostrar que les col·leccions *ex situ* tenen un potencial extraordinari, però perquè aquest es posi de manifest és necessari invertir grans esforços en la seva caracterització, avaluació i millora genètica.

**Paraules clau:** Varietats tradicionals de mongeta, Recursos fitogenètics, Textura de la mongeta, Ganxet, Tavella Brisa, Col·lecció nuclear de mongetes espanyola.

RESUMEN.....	XIII
ABSTRACT.....	XV
RESUM.....	XVII
Capítulo 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	1
1.1 Los recursos fitogenéticos y su conservación.....	3
1.1.1 Modalidades de conservación de la biodiversidad: <i>in situ</i> y <i>ex situ</i> .....	4
1.1.2 Organización de la conservación.....	6
1.1.3 ¿Por qué conservar?.....	8
1.2 La conservación <i>ex situ</i> de los recursos fitogenéticos.....	10
1.2.1 La conservación de semillas ortodoxas en bancos de germoplasma.....	11
1.2.2 Principales bancos de germoplasma en el mundo.....	16
1.2.3 Grado de documentación y utilización de los recursos fitogenéticos conservados en los bancos de germoplasma.....	17
1.3 <i>Phaseolus vulgaris</i> L.....	19
1.3.1 Origen y domesticación .....	19
1.3.2 Dispersión y centros secundarios de diversidad.....	21
1.3.3 Características nutricionales y sensoriales de la judía grano.....	22
1.3.4 Importancia económica, producción y consumo.....	24
1.3.5 Principales objetivos de la mejora genética en la judía grano.....	26
1.4 Los caracteres sensoriales y culinarios en judías secas, objetivos difíciles de mejorar para mercados exigentes.....	27
1.4.1 Caracteres sensoriales y culinarios.....	28
1.4.2 Métodos de evaluación.....	28
1.4.3 Importancia económica del valor sensorial.....	30
1.4.4 Los recursos fitogenéticos históricos como fuente de variabilidad en los programas de mejora para el valor sensorial.....	31
1.4.5 La evaluación sensorial y culinaria de las colecciones <i>ex situ</i> de judías.....	31
1.5 Los recursos fitogenéticos de judía ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) conservados <i>ex situ</i> .....	32
1.5.1 Documentación de las entradas.....	33
1.5.2 Uso de los recursos fitogenéticos de judía.....	34
1.6 Los recursos fitogenéticos de judía conservados <i>ex situ</i> en España y las tareas de racionalización de su conservación y uso.....	34
1.6.1 La Red Española de Recursos Fitogenéticos y el Inventario Nacional.....	34
1.6.2 Red Española de Colecciones de Judía.....	35
1.6.3 La Colección Nuclear de Judías Española.....	35
1.6.4 La colección de judías de la Fundación Miquel Agustí en la Universidad Politécnica de Cataluña.....	36

1.7 El estado de la cuestión.....	38
1.8 Objetivo general.....	39
1.8.1 Objetivos concretos.....	39
1.9 Bibliografía.....	40
Capítulo 2. CLASIFICACIÓN DE LAS ENTRADAS DEL TIPO VARIETAL GANXET RECOLECTADAS EN CATALUÑA	53
<hr/>	
2.1 Resumen.....	55
2.2 Introducción.....	55
2.3 Material y métodos.....	55
2.4 Resultados y discusión.....	57
2.5 Conclusiones.....	60
2.6 Referencias.....	61
Capítulo 3. VARIABILITY IN SENSORY ATTRIBUTES IN COMMON BEAN ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.): A FIRST SURVEY IN THE IBERIAN SECONDARY DIVERSITY CENTER	63
<hr/>	
3.1 Abstract.....	65
3.2 Introduction.....	65
3.3 Material and methods.....	66
3.4 Results and discussion.....	70
3.5 Conclusions.....	79
3.6 References.....	82
Capítulo 4. CULINARY AND SENSORY TRAITS IN THE SPANISH CORE COLLECTION OF COMMON BEANS ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	85
<hr/>	
4.1 Abstract.....	87
4.2 Introduction.....	87
4.3 Material and methods.....	88
4.4 Results.....	90
4.5 Discussion.....	95
4.6 References.....	99
Capítulo 5. SEED CURVATURE AS A USEFUL MARKER TO TRANSFER MORPHOLOGIC, AGRONOMIC, CHEMICAL AND SENSORY TRAITS FROM GANXET COMMON BEAN ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	103
<hr/>	
5.1 Abstract.....	105
5.2 Introduction.....	105
5.3 Material and methods.....	107
5.4 Results.....	111
5.5 Discussion.....	114
5.6 Conclusions.....	118

5.7 References.....	119
Capítulo 6. "CROSCAT" COMMON BEAN ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.), A PROTOTYPICAL CULTIVAR WITHIN THE "TAVELLA BRISA" TYPE	123
6.1 Origin.....	125
6.2 Description.....	126
6.3 Literature cited.....	128
Capítulo 7. DISCUSIÓN GENERAL	131
7.1 Racionalización de la colección de entradas procedentes de Cataluña y conservadas en el banco de la FMA-ESAB y del CRF.....	133
7.1.1 Clasificación de las entradas tipo Ganxet.....	134
7.1.2 Clasificación de la colección catalana.....	135
7.2 Caracterización sensorial y culinaria de las variedades tradicionales de judía.....	137
7.2.1 Variedades tradicionales de judía catalanas.....	138
7.2.2 La colección nuclear de judías española.....	139
7.3 La mejora genética para características sensoriales y culinarias.....	139
7.3.1 Relación entre características sensoriales y culinarias.....	140
7.3.2 Relación entre caracteres sensoriales, culinarios y otras características de interés. ....	140
7.4 La curvatura de la semilla como marcador sencillo para modificar características de la judía grano.....	142
7.5 La mejora de las variedades tradicionales: obtención de una variedad de Tavella Brisa.....	143
7.6 Bibliografía.....	145
Capítulo 8. CONCLUSIONES	151
ABREVIATURAS.....	155
LISTA DE TABLAS.....	159
LISTA DE FIGURAS.....	161





# Capítulo 1

---

## INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

## 1.1 LOS RECURSOS FITOGENÉTICOS Y SU CONSERVACIÓN

Únicamente una parte de la variabilidad de las especies que sufren procesos de domesticación se incorpora al acervo cultivado. Durante este proceso se produce un gran cuello de botella, debido al efecto fundador, en el cual una pequeña población es sometida a una intensa selección hacia las características agronómicas deseadas (Tanksley y McCouch, 1997). La pérdida de la dehiscencia, reducción del hábito de crecimiento o la pérdida de la dormancia en la germinación son algunos de los acontecimientos que se han descrito relacionados con la domesticación (Harlan, 1975).

A lo largo de la historia, las rutas comerciales y la expansión de los imperios han contribuido al intercambio y difusión de los cultivos por todo el mundo. La introducción en la Península Ibérica de cultivos como la patata (*Solanum tuberosum* L.), la judía (*Phaseolus* spp.) o el maíz (*Zea mays* L.), tras el descubrimiento de América, son algunos ejemplos. Esta expansión produjo un nuevo cuello de botella, que en algunos casos fue superior al anterior, dado que tan solo unos pocos individuos se dispersaron por el mundo desde la zona de origen (Zeder *et al.*, 2006). Además, al alejar los cultivos de la zona de domesticación, estos perdieron en muchos casos la posibilidad de cruzarse con las formas silvestres. No obstante, este proceso, les brindó la oportunidad de adaptación a nuevos ambientes. La variación *de novo* generada a través de mutaciones y recombinaciones contribuyó al aumento de la variabilidad. En ocasiones, esta consiguió niveles cercanos a los encontrados inicialmente en las variedades silvestres. En aquellas zonas donde se mantuvo el flujo de genes entre especies silvestres y domesticadas la variabilidad aumentó de forma más rápida (Van de Wouw *et al.*, 2010).

Así pues, en conjunto, la biodiversidad fue incrementando gradualmente a lo largo de la historia de las plantas cultivadas hasta avanzado el siglo XIX. Fue a lo largo del siglo XX cuando se invirtió dicha tendencia. La irrupción de la mejora genética y la agricultura moderna condujeron a la sustitución de las variedades locales por nuevas variedades más productivas y resistentes. Este hecho provocó que la diversidad conseguida hasta el momento se viera reducida por un proceso similar al ocurrido durante la domesticación. Un nuevo cuello de botella tuvo lugar, debido, por un lado, a que tan solo un pequeño número de variedades constituyeron la base para el desarrollo de nuevos cultivares, y por otro lado, a que estos sufrieron una fuerte presión de selección ejercida hacia los genes deseados. La pérdida de variabilidad debida a la modernización de la agricultura ha sido definida como erosión genética. Esta ocurrió a tres niveles: cultivos, variedades y alelos (Van de Wouw *et al.*, 2010).

En los años 50, el desarrollo agrícola moderno llegó a las primeras regiones donde se conservaba mayor diversidad genética. Fue entonces cuando, paradójicamente, los propios fitomejoradores, al ver reducida la variabilidad necesaria para crear nuevas variedades, tomaron conciencia del fenómeno de la erosión genética. La reunión técnica organizada por FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) en 1961 “*Plant Exploration and Introduction*” se considera el punto de partida en la coordinación de la conservación de los recursos fitogenéticos (RF)<sup>1</sup>. A partir de este momento (años 70 y principios de los 80 del siglo XX) se crearon los primeros bancos de germoplasma y se llevaron a cabo numerosas recolecciones de germoplasma. El entonces IBGRI (*International Board for Plant Genetic Resources*) fue una de las instituciones más activas en la organización y desarrollo de expediciones así como en el asesoramiento a otras instituciones (Pistorius, 1997).

### **1.1.1 Modalidades de conservación de la biodiversidad: *in situ* y *ex situ*.**

La conservación de los recursos fitogenéticos diferencia principalmente dos estrategias: la conservación *in situ* y la conservación *ex situ* (Veteläinen *et al.*, 2009). El tratado internacional sobre los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (TIRFAA)<sup>2</sup> define la conservación *in situ* como "la conservación de los ecosistemas y los hábitats naturales y el mantenimiento y recuperación de poblaciones viables de especies en sus entornos naturales y, en el caso de las especies domesticadas y cultivadas, en los entornos en que hayan desarrollado sus propiedades específicas" (FAO, 2009a). Hawkes y colaboradores (2002) a su vez, diferencian dos tipos de conservación *in situ*: reservas genéticas y conservación en finca o conservación *on-farm*. La primera de ellas, hace referencia a la localización, gestión y monitoreo de la diversidad genética en las poblaciones silvestres definidas dentro de las áreas designadas para la conservación a largo plazo; este tipo de conservación está especialmente indicado para las plantas no domesticadas. Para describir la conservación *on-farm* toman la definición de Maxted y colaboradores (1997): "la gestión sostenible de la diversidad genética de las variedades de cultivos desarrolladas localmente (*landraces*) con asociación de las especies o formas silvestres y malezas, por parte de los agricultores en los sistemas de agricultura tradicional, horticultura o agro-silvicultura". Este tipo de

---

<sup>1</sup>Los recursos fitogenéticos (RF) comprenden la diversidad genética correspondiente al mundo vegetal que se considera poseedora de un valor para el presente o el futuro. Bajo esta definición se incluyen, normalmente, las categorías siguientes: variedades de especies cultivadas, tanto tradicionales como comerciales; especies silvestres o asilvestradas afines a las cultivadas o con un valor actual o potencial, y materiales obtenidos en trabajos de mejora genética (Esquinas-Alcázar, 1993).

<sup>2</sup>El Tratado Internacional sobre los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (TIRFAA) entró en vigor en 2004. Sus objetivos principales son la conservación y la utilización de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura y la distribución justa y equitativa de los beneficios derivados de su uso. Uno de los puntos clave de este tratado es el Sistema Multilateral de Acceso y Distribución de Beneficios, que garantiza la continua disponibilidad de recursos genéticos para la investigación y el fitomejoramiento, garantizando al mismo tiempo un reparto equitativo de beneficios, incluyendo las ganancias procedentes de la comercialización (FAO 2009a).

conservación supone, en definitiva, el mantenimiento del cultivo de las variedades tradicionales por parte de los agricultores en el lugar en el que se desarrollaron sus características específicas.

La conservación *ex situ*, por su parte, comprende la conservación de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura fuera de su hábitat natural (FAO 2009a). Se puede realizar a nivel de semillas, cultivo *in vitro*, plantas cultivadas, jardines botánicos, polen y DNA (Hawkes *et al.*, 2002). Permite la conservación de gran cantidad de germoplasma preservándolo de posibles desastres naturales y proporciona a los mejoradores una mayor accesibilidad a los materiales.

Existe una discusión en torno a cuál es el mejor método de conservación. Históricamente los recursos fitogenéticos han sido conservados mediante métodos *ex situ* (Frankel y Bennet, 1970; Frankel 1973; Frankel y Hawkes, 1975; Guarino *et al.*, 1995; Hawkes *et al.*, 2002), sin embargo, recientemente, la conservación *in situ* ha sido propuesta como el mejor método de conservación ya que no solo preserva todos los componentes del ecosistema, sino que también permite procesos de evolución y la adaptación a nuevas condiciones y ambientes (Veteläinen *et al.*, 2009). No existen, pero, muchos trabajos que documenten la efectividad o comparen los efectos de ambos tipos de conservación (Negri y Tiranti, 2010). Thomas y colaboradores (2012) estudiaron 19 poblaciones de la variedad de trigo Rouge Bordeaux que fueron suministradas por agricultores de 11 localidades en las que todavía se cultivaba esta variedad. En cada una de las poblaciones se evaluaron 30 individuos mediante 17 marcadores microsatélites. Los resultados mostraron gran diversidad de haplotipos, sin embargo, de todos ellos, solo uno se encontró en el material conservado en el banco de germoplasma. De forma similar Gómez y colaboradores (2005) encontraron una diversidad genética inferior en dos variedades de judía (*Phaseolus vulgaris* L.) conservadas *ex situ* durante 7 y 35 años, respecto a las mismas variedades conservadas *in situ* (en este caso la variabilidad fue analizada mediante 7 marcadores microsatélites). Negri y Tiranti (2010), por su parte, evaluaron 4 poblaciones de una variedad de *Phaseolus vulgaris* L. mediante marcadores microsatélites, en las que también encontraron menor diversidad alélica en la población conservada *ex situ*. Por otro lado, Rice y colaboradores (2006) analizaron, mediante 22 marcadores moleculares, poblaciones de maíz Jala conservadas por los agricultores y poblaciones conservadas en los bancos de germoplasma. Los resultados obtenidos mostraron una diversidad genética similar para las poblaciones de maíz conservadas *in situ* y *ex situ*. En vista de la revisión bibliográfica realizada, parece ser que el reducido número de individuos que componen las entradas conservadas *ex situ* junto con la metodología empleada en su regeneración, son dos de los factores que más influyen en la pérdida de variabilidad.

Tal y como acabamos de ver, la conservación *ex situ* reduce sustancialmente la variabilidad de las poblaciones, de manera que la conservación *in situ* se propone como la mejor estrategia de conservación. Sin embargo, esta, no siempre es posible. Es muy cara, necesita de grandes extensiones de cultivo y la colaboración de los agricultores que en muchas ocasiones tienen otras

prioridades, con lo que resulta poco efectiva. Por todo ello, la conservación *ex situ* constituye una buena alternativa. Diversos autores coinciden en los beneficios de la complementariedad de ambos tipos de conservación (Maxted *et al.*, 1997; Gómez *et al.*, 2005; Negri y Tiranti, 2010). El reto no es por tanto averiguar qué forma de conservación es más efectiva, sino optimizar cada una de ellas, así como crear estrategias para fomentar la cooperación de los bancos de germoplasma en la conservación *on-farm*. En este aspecto, un mayor conocimiento de las características de los materiales conservados *ex situ* fomentaría su uso y, como consecuencia, fomentaría la conservación *in situ*.

### 1.1.2 Organización de la conservación

A pesar de las ventajas que ofrece la conservación *in situ*, en la actualidad la forma de conservación más extendida es la conservación *ex situ* en bancos de germoplasma. Según el Segundo Informe sobre el estado de los Recursos Fitogenéticos en el mundo para la Alimentación y la Agricultura<sup>3</sup> existen más de 1.750 bancos de germoplasma repartidos por todo el mundo que conservan 7,4 millones de entradas. Aunque se estima que tan solo entre un 25 y un 30% de todas las entradas conservadas son diferentes. El resto (entre 5,5-5,9 millones) corresponde a duplicados (FAO, 2010).

La mayor reserva de semillas conservadas *ex situ* se encuentra en el Depósito Mundial de Semillas de Svalbard (*Svalbard Global Seed Vault*, SGSV), situada al sur del Polo Norte en el archipiélago de Svalbard (Noruega). La creación de este banco de germoplasma surgió con el objetivo de ser un centro común de almacenamiento de copias de seguridad de las entradas conservadas en otros bancos de germoplasma. Su localización, minuciosamente estudiada, se encuentra excavada en la montaña bajo una gran capa de permafrost, la cual permitiría mantener congeladas las semillas aunque hubiera un fallo eléctrico. El SGSV está gestionado por el *Nordic Genetic Resources*, que se encarga de la recepción y gestión de las semillas. Tiene capacidad para mantener 4,5 millones de muestras (cada una de ellas representada con 500 semillas). En 2008 se depositaron las primeras semillas y en la actualidad conserva 864.309 entradas de semillas pertenecientes a 10.473 taxones y 5.103 especies, de 232 países.

Los jardines botánicos también constituyen un importante elemento en la conservación *ex situ*. Principalmente, conservan colecciones vivas por lo que desempeñan una función importante en la conservación de variedades de multiplicación vegetativa, semillas recalcitrantes y especies forestales. Durante los últimos años la cantidad de jardines botánicos registrados en la base de datos

---

<sup>3</sup>Segundo Informe sobre el estado de los Recursos Fitogenéticos en el mundo para la Alimentación y la Agricultura proporciona una visión general sobre el estado de la situación mundial y de las tendencias sobre la conservación y utilización de los recursos fitogenéticos. Fue elaborado por la FAO y recoge la información proporcionada por más de 100 países. Describe los cambios más importantes desde la publicación del primer informe en 1996 y sienta las bases para actualizar el PAM (Plan de Acción Mundial) (FAO, 2010).

del *Botanic Gardens Conservation International* ha aumentado considerablemente pasando de 1.500 en 1998 a 2.638 en la actualidad.

En el mundo hay 209.429 áreas protegidas que abarcan una superficie de 32.868.673 km<sup>2</sup> (Deguignet *et al.*, 2014), lo que supone 17,3 millones de kilómetros cuadrados más que en 2007. Sin embargo, y a pesar de este incremento, esto no ha significado un aumento de la protección de las especies que albergan. En ocasiones la protección de los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (RFAA) queda a medio camino entre el enfoque ecológico, el cual se centra principalmente en ecosistemas raros o amenazados, y el enfoque agrícola que comprende la conservación *ex situ* de los cultivos domesticados. Por otro lado, se han realizado pocos inventarios de RFAA en áreas protegidas, por lo que en muchos casos se desconoce qué es lo que realmente está protegido. Aunque las áreas protegidas son muy importantes para la conservación de la biodiversidad, resultan insuficientes para asegurar la conservación de los RFAA.

La organización de la conservación no sería posible sin la gestión que llevan a cabo múltiples entidades y centros nacionales e internacionales, repartidos por todo el mundo. Comprenden bancos de germoplasma, centros de investigación, universidades, etc. Los más importantes son la FAO y el consorcio del CGIAR (Grupo Consultivo para la Investigación Agrícola Internacional). Bajo el amparo de la FAO en 1983 se creó la secretaría de la Comisión de Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura. Dicha organización se estableció como un foro intergubernamental cuyo objetivo es garantizar la conservación y promover la disponibilidad y la utilización sostenible de los RF. En su seno se han llevado a cabo importantes negociaciones como la firma del TIRFAA o el desarrollo el primer Plan de Acción Mundial (PAM). En julio de 2014 formaban parte de esta institución 178 países y la Unión Europea. Es el único organismo intergubernamental que, específicamente, se ocupa de la diversidad biológica para la alimentación y la agricultura.

El Consorcio del CGIAR se estableció en 2010 con la reforma del Grupo Consultivo para la Investigación Agrícola Internacional (una red mundial de centros de investigación agrícola creada cuatro décadas antes). Está formado por 15 centros de investigación en estrecha colaboración con cientos de organizaciones asociadas, incluyendo institutos de investigación nacionales y regionales, organizaciones de la sociedad civil, el mundo académico y el sector privado. La investigación del CGIAR está destinada a reducir la pobreza rural, aumentar la seguridad alimentaria, mejorar la salud y la nutrición humana, y garantizar una gestión más sostenible de los recursos naturales. Algunos de los centros que pertenecen a CGIAR son: *Bioversity Internacional* (anteriormente IPGRI), Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), Centro Internacional de la Papa (CIP) o el *International Rice Research Institute* (IRRI). En el 2013 la FAO y el CGIAR crearon una alianza estratégica, basada en las fortalezas institucionales de ambas organizaciones, con el fin de aumentar la eficacia y el impacto de su trabajo.

Además, existen otras asociaciones y organizaciones no gubernamentales que también dedican sus esfuerzos a la prospección y conservación de las variedades tradicionales fomentando el uso entre los agricultores y ciudadanos en general. Realizan una gran labor en temas de divulgación mediante talleres, charlas informativas o catas de consumidores. Un ejemplo de este trabajo es el que realizan entidades como *Arche Noah* en Austria, *Seed Savers* en Estados Unidos de América (EUA) o *Slow Food* presente en 160 países. En España, la entidad más importante es Red de Semillas. Se trata de una organización estatal que a su vez acoge a pequeñas redes locales y está integrada por agricultores, organizaciones agrarias, técnicos, consumidores, grupos de desarrollo rural, personas vinculadas a la universidad, etc.

### 1.1.3 ¿Por qué conservar?

A pesar del escaso tiempo transcurrido desde el inicio de la erosión genética en las plantas cultivadas, algunos acontecimientos históricos nos han mostrado las consecuencias que comporta la reducción de la variabilidad. En el s.XIX la patata constituía la base de la alimentación en Irlanda. Un ataque violento y masivo del hongo *Phytophthora infestans* arrasó los cultivos de patata del país debido a que prácticamente todas las variedades procedían de un mismo clon (Aran Banner) susceptible a la enfermedad. Esto provocó una gran hambruna y mortandad entre la población irlandesa. Para resolver el problema, hubo que buscar genes de resistencia al hongo e introducirlos en las variedades utilizadas en Europa. Dichos genes fueron localizados en multitud de variedades de patata cultivadas en su zona de origen. Otro caso similar ocurrió en Estados Unidos, en 1970 el hongo *Helminthosporium maydis* destruyó más de la mitad de la cosecha de maíz en el sur del país. Al parecer todas las variedades híbridas de maíz cultivadas en esa zona compartían citoplasma y era aquí, precisamente, donde residía la susceptibilidad al hongo. La creación de nuevas variedades resistentes a partir de germoplasma traído de otras partes del mundo solucionó el problema. En la Unión Soviética, la sucesión de varios inviernos suaves propiciaron la expansión del cultivo de una variedad de trigo de invierno (Bezostaya) con baja resistencia al frío. Pero el tiempo cambió y en 1972, 15 millones de hectáreas cultivadas con esta variedad fueron arrasadas durante el frío invierno. Estos son solo algunos ejemplos, sin embargo, parece que no hemos aprendido la lección y en la actualidad la tendencia al monocultivo sigue siendo una práctica habitual.

Según la FAO hay identificadas unas 30.000 especies vegetales comestibles de las cuales más de 7.000 han sido utilizadas en la historia de la humanidad para satisfacer las necesidades básicas como comida, ropa, fibras, medicinas, materiales de construcción y combustible. Sin embargo, en la actualidad, tan solo 150 de estas especies se cultivan para su uso comercial. Con tan solo 30 de ellas se obtiene el 90% del aporte calórico en la dieta de los humanos y más de la mitad de este aporte viene proporcionado únicamente por tres especies: arroz (*Oryza sativa* L.), trigo (*Triticum* spp.) y maíz (FAO, 1998). En lo que respecta a las variedades, el panorama es similar dado que en las

últimas décadas se ha producido una gran reducción de la diversidad intravarietal. En México, solo se conserva el 20% de las variedades de maíz descritas en 1930. De las 7.098 variedades de manzano (*Malus domestica* L.) identificadas por el departamento de agricultura de los Estados Unidos entre 1804 y 1904, aproximadamente el 86% se han perdido. Lo mismo ha ocurrido con el 95% de las variedades de col (*Brasica* spp.), el 91% del maíz, el 94% de los guisantes (*Pisum sativum* L.) y el 81% de los tomates (*Solanum lycopersicum* L.). En la República de Corea, de todas las variedades documentadas en los huertos familiares en 1985, tan solo el 26% se conservaban en 1993. De las 2.000 variedades de arroz que había en Sri Lanka en 1959, se ha pasado a 5 variedades principales en la actualidad (Virchow, 1999). Todos estos datos ponen de manifiesto la vulnerabilidad a la que está sometida la agricultura hoy en día. La ampliación de la base genética de los cultivos es, por tanto, un objetivo fundamental para afrontar con éxito las adversidades del futuro.

Aunque no sabemos cómo serán las necesidades futuras, sí conocemos las presentes. Con la amenaza de un previsible calentamiento global de la tierra (FAO, 2015), junto con una creciente población mundial, la necesidad de nuevas variedades parece evidente. Se estima que en 2050 la población mundial alcanzará 9.000 millones de habitantes, 1.800 millones más que en la actualidad. Para alimentar toda esta población será necesario un aumento de la producción de alimentos del 70% (excluyendo los cultivos empleados en la producción de biocombustibles). La producción anual de cereales deberá aumentar desde los 2.100 millones de toneladas actuales hasta los 3.000 millones y la producción anual de carne deberá aumentar más de 200 millones de toneladas hasta alcanzar los 470 millones y todo ello, en la misma superficie de cultivo (FAO, 2009b). En este contexto es fundamental el trabajo de los fitomejoradores en la selección de nuevas variedades que sean más productivas y resistentes y con mayor potencial nutricional. El reto es, por tanto, la producción de más alimento en el mismo espacio, con menor cantidad de agua, energía y emisiones de gases de efecto invernadero, evitando de este modo la contaminación y la degradación de la naturaleza.

En un momento en que las barreras tecnológicas parecen no existir, los recursos fitogenéticos son una materia prima insustituible para la creación de nuevas variedades que cubran las necesidades del presente y del futuro. En este aspecto, las variedades locales constituyen los reservorios más cercanos de genes “útiles” para la mejora genética vegetal. En ellas se encuentran los genes y combinaciones de estos que han sido seleccionados por la naturaleza y por los agricultores, por su adaptación, productividad o resistencia a diferentes estreses (Zeven, 1998). Las poblaciones silvestres constituyen también una enorme fuente potencial de genes de interés prácticamente inexplorada.



## 1.2 LA CONSERVACIÓN *EX SITU* DE LOS RECURSOS FITOGENÉTICOS

Tal y como se ha comentado hasta el momento, la conservación *ex situ* en bancos de germoplasma es la forma más extendida de conservación. Comprende estrategias diferentes en función del tipo de semillas que conserva dado que las semillas ortodoxas toleran niveles de desecación considerables mientras que las semillas recalcitrantes no (Roberts, 1973) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Principales características de las semillas ortodoxas y recalcitrantes.

	Semillas ORTODOXAS	Semilla RECALCITRANTES
Descripción de las semillas	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Presentan metabolismo reducido</li> <li>- Pierden agua durante la última fase de maduración</li> <li>- Toleran la desecación sin daños</li> <li>- Se dispersan y conservan después de reducir el % de humedad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Son metabólicamente activas</li> <li>- No se desecan al madurar</li> <li>- No toleran ni sobreviven a la desecación</li> <li>- Se dispersan junto a los tejidos del fruto (caroso) con altos contenidos de humedad</li> </ul>
Condiciones de conservación	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Baja temperatura, previa desecación de las semillas</li> <li>- Baja humedad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mínima temperatura que puedan soportar</li> <li>- Manteniendo la humedad inicial de la semilla en el momento en que se separó de la planta madre</li> </ul>
Tiempo de conservación	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Largo plazo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Corto- medio plazo</li> <li>- Largo plazo (únicamente en semillas pequeñas y mediante crioconservación)</li> </ul>
Ejemplos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cereales básicos para la alimentación (Trigo, maíz, etc).</li> <li>- Pastos</li> <li>- Gran parte de los cultivos hortícolas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Plantas de ambientes acuáticos</li> <li>- Perennes con semillas grandes (<i>Persea americana</i>, <i>Cocos nucifera</i>, <i>Magnifera indica</i>)</li> <li>- Árboles de climas templados (géneros <i>Quercus</i> y <i>Castanea</i>, etc)</li> </ul>

Ellis y colaboradores (1990) describieron un tercer tipo de semillas a partir de un trabajo realizado con café (*Coffea arabica* L.). Estas semillas, no podían conservarse bajo ninguno de los procesos expuestos en la Tabla 1, sino con una combinación de ambos. A este tipo de semillas le denominaron intermedias.

Las Normas para Bancos de Germoplasma de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura<sup>4</sup> (FAO, 2014) establecen una serie de principios básicos que todos los bancos deben cumplir: preservar la identidad de las accesiones, mantener la viabilidad, la integridad genética y la calidad de las muestras de semilla. También deben garantizar la seguridad física de las colecciones, la disponibilidad de material para su uso y la disponibilidad de información referente a las entradas conservadas. En último lugar, se establece que los bancos deben tener una gestión proactiva.

### **1.2.1 La conservación de semillas ortodoxas en bancos de germoplasma**

El proceso de conservación de las semillas ortodoxas en los bancos de germoplasma consta de varias fases: adquisición de material, conservación propiamente dicha (comprende los procesos de secado, almacenamiento, control de viabilidad, regeneración y multiplicación), caracterización/evaluación, documentación y, por último, la distribución y el intercambio. Para designar a cada muestra diferente dentro de una colección se utiliza el término entrada o accesión (que proviene de la palabra inglesa *accession*).

#### **1.2.1.1 Adquisición del material**

La adquisición del material por parte de los bancos, se realiza mediante expediciones de recolección o mediante donaciones de otros bancos. Las colectas pueden ser específicas, cuando van dirigidas a un material en concreto, o de tipo general en las que se prospecta una zona sin hacer especial énfasis en ninguna especie en particular. El tamaño de la muestra colectada debe incluir al menos una copia del 95% de los alelos que existen en una población con una frecuencia superior al 0,05 (Marshall y Brown, 1975) aunque esto no siempre es posible. Dependiendo del tipo de reproducción de la variedad colectada, este valor oscila entre 30 y 60 plantas (Brown y Hardner, 2000).

La prioridad de colecta se establece en función del riesgo de la pérdida del material vegetal y su importancia económica o social. Se debe coleccionar la máxima variabilidad en el menor número de muestras. Es muy importante recopilar toda aquella información que va asociada al material coleccionado.

#### **1.2.1.2 Conservación**

La conservación de las semillas propiamente dicha es la función primordial de los bancos de germoplasma. Se ha descrito la fuerte influencia que ejercen la temperatura y la humedad sobre la

---

<sup>4</sup>Las Normas para bancos de germoplasma de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura, fueron preparadas por la División de Producción y Protección Vegetal de la FAO, bajo la dirección de la Comisión de Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura, que las aprobó en su decimocuarta reunión ordinaria, celebrada en 2013. Son universales y voluntarias, establecen las directrices para los bancos de germoplasma que conservan colecciones vegetales (semillas, plantas vivas o explantos) (FAO, 2014).

longevidad de las semillas (Ellis y Roberts, 1980; Dickie *et al.*, 1990; Jiang *et al.*, 2011). Por ello, el control de ambos factores es fundamental durante todo el proceso de conservación. El *Kew Royal Botanic Garden* cuenta con una base de datos (*Seed Information Database*) que puede consultarse *on line*, donde se determinan diferentes condiciones de humedad y temperatura en función de la especie conservada, además permite calcular simulaciones de longevidad.

Una vez las semillas han sido deshidratadas y limpiadas se comprueba su germinación. Para mantener la viabilidad del germoplasma original deben conservarse semillas a largo plazo con una germinación de al menos el 85%, en envases que permitan mantener la humedad deseada en cada caso. Existen envases de distintos materiales, vidrio, hojalata, plásticos, etc. No obstante, la conservación mediante envases de vidrio cerrados herméticamente con gel de sílice en su interior (sin tomar contacto con las semillas), ha resultado el método de conservación más eficiente (Gómez-Campo, 2006).

En función del uso que se hace de las semillas conservadas se establecen dos tipos principales de conservación, que se denominan colección base y colección activa. La colección base está formada por un conjunto de accesiones únicas, cuya integridad genética es lo más cercana posible a la muestra original. Estas semillas por lo general no se distribuyen directamente a los usuarios, solo se utilizan para regenerar colecciones activas. Se almacenan a largo plazo a una temperatura de  $-18 \pm 3^{\circ}\text{C}$  y una humedad relativa del  $15 \pm 3\%$  (FAO, 2014). A menudo un duplicado de seguridad de cada entrada se envía a otro banco de germoplasma, para asegurar la supervivencia del material en caso de catástrofe en el banco de origen. Esta muestra es genéticamente idéntica a la que se conserva en la colección base (está constituida por entre 300 y 500 semillas en función de la homogeneidad y el tipo de cultivo). El duplicado de seguridad se envasa al vacío y se coloca en un contenedor al que se denomina caja negra. La temperatura a la que se conserva es de  $-18^{\circ}\text{C}$ . Junto con las semillas también se guarda la información asociada al material conservado.

Las colecciones activas comprenden aquellos materiales que están disponibles para su distribución inmediata y son de acceso frecuente. Estas colecciones se mantienen en condiciones de medio plazo, refrigeradas entre  $5$  y  $10^{\circ}\text{C}$  y con una humedad relativa del  $15 \pm 3\%$  (FAO, 2014).

En ocasiones, las entidades que además de conservar el material, lo utilizan en sus investigaciones, contienen un tercer tipo de colección denominada colección de mejora o de trabajo, que está compuesta por los materiales objeto de estudio. El origen de los bancos de germoplasma se basó en este tipo de colecciones, pues los mejoradores recolectaban y conservaban aquellos materiales que consideraban importantes para sus programas de mejora.

Los datos de temperatura y humedad indicados hasta aquí son los recomendados por las normas para bancos de germoplasma de RFAA, sin embargo, cada banco ajusta estos parámetros a sus necesidades y circunstancias. El *World Vegetable Center* (AVRDC, centro más importante a nivel

mundial dedicado a las hortalizas) mantiene, por ejemplo, su colección base a una temperatura de entre -16 y -18°C, la colección activa a 5°C y entre 40-45% de humedad relativa y la colección de trabajo a 15°C y entre 40-45% de humedad relativa (Schreinemachers *et al.*, 2014).

### **1.2.1.3 Multiplicación y regeneración**

La multiplicación de las semillas se lleva a cabo cuando se necesita aumentar el tamaño de la entrada. Las normas para bancos de genes de RFAA recomiendan un tamaño mínimo de 1.500 semillas en las especies autógamas y 3.000 en las especie alógamas (FAO, 2014). En ocasiones, las muestras colectadas son inferiores por lo que es necesario multiplicar las semillas para llegar a la cantidad mínima recomendada. La regeneración se realiza cuando la viabilidad de la muestra disminuye por debajo del 85% o cuando se agotan las semillas a causa del frecuente uso de la entrada. Dado que en ambos casos existe riesgo de alteración genética se recomienda que el tamaño de la muestra que se multiplica o regenera sea suficiente como para representar la diversidad genética que existe en la entrada. Del mismo modo, el ambiente donde se realicen estas acciones debe ser lo más parecido posible al del lugar de colecta.

### **1.2.1.4 Documentación de las entradas**

La información que va asociada a los recursos fitogenéticos se divide en tres categorías: datos de pasaporte, datos de gestión y datos de caracterización/evaluación. Los datos de pasaporte constituyen la información básica para el manejo general de las entradas y recogen todos aquellos aspectos que rodean al material en su lugar de colecta, como son la ubicación (coordenadas geográficas y altitud), datos botánicos, usos, prácticas culturales y cualquier otra información que pueda ser de interés. Esta información puede resultar de mucha ayuda ya que el origen geográfico, ecológico o la información asociada al conocimiento popular pueden aportar pistas sobre la existencia de resistencias o adaptaciones específicas. Para recopilar toda esta información las normas para bancos de RFAA recomiendan el uso de formularios especialmente diseñados para este fin (FAO, 2014). En este aspecto, *Bioversity Internacional* juntamente con la FAO han elaborado una lista de descriptores de pasaporte para múltiples cultivos con el objetivo de estandarizar y facilitar el intercambio de información (Alercia *et al.*, 2012).

Los datos de gestión comprenden la información generada a lo largo de los procesos de conservación, regeneración y multiplicación, incluye el número de veces que el material se ha multiplicado, la temperatura de almacenamiento o las solicitudes de cada entrada.

La caracterización tiene como principal objetivo la identificación de las entradas y permite una discriminación fácil y rápida de éstas. Hasta ahora, se han empleado habitualmente caracteres altamente heredables, que se detectan fácilmente mediante la vista y que se expresan igual en todos

los ambientes (Rao *et al.*, 2007). Algunos ejemplos son el color de las flores o la forma de la semilla.

La evaluación se encarga de determinar caracteres que en su mayoría están influenciados por el ambiente como son los caracteres de interés agronómico, resistencias a estreses bióticos o abióticos y los caracteres bioquímicos y citológicos. Esta parte no siempre es responsabilidad de los bancos de germoplasma, aunque una buena evaluación aumenta la utilidad de las colecciones. La caracterización y evaluación nunca se dan por terminadas pues constantemente surgen nuevas necesidades que requieren de la descripción continua del material.

Respecto a la toma de datos un aspecto muy importante es su estandarización. De esta forma se facilita el intercambio y la comparación entre los materiales de diferentes bancos. Definimos como descriptor cada rasgo, característica o atributo identificable y medible observado en una accesión que se utiliza para facilitar la clasificación, el almacenamiento, la recuperación y el uso de datos (FAO, 2014). *Bioversity Internacional* coordina la publicación de listas de descriptores que son elaboradas por expertos y recogen los caracteres más discriminantes para cada variedad. Estas listas están disponibles en la web de *Bioversity Internacional*<sup>5</sup>. Existen otras entidades que también han elaborado listas de descriptores como son la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV) o el *National Plant Germplasm System* (NPGS).

La caracterización y evaluación del germoplasma vegetal se puede abordar desde múltiples puntos de vista. Sin embargo las listas de descriptores están basadas fundamentalmente en caracteres morfológicos, fisiológicos y agronómicos. En ocasiones, estos descriptores pueden resultar generalistas e insuficientes. Por este motivo es habitual que cada entidad los adapte a sus necesidades y cree sus propias listas de descriptores. De esta forma consiguen una descripción más amplia y acotada a sus materiales. El problema surge cuando la descripción se aleja mucho de los estándares establecidos y complica la comparación entre materiales de diferentes bancos.

En los últimos años y gracias a los avances de la tecnología, los marcadores moleculares están siendo cada vez más utilizados en la caracterización de los materiales en los bancos de germoplasma. Tanto es así, que el IPGRI publicó en 2004 *The List of Descriptors for Genetic Markers Technologies*, cuyo objetivo fue crear unos estándares para la descripción mediante marcadores genéticos (entendiendo como tales a los marcadores moleculares) que permitieran el intercambio de información (De Vicente *et al.*, 2004). Algunos de los marcadores más utilizados son: RADP (*Random Amplified Polymorphic DNA*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), los microsatélites también denominados SSR (*Simple Sequence Repeats*) y SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms*). Estos marcadores permiten la identificación y exploración de la variabilidad dentro de las entradas y el establecimiento de relaciones genéticas entre ellas

---

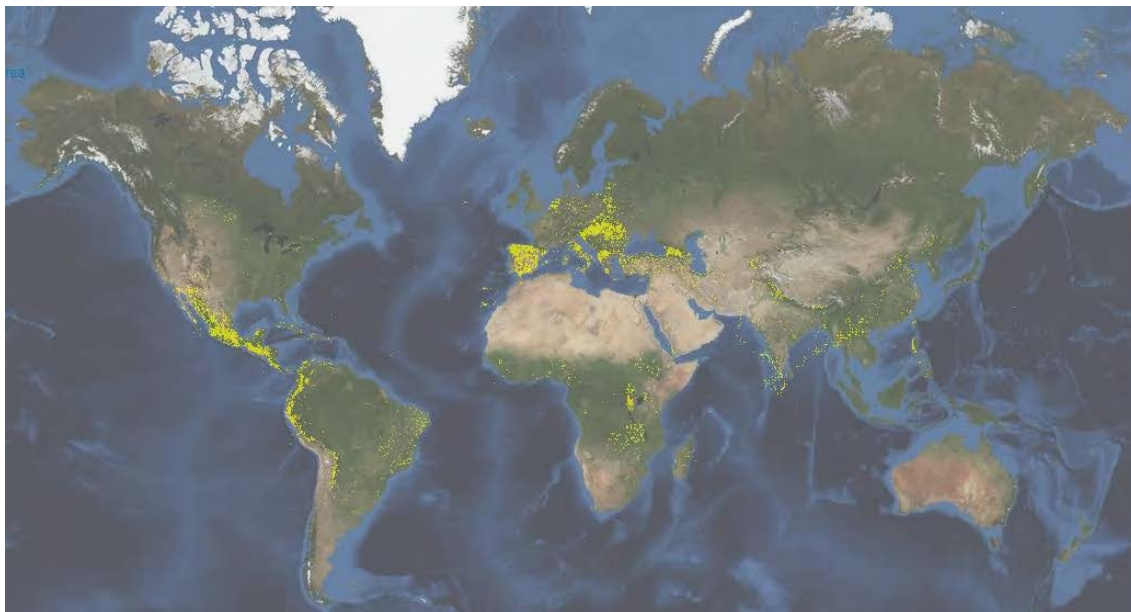
<sup>5</sup><https://www.bioversityinternational.org/e-library/publications/categories/descriptors/>

(relaciones taxonómicas). Además facilitan la detección de duplicados o errores en el etiquetaje, y la evaluación de la erosión genética. Sin embargo el uso de esta tecnología no está al alcance de todos debido, entre otras causas, a la falta de medios materiales y humanos.

#### **1.2.1.5 Acceso a la información**

Un aspecto no menos relevante es la difusión de la información recopilada por los bancos, imprescindible para fomentar el uso de los recursos fitogenéticos conservados. En la actualidad, algunos bancos de germoplasma disponen toda o casi toda la información acerca del material que conservan en su página web (en ocasiones ésta, incluso permite realizar búsquedas dirigidas). Algunos ejemplos los encontramos en la webs del CIAT y del AVRDC. Pero no todos los bancos publican sus datos. Además este tipo de información está fragmentada, lo que dificulta la comparación de la información de diferentes bancos.

En un esfuerzo por centralizar la información y facilitar su difusión e intercambio, algunas instituciones o redes internacionales implicadas en la conservación, han desarrollado bases de datos públicas que se pueden consultar por internet. Una de las bases más completas a nivel mundial es el WIEWS (*World Information and Early Warning System of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture*) creada por la FAO. Recoge información diversa relacionada con los recursos fitogenéticos y permite hacer búsquedas dirigidas. GENESYS es otro portal global de información sobre recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura creado por *Biodiversity Internacional*. Este recopila la información sobre datos de pasaporte (Figura 1), caracterización y evaluación de entradas que está publicada a su vez en otras bases de datos de bancos o instituciones de conservación. Algunas de estas bases de datos son: CGIAR *International Genebanks*, EURISCO (contiene información de pasaporte de todas las entradas almacenadas en instituciones europeas), GRIN (*The Germplasm Resources Information Network*, base de datos muy completa que recoge la información de todos los bancos de germoplasma de EUA) y COGENT (*International Coconut Genetic Resources Network*), también incluye información de multitud de bancos nacionales. En la actualidad GENESYS contiene información de 2.773.294 accesiones que pertenecen a 446 instituciones de 252 países, lo que supone casi un tercio del total de las entradas conservadas en bancos de germoplasma. El mayor problema de este tipo de bases de datos tan grandes es la falta de actualización debido al gran volumen de información que manejan. Sin embargo resultan muy útiles para saber dónde se localizan las colecciones de los diversos cultivos.



**Figura 1.** En amarillo se representa el lugar de colecta de las 109.662 entradas del género *Phaseolus* incluidas en la base de datos GENESYS. Fuente: Base de datos GENESYS. (Consultado 28/06/2015).

### 1.2.2 Principales bancos de germoplasma en el mundo

Como se ha comentado en el apartado anterior, en 2010 en el mundo existían más de 1.750 bancos de germoplasma y conservaban 7,4 millones de entradas, lo que supone 1,4 millones más que lo publicado en el primer informe sobre el estado de los RFAA. Los bancos de semillas están repartidos por todo el mundo pero su distribución no es equitativa, África es el continente con menor número de entradas conservadas (tan solo un 5% de las entradas conservadas a nivel mundial), mientras que Asia es la región con mayor cantidad de entradas conservadas (35%) (FAO, 2010).

Después del SGSV, el banco que conserva mayor número de entradas es el NPGS (incluye los principales bancos de germoplasma de EUA). En la actualidad esta entidad conserva 571.711 entradas, que corresponden a 3.764 géneros y 17.633 especies. Le siguen el *Institute of Crop Germoplasm Resources* en China, el *National Bureau of Plant Genetic Resources* en India y el *N.I. Vavilov Research Institute of Plant Industry* (VIR) en Rusia. Cada uno de ellos conserva más de 320.000 entradas (FAO, 2010).

El número de accesiones conservadas varía según la especie. El 45% de las entradas almacenadas a nivel mundial son cereales, seguidos de las legumbres (15%), los forrajes (9%), las hortalizas (7%) y el grupo formado por las frutas, frutos secos y bayas (6%). Por debajo quedan cultivos de raíces y tubérculos, oleaginosas, etc. Si bien para algunos de los principales cultivos como el arroz y el trigo los bancos de germoplasma conservan una buena representación genética, para otros cultivos presentan importantes déficits. Por otro lado, mientras los cultivos principales están bien duplicados

(incluso en exceso), otras colecciones importantes, están conservadas de manera inadecuada y, por lo tanto, en posible riesgo de desaparición (FAO, 2010).

Respecto al tipo de materiales conservado a nivel mundial, el 44% corresponde a variedades tradicionales, el 21% a materiales de investigación y mejora, el 18% a especies silvestres y por último, el 17% corresponde a cultivares avanzados. A su vez, dentro de cada cultivo el tipo de materiales que se conserva también varía. Las leguminosas para alimentación son las que tienen mayor representación de variedades tradicionales en los bancos (el 32% de las leguminosas para alimento que se conservan son variedades tradicionales) seguido de las raíces y tubérculos (30%) y los cereales (29%). Por el contrario, el porcentaje de especies silvestres conservadas para los tres tipos de cultivos no supera el 10%. Los grupos de cultivos con mayor porcentaje de especies silvestres conservadas son las plantas industriales y decorativas (46%) y las forrajeras (35%) (FAO, 2010).

### **1.2.3 Grado de documentación y utilización de los recursos fitogenéticos conservados en los bancos de germoplasma**

Plucknett y colaboradores (1987) reportaron que alrededor del 65% de las colecciones conservadas en los bancos de germoplasma a nivel mundial no contaban con datos de pasaporte y entre el 80 y 95% de éstas tampoco disponían de datos de caracterización o evaluación. No existen muchos datos globales actualizados acerca del nivel de caracterización de las entradas conservadas en los bancos de germoplasma. Sin embargo, sabemos que en los últimos años se ha llevado a cabo una importante labor de documentación de las muestras, principalmente en los centros internacionales, por lo que en la actualidad, la situación no es tan crítica. Aun así, la caracterización y la evaluación de muchas colecciones sigue siendo inadecuada e incompleta (Weidong *et al.*, 2000; FAO, 2010; Nass *et al.*, 2012; Galluzzi y López Noriega, 2014).

Tal y como ocurre con la conservación de las entradas, los cultivos más importantes son los que han sido más estudiados y, por tanto, son los que cuentan con una caracterización más extensa. Un estudio realizado a partir de los datos procedentes de 11 colecciones conservadas en los centros GCIAR y AVRDC indicó que el 73% de las entradas conservadas estaban caracterizadas. Por grupos de cultivos, los cereales, seguidos de las leguminosas de grano son los que presentaron valores más elevados de caracterización, 88% y 78% respectivamente. (FAO, 2010).

La caracterización y evaluación de las entradas no es equitativa para todos los aspectos. Los datos recopilados en 319.528 entradas pertenecientes a 40 países entre 2004 y 2008 mostraron que la descripción principal era para los caracteres morfológicos (64%) seguida de la evaluación agronómica (51%), factores bióticos (22%) y por último la evaluación bioquímica y factores abióticos (14%). Estos porcentajes variaron en función del cultivo. Datos similares fueron



reportados por un estudio realizado a partir de los datos recopilados en 912 colecciones conservadas *ex situ* pertenecientes a 42 países (FAO, 2010).

El término "utilización" tiene dos connotaciones: por un lado, la utilización directa por parte de los agricultores en los sistemas de producción agrícola como sistemas de cultivo, pastizales, bosques y otras zonas de recursos explotados. Y por otro lado, la utilización en una fase intermedia, por ejemplo por parte de los fitomejoradores y otros investigadores (FAO, 1996). En general no se dispone de datos sobre el número de muestras mantenidas en los bancos de germoplasma que se han utilizado en programas de mejoramiento o han contribuido a las variedades mejoradas (FAO, 1996). Sin embargo, una forma de valorar en qué medida los recursos fitogenéticos son utilizados, es analizar la distribución de los materiales por parte de los bancos de germoplasma a quien van dirigidos y el uso que se hace del germoplasma intercambiado.

El Instituto de Germoplasma Vegetal de la Academia China de Ciencias Agrícolas y el IPGRI estudiaron conjuntamente el uso y la distribución de accesiones de 10 cultivos (arroz, trigo, soja (*Glycine max* L.), maíz, algodón (*Gossypium* spp.), naranja (*Citrus sinensis* L.), té (*Camellia sinensis* L.), mora (*Morus* spp.), col y pepino (*Cucumis sativus* L.)) durante 15 años (1984-1998), conservados en bancos de germoplasma nacionales de China. Los resultados mostraron que un total de 184.743 accesiones fueron distribuidas a 8.635 instituciones relacionadas con la mejora de cultivos, investigación básica, producción, etc. La mayor parte del material correspondió a cultivares mejorados (38,8%), seguido de líneas de mejora (32,5%), variedades tradicionales (22,4%), parientes silvestres (4,1%) y stock genético (2,2%). Este mismo estudio indicó que el uso del germoplasma puede dividirse en cinco áreas: evaluación, mejora, investigación básica, otros usos (incluye uso directo) y no uso. El 21% del material distribuido fue usado para la evaluación de los RF, el 9% para investigación básica, el 8,1% fue utilizado en mejora, el 2% para otros usos y el 59% de los materiales no fueron utilizados para nada, más allá de la mera conservación (Weidong *et al.*, 2000).

Entre los años 1990 y 1999 más de 600.000 muestras pertenecientes a los 10 cultivos económicamente más importantes en América fueron suministradas por los bancos de germoplasma de EUA (Rubenstein *et al.*, 2006). Respecto al tipo de materiales distribuidos, el 47% correspondieron a cultivares mejorados, el 19% a variedades tradicionales, el 12% a líneas de mejora y el 10% a parientes silvestres de las plantas domesticadas. La mayor parte del germoplasma suministrado se utilizó principalmente para la búsqueda de resistencias a estreses bióticos y, en menor medida para resistencias a estreses abióticos y calidad. En este trabajo también se puso de manifiesto la creciente utilización de los RF por parte de los países en desarrollo así como una tendencia al alza en el uso de los RF en general. Según estimaciones realizadas por el GRIN, el 20% de las entradas suministradas resultaron de utilidad para los fines solicitados.

Los dos últimos trabajos citados, reflejan que, el porcentaje de muestras silvestres distribuidas es escaso (Weidong *et al.*, 2000; Rubenstein *et al.*, 2006). Este hecho, es debido a la dificultad que representa trabajar con estos materiales en los programas de mejora. Ya no por la dificultad de hibridación con las variedades domesticadas sino por su escaso valor agronómico y las características desfavorables que poseen. Todo esto obliga a realizar largos procesos de mejora tras los cruzamientos iniciales. Por ello, y a pesar del potencial que presentan algunas variedades silvestres, por ejemplo, en lo referente al contenido de genes de resistencias, los fitomejoradores prefieren trabajar con materiales domesticados.

Según datos de los centros del GCIAR y el AVRDC entre los años 1996 y 2007 se distribuyeron más de 1,1 millones de muestras, alrededor de unas 100.000 al año. En general esta distribución se ha mantenido estable desde 1993 (FAO, 2010). Desde su creación en 1973 hasta marzo de 2013, el AVRDC distribuyó alrededor de 590.000 muestras de semillas (253.363 entradas) a investigadores y mejoradores de 200 países (Schreinemachers *et al.*, 2014).

Todos estos datos ponen de manifiesto que la utilización de los materiales conservados en los bancos de germoplasma ha aumentado en los últimos años. Sin embargo, queda una gran labor por realizar, y para que se mantenga la tendencia, es necesario seguir trabajando en la descripción de las entradas conservadas *ex situ*. Así como en otros aspectos que también han sido indicados como limitantes del uso de los recursos fitogenéticos: escasa coordinación de las políticas a nivel nacional e internacional para el intercambio de semillas, conexiones deficientes entre el banco de germoplasma y los usuarios de su material, dificultad de acceso a la información por parte de los usuarios, falta de adaptabilidad de las entradas conservadas, baja calidad de las semillas y número insuficiente de las semillas suministradas (Weidong *et al.*, 2000; Nass *et al.*, 2012; Galluzzi y López Noriega, 2014).

### **1.3 *Phaseolus vulgaris* L.**

#### **1.3.1 Origen y domesticación**

Las judías (*Phaseolus vulgaris* L.) se originaron en el continente Americano, concretamente en la zona mesoamericana (comprendida entre el norte de México y América Central) (Bitocchi *et al.*, 2012) y su domesticación tuvo lugar de forma independiente en la zona mesoamericana y en la zona andina (noroeste de Argentina, Perú, Chile y Ecuador), lo que dio lugar a dos *pools* genéticos bien diferenciados que han sido ampliamente documentados. Se ha demostrado que los materiales de ambos grupos difieren en aspectos morfológicos (Gepts y Debouck, 1991; Singh *et al.*, 1991b) agronómicos (Singh *et al.*, 1991b), el contenido en faseolinas (proteína principal de reserva, Gepts *et al.*, 1986), alozimas (Koenig y Gepts, 1989) y numerosos marcadores moleculares: RFLPs (*Restriction Fragment Length Polymorphism*, Becerra-Velásquez y Gepts, 1994), RAPDs (Freyre *et*

*al.*, 1996), AFLPs (Papa y Gepts, 2003; Rossi *et al.*, 2009), SSRs (Kwak y Gepts, 2009) y cpSSRs (*Chloroplast Simple Sequence Repeats*, Angioi *et al.*, 2011). La reciente secuenciación del genoma de *Phaseolus vulgaris* L. ha permitido confirmar que la domesticación de las judías ocurrió de forma independiente en las zonas andina y mesoamericana (Schmutz *et al.*, 2014). También ha permitido constatar que la población silvestre andina se originó a partir de tan solo unos miles de individuos procedentes de la población silvestre mesoamericana (Figura 2), lo que produjo un gran cuello de botella en la formación de la población andina.



**Figura 2.** La población de judía común silvestre presente en los Andes derivó de la población mesoamericana a través, como mínimo, de dos migraciones independientes (Bittochi *et al.*, 2012). Estos hechos condujeron a dos eventos de domesticación paralelos en las zonas mesoamericana y andina. Reproducido con el permiso de Macmillan Publishers Ltd: [Nature Genetics, n° licencia 3700920661139], (Gaut, B.S., 2014. The complex domestication history of the common bean. *Nat. Genet.* 46, 663–4), copyright (2014).

Las judías de origen mesoamericano se caracterizan por tener semillas pequeñas o medianas y faseolinas S o B, mientras que las judías de origen andino tienen semillas más grandes y presentan las faseolinas T, C, H y A (Gepts *et al.*, 1986; Singh *et al.*, 1991c). El uso combinado de marcadores morfológicos y moleculares, la adaptación ecológica y la distribución geográfica, permitieron establecer agrupaciones de germoplasma y definir razas con características distintivas dentro de cada uno de los centros de origen. Dentro del grupo mesoamericano se definieron cuatro razas (Durango, Jalisco, Mesoamérica y Guatemala), y dentro del grupo andino tres (Chile, Nueva Granada y Perú) (Singh *et al.*, 1991a; Beebe *et al.*, 2000; Beebe *et al.*, 2001). Sin embargo, el origen de estas es controvertido. No está claro si las diferentes razas son el resultado de múltiples domesticaciones independientes ocurridas en cada región o, por el contrario, son el resultado de un solo proceso de domesticación en cada región, seguido de una diversificación. Diferentes autores han abordado el tema indicando tanto un único proceso de domesticación en el área mesoamericana (Gepts *et al.*, 1986; Papa y Gepts, 2003; Kwak y Gepts, 2009; Kwak *et al.*, 2009; Rossi *et al.*, 2009;

Nanni *et al.*, 2011) como múltiples procesos (Singh *et al.*, 1991a, b, c; Beebe *et al.*, 2000; Chacón *et al.*, 2005). Simple y múltiple domesticación también han sido reportadas para el grupo andino (Beebe *et al.*, 2001; Chacón *et al.*, 2005; Rossi *et al.*, 2009). Recientemente Bitocchi y colaboradores (2013) han aportado nuevas evidencias a favor de un único proceso de domesticación en la zona mesoamericana y un único proceso en la zona andina.

La población mesoamericana domesticada sufrió una importante reducción de la variabilidad respecto a las formas silvestres debido al efecto fundador (pocos individuos domesticados a partir de la población silvestre). Sin embargo, las variedades locales andinas que ya habían sufrido un cuello de botella previo a la domesticación, en este caso mostraron mayor variabilidad que las formas silvestres, probablemente debido a la hibridación con poblaciones mesoamericanas o nuevas mutaciones ocurridas en la zona andina (Schmutz *et al.*, 2014).

### **1.3.2 Dispersión y centros secundarios de diversidad**

El proceso de dispersión de la judía común por todo el mundo es muy complejo, ya que combina la introducción de germoplasma directamente desde los centros de domesticación con el intercambio entre diferentes países y continentes (Bellucci *et al.*, 2014). Diversos autores han estudiado esta dispersión mediante técnicas moleculares. Basándose en la variabilidad encontrada, se han descrito las siguientes zonas de diversificación secundaria de las judías: el Caribe (Durán *et al.*, 2005), Sudamérica (fuera del área que constituye el centro primario de diversificación, Maciel *et al.*, 2003), Brasil (Burle *et al.*, 2010), Europa (Santalla *et al.*, 2002; Sánchez *et al.*, 2007; Angioi *et al.*, 2010), África (Asfaw *et al.*, 2009; Blair *et al.*, 2010) y China (Zhang *et al.*, 2008).

Se cree que las judías fueron introducidas en Europa tras el viaje de Colón a América, por medio de comerciantes y marineros, tanto desde la zona andina (Berglund-Brücher y Brücher, 1976) como desde la zona mesoamericana (Ortwin-Sauer, 1966). En un principio se pensó que solo una ínfima parte de la variabilidad cultivada en América había sido trasladada a Europa. Sin embargo, estudios posteriores han demostrado que no fue así, y en realidad llegó más diversidad de la que se creía (Rodiño *et al.*, 2006; Logozzo *et al.*, 2007; Angioi *et al.*, 2010). Un reciente estudio realizado mediante nuSSRs (*Nuclear Simple Sequence Repeats*), cpSSRs, y marcadores nucleares en 345 entradas, concluye que sí se produjo un cuello de botella durante la introducción del germoplasma en Europa. Además esta reducción afectó cinco veces más al germoplasma de origen mesoamericano que al de origen andino. Sin embargo, el efecto se vio mitigado por la fuerte hibridación que se dio en Europa entre el germoplasma de ambos orígenes. El porcentaje de hibridación encontrado en la actualidad en las entradas europeas es de 40,2% mientras que en las entradas americanas es de 12,3% (Gioia *et al.*, 2013). Esta hibridación también se ha documentado en el resto de centros secundarios de diversificación, mostrando en todos los casos valores inferiores

a los reportados en Europa (Zhang *et al.*, 2008; Asfaw *et al.*, 2009; Blair *et al.*, 2010; Burle *et al.*, 2010).

La introducción en Europa fue una excepcional oportunidad evolutiva para las judías, dado que se produjo la diferenciación de gran cantidad de nuevas variedades adaptadas a diferentes ambientes. Además supuso la rotura de las barreras geográficas a la hibridación entre los materiales de los dos orígenes, dando lugar a nuevas e interesantes combinaciones de germoplasma. Todo esto, junto con la selección realizada por los agricultores, dio como resultados una gran diversidad de variedades de judía, muchas de las cuales aún se conservan en Europa hoy en día.

Estudios realizados mediante el análisis de faseolinas mostraron que en Europa había un mayor porcentaje de judías de origen andino (66-76%) que de origen mesoamericano (Gepts y Bliss, 1988; Logozzo *et al.*, 2007). Estos datos fueron confirmados más tarde por Angioi y colaboradores (2010), quienes a partir del estudio mediante CpSSRs y dos marcadores nucleares, reportaron que el 67% de los materiales presentes en Europa eran de origen andino. Otros estudios realizados a nivel regional obtuvieron resultados similares: Rodiño y colaboradores (2001) indicaron que el 76% de los cultivares portugueses eran de origen andino y Rodiño (2000) encontró resultados similares en el conjunto de la Península Ibérica. Sin embargo, Sánchez y colaboradores (2007) encontraron valores inferiores en Cataluña, indicando que tan solo el 60% de los cultivares de judía eran de origen andino.

Conocer el origen y la dispersión de los cultivos es de gran ayuda a la hora de programar campañas de colecta. Permite identificar las zonas donde encontrar mayor variabilidad, así como localizar los parientes silvestres de las plantas cultivadas (Rao y Hodgkin, 2002). Los estudios evolutivos de las especies cultivadas son cruciales para varias aplicaciones; de hecho, el conocimiento relacionado con el nivel y la estructura de la diversidad genética de las plantas cultivadas y sus parientes silvestres es el punto de partida de cualquier programa de mejora. Así, a partir de un estudio prospectivo, Bitocchi y colaboradores (2012) indicaron el potencial de explorar el material silvestre de origen mesoamericano no incluido en las variedades domesticadas, como fuente de variabilidad en los programas de mejora de judía cultivada.

### **1.3.3 Características nutricionales y sensoriales de la judía grano**

Las judías se pueden consumir de diversas formas en función de si se aprovecha el grano o la vaina. Los granos secos se consumen principalmente cocidos (judías secas o judías de grano), pero también se pueden consumir tostados (nuñas). Otra forma de consumir los granos es en estado inmaduro antes de que se deshidraten en la vaina (judías pochás). Las vainas se consumen cuando están tiernas, justo antes del momento en que empiezan a granar (judías verdes o judías tiernas). A

pesar de los múltiples usos que tienen las judías para el consumo humano, en esta tesis se considera únicamente la utilización de la judía de grano seco.

La judía común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa de consumo humano más importante del mundo (Broughton *et al.*, 2003), destacando por su alto contenido en proteínas y carbohidratos pero también en vitaminas y minerales (Tablas 2 y 3).

**Tabla 2.** Composición de los principales nutrientes en las judías secas. Expresado en g·kg<sup>-1</sup> de materia seca.

Proteína	Almidón	Amilosa	Fibra	Lípidos	Sacarosa
188 - 320	270 - 591	107 - 372	31 - 70	10 - 43	16 - 35

Fuente: (Salunkhe y Kadam, 1989; Pujolà *et al.*, 2007; USDA, 2015)

**Tabla 3.** Composición de los elementos minoritarios en las judías secas. Expresado en g·kg<sup>-1</sup> de materia seca.

Calcio	Fósforo	Hierro	Magnesio	Cobre	Sodio	Potasio	Zinc
0,70-2,60	3,52-6,56	0,03-0,09	1,38-2	0-0,01	0,04-1,21	1,32-19,46	0,02-0,07

Fuente: (Salunkhe y Kadam, 1989; Shellie-Dessert y Bliss, 1991; Oomah *et al.*, 2008; USDA, 2015)

Los hidratos de carbono son el mayor componente de las judías, representan entre un 50 y 60% de materia seca, el almidón es el carbohidrato mayoritario pero también presentan altos niveles de fibra dietética (Tabla 2). El contenido de proteína en las judías es 2 o 3 veces superior a los cereales (Siddiq y Uebersax, 2013). La mayor parte corresponde a faseolinas que son proteínas de almacenamiento (Bliss y Brown, 1983). Estas constituyen un importante determinante de la calidad nutricional, son ricas en lisina pero deficientes en aminoácidos azufrados. Los cereales, por el contrario, son ricos en aminoácidos azufrados y pobres en lisina, con lo que el consumo combinado de cereales y judías ha sido recomendado como una estrategia para combatir la desnutrición (Bressani, 1983; Batista *et al.*, 2011). Las judías son también una importante fuente de vitaminas y minerales (Welch *et al.*, 2000). Aunque en menor proporción, también contienen otros compuestos que tradicionalmente se han definido como antinutrientes por sus propiedades no deseadas (Abd El-Hady y Habiba, 2003). Entre ellos encontramos inhibidores de enzimas como la tripsina, lectinas, fitatos, polifenoles (principalmente taninos) y oligosacáridos como la rafinosa y la estaquiosa (Khattab y Arntfield, 2009). Sin embargo, se han encontrado propiedades beneficiosas para algunos de estos compuestos como es el caso de los compuestos fenólicos, a los que se les atribuyen propiedades antioxidantes y antimutagénicas debido a la capacidad que estos tienen para reducir la formación de radicales libres (Hayat *et al.*, 2014).

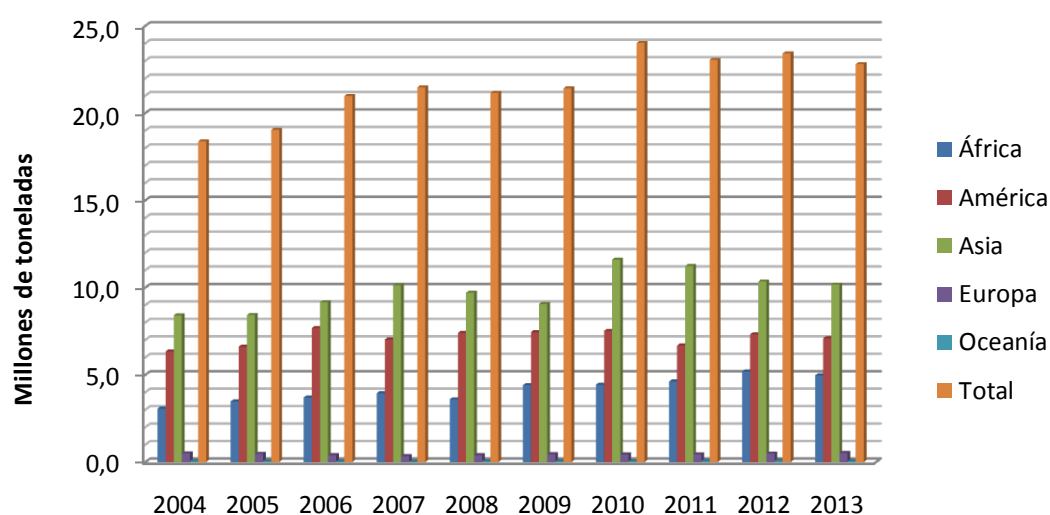
Todas estas características confieren a las judías la capacidad de protección ante algunas enfermedades, que están siendo ampliamente documentadas. Bouchenak y Lamri-Senhadjji (2013), elaboraron una recopilación bibliográfica detallada sobre como la calidad nutricional de las legumbres mejora la prevención de enfermedades cardiometabólicas. Hayat y colaboradores (2014), por su parte presentaron un resumen sobre el papel que ejerce el consumo de judías en la reducción

del riesgo a padecer enfermedades cardiovasculares, diabetes y cáncer. Recientemente Arnoldi y colaboradores (2015) han publicado un artículo en el que se discute una amplia revisión de literatura clínica y concluye que las legumbres pueden tener un rol importante en la prevención de la hipercolesterolemia e hipertensión.

La gran variabilidad descrita en las judías también se ve reflejada a nivel sensorial. Así pues diferentes combinaciones de tamaños, formas y colores se complementan con un amplio abanico de texturas, aromas y sabores que se ve incrementado aún más si tenemos en cuenta la componente cultural a la hora realizar las preparaciones culinarias.

### 1.3.4 Importancia económica, producción y consumo

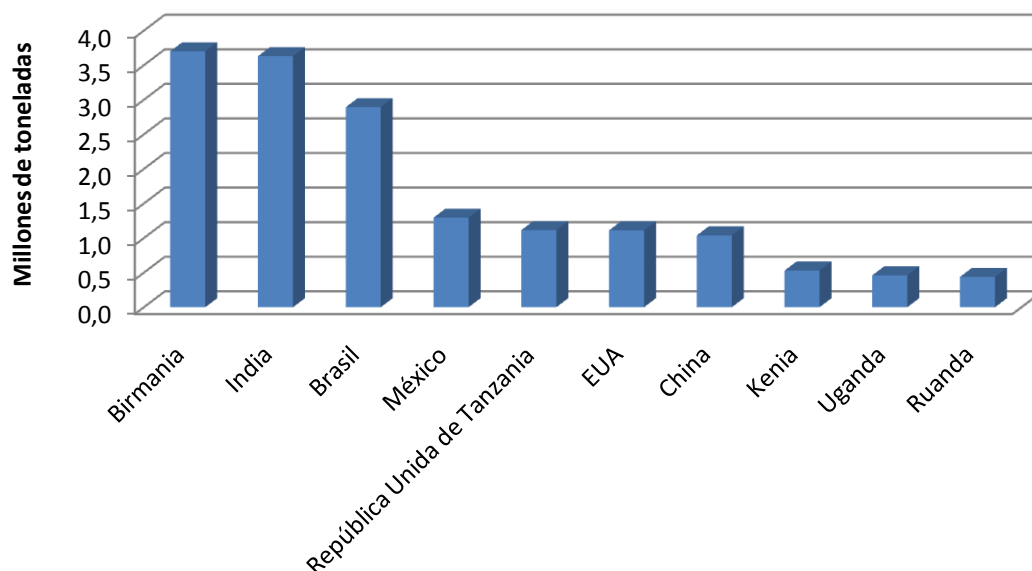
Según datos publicados por la FAO en los últimos 10 años, las judías secas<sup>6</sup> son la tercera leguminosa más producida en el mundo tras la soja y el cacahuete (*Arachis hypogaea* L.), pero la primera destinada al consumo humano tal y como se ha indicado anteriormente (Broughton *et al.*, 2003). Las judías se cultivan en todo el mundo excepto en la Antártida. En 2013 en el mundo se cultivaron 29 millones de hectáreas de judías secas, de las cuales se obtuvo una producción de 22,8 millones de toneladas (Figura 3) con un valor económico superior a los 11.000 millones de dólares. Desde los años 60 la producción de judías secas se ha duplicado, de igual modo que lo ha hecho la población mundial (FAOSTAT, 2015). Por continentes Asia es el principal productor de judías secas, seguido de América y África. La Figura 3 refleja la evolución de la producción por continentes junto con la producción total en los últimos 10 años.



**Figura 3.** Relación de la producción mundial de judías secas desglosada por continentes, entre los años 2004 y 2013. Fuente: Elaboración propia a partir de FAOSTAT (Consultado 24/04/2015).

<sup>6</sup>En las estadísticas publicadas por la FAO, el grupo judías secas comprenden datos referentes al género *Phaseolus* spp. en los que se incluyen las siguientes especies: *Ph. vulgaris*, *Ph. lunatus*, *Ph. angularis*, *Ph. mungo*, *Ph. aurens*, *Ph. coccineus*, *Ph. calcaratus*, *Ph. aconitifolius*, *Ph. acutifolius*.

Birmania es el principal productor de judía seca en el mundo (3,7 millones de toneladas) (Figura 4), seguido muy de cerca por la India (3,6 millones de toneladas). El tercer lugar lo ocupa Brasil (2,8 millones de toneladas). México, Tanzania, EUA y China tienen producciones de entre 1 y 1,4 millones de toneladas mientras que Kenia, Uganda y Ruanda tienen producciones inferiores, alrededor de 500.000 toneladas (Figura 4).



**Figura 4.** Los 10 principales países productores de judía seca en el mundo en el año 2013. Fuente: Elaboración propia a partir de FAOSTAT (Consultado 24/04/2015).

En España, según datos de la Secretaría General Técnica del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA), la superficie cultivada con leguminosas de grano en la campaña de comercialización 2014-2015 ha alcanzado las 275.000 hectáreas, con una producción estimada de 220 mil toneladas. De estas, tan solo un 6,1% corresponde a judías secas, que ocuparon una superficie cultivada de 7.700 hectáreas. El cultivo de judías secas se sitúa por detrás de las vezas (*Vicia sativa* L.) que representan el 34,2% de la producción total, yeros (*Vicia ervilia* (L.) Willd, 31,3%), garbanzos (*Cicer arietinum* L., 15,1%) y lentejas (*Lens culinaris* M., 13,4%). El valor estimado de la producción de leguminosas de grano en 2012, según datos del Anuario de Estadística del MAGRAMA fue de unos 74 millones de euros lo que constituye el 0,2% sobre la producción final de la rama agraria y el 0,3% sobre la producción final vegetal (MAGRAMA, 2015).

En Cataluña en el 2013, el cultivo de judías secas ocupó una superficie de 231 hectáreas, (principalmente en regadío) y alcanzó una producción de 328 toneladas, por detrás del guisante seco (814 toneladas), la veza (410 toneladas) y las habas secas (*Vicia faba* L., 336 toneladas). (Departament d'Agricultura Ramaderia i Pesca, Alimentació i Medi Natural de la Generalitat de Catalunya (DAAM), 2015).



Las destacadas características nutricionales de las judías descritas en el apartado anterior evidencian de algún modo las razones por las cuales las culturas mesoamericanas y andinas han basado su alimentación en este producto desde la antigüedad. De igual modo, son la razón por la cual en la actualidad las judías continúan siendo un alimento básico para una gran parte de la población mundial. El consumo de judías varía enormemente de unas zonas a otras del planeta. Mientras que en los países en vías de desarrollo las judías suponen la base diaria del aporte de proteínas de la población, en los países más industrializados la tendencia es el consumo por placer. Estas diferencias se ven reflejadas en los datos de consumo per cápita que publica cada año la FAO. Por regiones América Central y América del Sur es donde se consume mayor cantidad de judías secas (8,8-9,3kg/ persona y año), seguido de África (3,4kg) y Asia (1,6kg). El país donde se consume mayor cantidad de judías es Ruanda (27,1kg/ persona y año) seguido de Nicaragua (20kg). En otros países como Brasil, Cuba, El Salvador, Corea, Kenia o Costa Rica el consumo se encuentra en valores de entre 10 y 15kg por persona y año. En promedio, el consumo en América del Norte es de 2,8kg por persona y año mientras que en Europa es de tan solo 0,7kg. (FAOSTAT, 2015). En España, el consumo de judías secas es un poco superior a la media europea y alcanza 0,99kg por persona y año (Base de datos consumo de hogares, MAGRAMA, 2015).

### **1.3.5 Principales objetivos de la mejora genética en judía grano**

Debido al importante rol que ejercen las judías en la alimentación humana a nivel mundial, la mejora de esta especie ha sido y sigue siendo una preocupación constante (Singh, 2001). En los últimos años se han publicado diversos artículos que enumeran los objetivos de los principales programas de mejora desarrollados a nivel mundial y recopilan algunos de los logros obtenidos hasta el momento en el campo de la mejora de la judía común y de las leguminosas en general (Beaver y Osorno, 2009; Singh y Schwartz, 2010; Kelly y Cichy, 2013; Araújo *et al.*, 2015; Duc *et al.*, 2015; Rubiales *et al.*, 2015; Vaz Patto *et al.*, 2015).

El aumento del rendimiento ha sido tradicionalmente un objetivo universal en los programas de mejora. En la actualidad se trabaja además en la obtención de cultivos más estables y con mayor potencial nutritivo que puedan ofrecer una seguridad alimentaria en los países en vías de desarrollo. A continuación se presenta un resumen de la información más destacada extraída de los trabajos citados anteriormente. Desde el punto de vista de la mejora destinada a aumentar la resistencia de las judías, se trabaja en la resistencia frente a bacterias (tizón común bacteriano (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*) y grasa de la judía (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*) entre otras), virus (virus de mosaico común de judías (BCMV), virus del mosaico dorado de judías (BGMV), virus del mosaico amarillo dorado de judías (BGYMV) o el virus del encrespamiento de la remolacha (BCTV)) y hongos (podredura de la raíz (*Phyitium* spp.), roya (*Uromyces phaseoli*), moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*) y antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*)). Así como

en la resistencia a estreses abióticos producidos por la sequía, el aumento de temperatura debido al cambio climático o la acidez y baja fertilidad del suelo (déficit en fósforo y nitrógeno, toxicidad provocada por aluminio).

La mejora de la calidad nutricional estuvo inicialmente enfocada hacia el aumento de la concentración y la calidad de las proteínas (incremento de aminos sulfuradas), sin embargo, más recientemente, la biofortificación también ha sido incluida en los programas de mejora. Hasta la fecha la mayor parte del trabajo se ha centrado en el aumento de vitaminas y micronutrientes, como el Fe y Zn. Minerales deficientes en las dietas ricas en cereales y legumbres y pobres en proteína animal. En este aspecto también se está trabajando en la reducción de componentes antinutricionales y la disminución de la pérdida de nutrientes durante la preparación de las judías.

En el empeño por aumentar la calidad de las judías para satisfacer las preferencias de los consumidores, los caracteres sensoriales y culinarios también han pasado a formar parte de los programas de mejora. Desde el punto de vista de la calidad sensorial se trabaja en aspectos de textura, aroma y sabor. Mientras que, desde el punto de vista culinario la reducción del efecto hard-to-cook y del tiempo de cocción son algunos de los objetivos presentes en los programas en la actualidad. La vida frenética de los países más desarrollados deja poco tiempo para cocinar por lo que largos tiempos de cocción son un limitante para el consumo de judías. En los países con bajos recursos esta característica también es preferida dado que supone un menor gasto de combustible.

Otros aspectos en los que se está trabajando son: el aumento de la capacidad de fijación del nitrógeno para incrementar el potencial de fertilización de las judías, o la creación de variedades que faciliten el manejo en el campo, permitan el uso de maquinaria y reduzcan los costes de producción.

#### **1.4 LOS CARACTERES SENSORIALES Y CULINARIOS EN JUDÍAS SECAS, OBJETIVOS DIFÍCILES DE MEJORAR PARA MERCADOS EXIGENTES**

Se ha señalado que las judías son una fuente de primera magnitud en la alimentación mundial, sin embargo su consumo ha decaído en los países industrializados, debido principalmente a que ha sido sustituido por el consumo de carne. Esta situación no solo compromete la capacidad de los ecosistemas para sostener una enorme cantidad de cabezas de ganado, sino que también elimina de muchos de ellos las rotaciones con leguminosas y los beneficios que ello conlleva. Los organismos internacionales son conscientes de la situación, prueba de ello es que, por ejemplo, la nueva Política Agraria Comunitaria (PAC) 2014-2020 apoya la introducción de leguminosas en las rotaciones (Real Decreto 1075/2014). En los últimos años, el encarecimiento de los abonos nitrogenados junto con el aumento de superficie destinada a rotaciones y agricultura ecológica, han incrementado el interés de los agricultores por estos cultivos. Sin embargo, el aumento de la superficie de cultivo

destinado a las leguminosas y la reactivación de su comercio en Europa solo se producirá si aumenta su competitividad económica. Un factor clave en este aspecto es recuperar el interés de los ciudadanos por el consumo de legumbres. Dado el grado de bienestar y de nutrición más o menos equilibrada que suele darse en los países desarrollados, parece que una vía para ganarse el aprecio de los consumidores debe ser la excelencia en los atributos sensoriales y culinarios (Vaz Patto *et al.*, 2015). En esta línea las judías presentan un gran potencial.

### 1.4.1 Caracteres sensoriales y culinarios

No existe un consenso en la definición del análisis sensorial. *The Institute of Food and Technologist* lo define como: "método científico usado para evocar, medir, analizar e interpretar las respuestas a productos que se perciben a través de los sentidos de la vista, el olfato, el gusto, el tacto y el oído" (Stone y Sidel, 2004). Existen multitud de descriptores a través de los cuales definir el perfil sensorial de un producto. El libro "*Sensory Evaluation Techniques*" (Meilgaard *et al.*, 1999) los agrupa tal y como se refleja en la tabla 4.

**Tabla 4.** Clasificación de los atributos sensoriales en función de cómo son percibidos por los catadores.

Apariencia	Engloba aquellos caracteres que permiten hacer una descripción externa del producto: color, forma, tamaño y textura de la superficie
Aroma	Sensación que se detecta cuando los volátiles entran en la nariz y son percibidos por el sistema olfativo
Textura	Recoge los atributos que son percibidos por los sensores de la boca diferentes a los considerados en el siguiente punto. Se puede definir como la manifestación sensorial de la estructura y composición de un producto en función de su reacción al estrés (medido como propiedades mecánicas: dureza, firmeza, elasticidad, etc.), o al tacto (medido como partículas geométricas: granulado, arenoso, etc., o como propiedades de humedad)
Flavor	Combinación compleja de sensaciones olfativas, gustativas y trigeminales percibidas durante la degustación (ISO 5492, 2008)

Los caracteres culinarios engloban todas aquellas propiedades referentes a la preparación de las judías para ser consumidas, tales como la facilidad de preparación, el tiempo de cocción o la digestibilidad (Hosfield *et al.*, 1984).

### 1.4.2 Métodos de evaluación

El análisis sensorial de judías secas requiere de la preparación de las muestras mediante el remojo y la cocción de los granos. No existe un consenso sobre los caracteres que se deben evaluar en la descripción culinaria, ni la metodología que se debe seguir. Algunos autores diseñaron métodos para evaluar la calidad en judías que incluyen caracteres culinarios (Hulse *et al.*, 1977; Hosfield *et al.*, 1984; Guzmán-Maldonado *et al.*, 1995). Más recientemente, nuestro equipo ha elaborado un protocolo de cocción estandarizado basado en la metodología tradicional de cocción de las judías, el

cual fue creado a partir de la Norma UNE 87028 (1997) diseñada especialmente para el análisis sensorial de judías (Romero del Castillo *et al.*, 2012).

El análisis sensorial se realiza mediante un panel de catadores que necesita un entrenamiento previo. Existe una metodología general que regula el proceso de entrenamiento de los catadores (Meilgaard *et al.*, 1999; Lawless y Heymann, 2010), y también otros aspectos como las condiciones de la sala donde se realiza la cata o el modo en que deben servirse las muestras. Sin embargo, hay otros factores que son específicos en función del alimento que se pretende analizar como son la preparación de las muestras, el entrenamiento específico de los catadores, la ficha de cata que se utiliza en la prueba o la selección de los atributos que se deben analizar. Diversos autores han realizado trabajos sobre el análisis sensorial de judías (Hosfield *et al.*, 1984; Sanz y Atienza, 1999; Armelim *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2009). Romero del Castillo y colaboradores (2008) elaboraron también un protocolo de entrenamiento específico de un panel de cata para el análisis sensorial de judías. Este panel seleccionó como esenciales los caracteres de textura: rugosidad de la piel, percepción de la piel y harinosidad/cremosidad. En la actualidad nuestro grupo está trabajando en el desarrollo de descriptores para aroma y *flavor* en judías secas.

Esta metodología de análisis nos aporta mucha información, sin embargo, presenta una serie de inconvenientes. El registro de los caracteres puede convertirse en un proceso lento y laborioso y en ocasiones limitado por la escasez de la muestra que se pretende analizar. Además, en el análisis sensorial se requiere el trabajo de 10 catadores en cada sesión y un mínimo de dos sesiones por muestra. A su vez, en cada sesión tan solo se pueden evaluar 4 o 5 muestras, lo que encarece mucho este tipo de análisis. Estos factores suponen un fuerte limitante en la descripción de grandes colecciones y su uso queda relegado a pequeños grupos de muestras tal y como se ve reflejado en los trabajos que se exponen a continuación: Arvanitoyannis y colaboradores (2007) evaluaron 18 caracteres en 5 variedades de judía; Mkanda y colaboradores (2007) evaluaron 19 caracteres en 6 variedades diferentes; Mavromatis y colaboradores (2012) evaluaron 18 caracteres en 5 variedades de *Phaseolus vulgaris* L. y 5 variedades de *Phaseolus coccineus* L.

En los últimos años se han propuesto diversos métodos instrumentales alternativos más rápidos y económicos que necesitan menor cantidad de muestra y pueden sustituir a las metodologías antes mencionadas. Algunos ejemplos son: el olfatómetro, gustómetro, texturómetro, colorímetro, NIR (Near Infrared Reflectance)/NIT (Near Infrared Transmittance) y NMR (Nuclear Magnetic Resonance).

La espectrometría de reflectancia en el infrarrojo cercano ha sido ampliamente estudiada y aplicada para el análisis y control de calidad de diversos alimentos (Williams, 2001; Karoui y Debaerdemaeker, 2007; Shiroma y Rodriguez-Saona, 2009; Prieto *et al.*, 2009). Dicha técnica aprovecha la absorbancia de una muestra en diferentes frecuencias cuando ésta se expone a un haz

de radiación electromagnética de infrarrojo (Shermann, 1997). El espectro NIR resultante es fruto de las diversas interacciones entre la radiación y las diferentes moléculas presentes en la estructura de los tejidos de la muestra. Para obtener los valores de una variable determinada a partir del espectro NIR es necesario previamente crear un modelo donde se correlacione las variables espectrales con la variable de referencia.

Aunque en menor medida esta tecnología también se ha utilizado en el análisis sensorial de algunos productos como el café, el aceite, el té o las manzanas, entre otros (Mehinagic *et al.*, 2003; Esteban-Díez *et al.*, 2004; Inarejos-García *et al.*, 2013; Jiang y Chen, 2015). En judía, tan solo encontramos el trabajo realizado en nuestro equipo por Plans y colaboradores (2014), en el que se presentan modelos para la predicción de los siguientes caracteres sensoriales: cremosidad/harinosidad, *flavor*, aroma, rugosidad, brillo y percepción de la piel, a partir del registro de muestras de harina deshidratada y triturada de judía cocida.

El análisis NIR también se utiliza para medir los caracteres culinarios en judía, Mendoza y colaboradores (2014) han trabajado en la creación de modelos para cinco caracteres referentes a la calidad de las judías en conserva, a partir del registro de judías enteras. En la actualidad el equipo al que pertenezco está desarrollando modelos para el análisis de caracteres culinarios a partir del registro de semillas de judías enteras y crudas.

### **1.4.3 Importancia económica del valor sensorial**

En los inicios de la mejora de variedades hortícolas cuando se hablaba de calidad se hacía referencia principalmente al aspecto exterior del producto. Sin embargo, en la actualidad cuando nos referimos a la calidad, abarcamos además, caracteres nutricionales, sensoriales o culinarios. Los mejoradores son conscientes de ello y por este motivo, cada vez más, incluyen estos aspectos en el diseño de las nuevas variedades.

La descripción objetiva de las entradas mediante el análisis sensorial y culinario constituye una herramienta fundamental para los fitomejoradores, ya que les permite discriminar aquellas variedades que poseen un determinado atributo de las que no lo poseen, y de este modo avanzar en los programas de mejora. Pero además, esta descripción permite también demostrar la superioridad de algunas variedades de judías para uno o varios caracteres. Prueba de ello son las numerosas variedades tradicionales de judías con marcas de calidad que encontramos en el mercado (Casquero, 2012; Lioi y Piergiovanni, 2013). Estas variedades son muy apreciadas y valoradas por los consumidores, que están dispuestos a pagar precios superiores a cambio de productos que satisfagan sus expectativas. Así 1kg de Faba Asturiana IGP (Indicación Geográfica Protegida) puede alcanzar un valor en el mercado superior a los 12 euros y 1kg de *Mongeta* del Ganxet DOP (Denominación de Origen Protegida) entre 8 y 10 euros.

#### **1.4.4 Los recursos fitogenéticos históricos como fuente de variabilidad en los programas de mejora para el valor sensorial**

La domesticación de las judías es un proceso bien documentado en la bibliografía (Gepts y Debouck, 1991; Koinange *et al.*, 1996; Bitocchi *et al.*, 2012; Bitocchi *et al.*, 2013; Bellucci *et al.*, 2014; Schmutz *et al.*, 2014). Se ha descrito, por ejemplo, una disminución de la concentración de proteína asociada a este proceso (Sotelo *et al.*, 1995; Guzmán-Maldonado *et al.*, 2000), sin embargo, desconocemos el efecto que la domesticación tuvo sobre la calidad organoléptica. Parece razonable pensar que en el inicio de la domesticación la presión de selección estuvo dirigida hacia aquellos alimentos más productivos y nutritivos. Más tarde intervinieron otros factores como la resistencia frente a plagas pero también aspectos sensoriales. En las variedades tradicionales se encuentran por tanto, los genes que han sido seleccionados durante años por los agricultores también desde el punto de vista sensorial.

Las variedades locales que hoy en día aún se consumen suelen tener una elevada calidad sensorial. Esta característica les ha permitido la supervivencia frente a las nuevas variedades más productivas y resistentes, pero que no incluyen la calidad sensorial entre sus cualidades. De igual modo, muchas de las variedades tradicionales que se conservan en los bancos de germoplasma pueden tener elevado potencial sensorial. Seguramente no es el caso de todas, pero los materiales almacenados en los bancos de germoplasma significan un enorme acervo de combinaciones ya probadas que probablemente se ajusten a las demandas de grupos de consumidores.

#### **1.4.5 La evaluación sensorial y culinaria de las colecciones *ex situ* de judía**

A pesar de la repercusión de los caracteres sensoriales y culinarios y su aparente potencial en los programas de mejora, la información que encontramos al respecto es muy escasa. El grupo de investigación Fundació Miquel Agustí (FMA) de la Universidad Politècnica de Catalunya, antiguo EMVCO (Equipo de Mejora Vegetal para Características Organolépticas) al que pertenezco, trabaja en la mejora de las variedades tradicionales catalanas para características organolépticas desde 1992. Con la experiencia adquirida durante todos estos años la percepción de sus investigadores es que la información que existe referente a las características culinarias y sobre todo a las sensoriales es escasa. Este equipo realizó en 2010 una encuesta a 35 bancos y colecciones de germoplasma repartidos por todo el mundo (que incluían o no judías entre sus colecciones) para conocer en qué medida las entradas de los respectivos bancos estaban caracterizadas para caracteres de calidad (características diferentes a los datos de pasaporte, producción y resistencias). Aunque solo se obtuvo respuesta de 19 de ellos, se pudieron extraer las siguientes conclusiones: a pesar de que casi todos los bancos recogen algún tipo de caracterización de la calidad, ésta abarca solo un 5% de las muestras conservadas, la evaluación engloba muy pocos caracteres y en ocasiones el acceso a la información es complicado, debido entre otras causas a que la caracterización no siempre la realiza

el propio banco sino, entidades externas. Esta información puede regresar o no al banco de origen de las semillas (Romero del Castillo *et al.*, 2010). Otras veces la información se publica en informes, catálogos o revistas, que en muchas ocasiones tan solo muestran una parte de toda la descripción realizada.

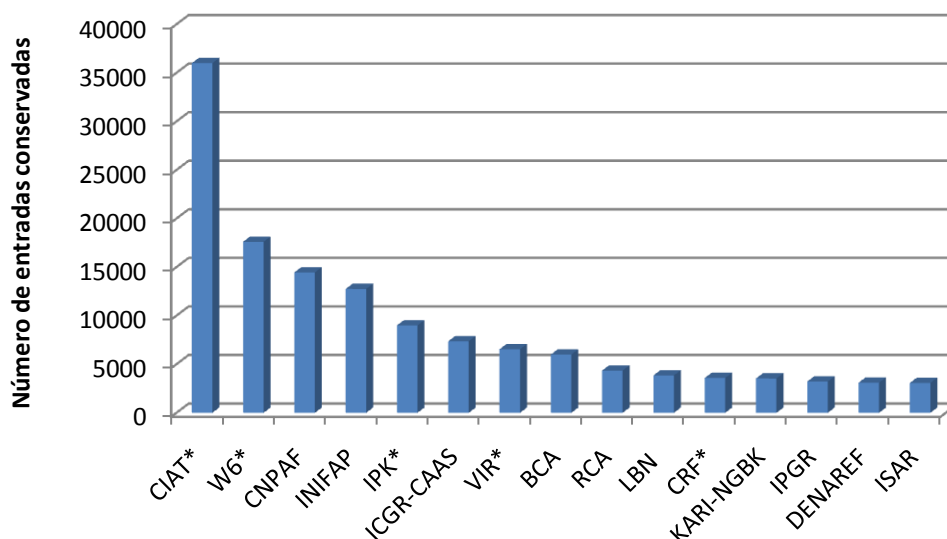
### **1.5 LOS RECURSOS FITOGENÉTICOS DE JUDÍA (*Phaseolus vulgaris* L.) CONSERVADOS EX SITU**

Según los datos publicados en el segundo informe del estado de los RFAA, el número total de entradas de *Phaseolus* spp. conservadas en todo el mundo en 2010 era de 261.936. De las cuales, el 39% pertenecían a razas nativas o cultivos antiguos, el 10% a cultivares avanzados, el 4% a materiales de investigación y el 2% correspondieron a especies silvestres, (el resto de entradas no fueron clasificadas). En el momento de redacción de esta tesis el número de entradas de judía conservadas a nivel mundial es de 266.277<sup>7</sup>. Los datos actualizados ponen de manifiesto el escaso número de entradas de judía que se han incluido en los bancos en los últimos 4 años. Otro aspecto que llama la atención, es que, aproximadamente el 50% de todas las entradas se conserva en tan solo 15 bancos de semillas (Figura 5) mientras que el 50% restante se conserva en otros 231 bancos.

El Banco que cuenta con mayor número de entradas de judías es el CIAT (Figura 5) que se encuentra en Colombia. Éste conserva más de 36.000 entradas del género *Phaseolus* correspondientes a 44 taxones, provenientes de 110 países, principalmente de México, Perú, Colombia y Guatemala pero también de Europa y África. De estas entradas, 32.375 pertenecen a la especie *P. vulgaris* L. En segundo lugar, se encuentra el banco de germoplasma *Western Regional Plant Introduction Station, Pullman, Washington* (Figura 5), en EUA, que conserva 17.313 entradas del género *Phaseolus* procedentes de 110 países. Estas, pertenecen a 57 especies diferentes, de las cuales, 13.403 son *P. vulgaris* L. En Europa los bancos de germoplasma que mayor número de entradas del género *Phaseolus* conservan son el *Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung* en Alemania, que conserva 9.001 y el VIR en Rusia con 6.547 entradas (Figura 5), de las cuales 6.394 son de la especie *P. vulgaris* L. Además de éstas, existen multitud de colecciones repartidas por todo el mundo. Una de ellas, resulta especialmente interesante, no por el tamaño sino por la amplia diversidad que representa. Se trata de la colección "*of wild Phaseoleae - Phaseolinae species*" conservada en el *National Botanic Garden of Meise*, de Bélgica. Contiene 2.075 entradas de 232 taxones de la tribu *Phaseoleae*. *Phaseolus* y *Vigna* son los géneros mejor representados, el primero cuenta con 41 especies (721 entradas) y el segundo con 72 especies (1.158 entradas).

---

<sup>7</sup>Datos estimados a partir de los valores publicados en las webs de los principales bancos de germoplasma de judías a nivel mundial.



**Figura 5.** Número de entradas del género *Phaseolus* conservadas en los 15 principales bancos de germoplasma a nivel mundial. CIAT, Centro Internacional de Agricultura Tropical (Colombia); W6, *Western Regional Plant Introduction Station, Pullman* (EUA); CNPAF, *Embrapa Arroz e Feijão* (Brasil); INIFAP, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (México); IPK, *Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung* (Alemania); ICGR-CAAS, *Institute of Crop Germplasm Resources, Chinese Academy of agricultural Sciences* (China); VIR, *N.I. Vavilov Research Institute of Plant Industry* (Rusia); BCA, *Bunda College of Agriculture* (Malawi); RCA, *Institute for Agrobotany* (Hungria); LBN, *National Biological Institute* (Indonesia); CRF, Centro de Recursos Fitogenéticos (España); KARI-NGBK, *National Genebank of Kenya, Crop Plant Genetic Resources Centre, Muguga* (Kenia); IPGR, *Institute for Plant Genetic Resources “K. Malkov”* (Bulgaria); DENAREF, Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos y Biotecnología (Ecuador); ISAR, *Institut des Sciences Agronomiques du Rwanda* (Ruanda). Fuente: Elaboración propia a partir de la información publicada en las webs los bancos identificados con un \*(Consultado 28/06/2015) y en el segundo informe del estado de los RFAA.

### 1.5.1 Documentación de las entradas

De igual modo que ocurre con el resto de especies, es difícil valorar en qué medida las entradas de judías conservadas *ex situ* están documentadas. La aparente sencillez que presenta el registro de los datos de pasaporte, podría conducirnos a pensar que todas las entradas almacenadas cuentan al menos con esta información. Sin embargo esto no es así, tal y como se puso de manifiesto en la quinta reunión del *European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources* celebrada en mayo de 2013. En ella el *Grain Legumes Working Group* expuso que de las más de 46.000 entradas del género *Phaseolus* que contiene la base de datos EURISCO, más de 6.000 son de origen desconocido (Maggioni *et al.*, 2013).

Un vistazo en las bases de datos de los principales bancos de germoplasma de judía (publicadas *on line*) puede darnos algunas pistas sobre el estado de documentación de esta especie. La web del CIAT ofrece información de caracterización y evaluación de las entradas que conserva. Además de los datos de pasaporte, presenta datos de hábito de crecimiento, caracteres de semilla (color, forma, peso de 100 semillas, etc.), resistencia al BCMV y al mosquito verde (*Empoasca spp.*). También



cuenta con datos de proteínas de reserva de las semillas. En la base de datos GRIN encontramos hasta 22 evaluaciones para enfermedades, además de datos morfológicos, fisiológicos, fotoperiodo, marcadores moleculares, etc. La base de datos GENESYS presenta datos para 29 caracteres morfológicos, 4 agronómicos y 17 caracteres referentes a enfermedades y plagas. Sin embargo, a pesar de los grandes avances que se han conseguido en la documentación de las judías, todavía queda mucho trabajo por realizar.

### **1.5.2 Uso de los recursos fitogenéticos de judía**

Existe muy poca información acerca de la utilización de los recursos fitogenéticos de judía. Recientes datos publicados en la web del CIAT, indican que entre los años 1973 y 2014 esta entidad distribuyó un total de 434.821 muestras. Entre los usuarios del material, un 72,5% corresponde al propio CIAT, el resto principalmente corresponde a programas nacionales (15,6%) y universidades (9,7%). Además de organizaciones regionales y compañías comerciales entre otros. Desde el establecimiento del CIAT en 1967 hasta el año 2000, los programas nacionales de investigación agrícola en 39 países distribuyeron 362 variedades de frijol, (238 en América Latina y 111 en África), desarrolladas a partir de germoplasma suministrado por el centro (Voysest, 2000).

## **1.6 LOS RECURSOS FITOGENÉTICOS DE JUDÍA CONSERVADOS *EX SITU* EN ESPAÑA Y LAS TAREAS DE RACIONALIZACIÓN DE SU CONSERVACIÓN Y USO**

### **1.6.1 La Red Española de Recursos Fitogenéticos y el Inventario Nacional**

Unos años más tarde de los pioneros trabajos de recolección de judías llevados a cabo por José Puerta Romero (1961), el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA) consciente de la situación de pérdida de la diversidad que se estaba dando en España, encargó al Instituto Nacional de Investigaciones agrarias (INIA) una serie de actividades encaminadas a preservar las variedades tradicionales. En 1981 se publicó la primera orden ministerial del MAPA sobre la Conservación y Utilización del Patrimonio Genético Vegetal cuyo objetivo era evitar la pérdida de especies y variedades vegetales. En 1993 en una segunda orden ministerial se creó el Programa de Conservación y Utilización de Recursos Fitogenéticos que tenía como principales objetivos: evitar la pérdida de la diversidad genética de las especies, variedades y ecotipos vegetales autóctonos y cultivables en desuso, susceptibles de ser empleados en la mejora de especies agroalimentarias, agroenergéticas, agroindustriales y ornamentales, además de evaluar y documentar ese material para que sea utilizable en la mejora genética. También se estableció que el Centro de Recursos Fitogenéticos (CRF) es el responsable del mantenimiento del Inventario Nacional y de la conservación de duplicados de las accesiones de la Red Española de Recursos Fitogenéticos (Orden

Ministerial de 23 de Abril de 1993). En la actualidad dicha red está integrada por 36 instituciones de toda España y coordinada por el CRF.

El Inventario Nacional está formado por los datos de pasaporte de las entradas conservadas en el CRF así como de las entradas conservadas en los diferentes centros que integran la Red Española de Recursos Fitogenéticos. Esta información se puede consultar en la web del CRF que también incluye información sobre datos de caracterización, estos varían en función de la especie. En la actualidad el Inventario Nacional cuenta con 5.668 entradas de la especie *Phaseolus vulgaris* L. Éstas provienen de colectas, donaciones o son duplicados de otras colecciones que existen en la Península Ibérica.

### **1.6.2 Red Española de Colecciones de Judía**

En España además del CRF existen otros centros de carácter local que también se han interesado por la prospección y el estudio de los RF de judía. Bien para su conservación o bien para incorporarlos en sus programas de mejora. Estos centros junto con el CRF forman la Red Española de Colecciones de Judía (Tabla 5), cuyo objetivo principal es contribuir a la conservación y caracterización de la diversidad genética de judías mediante el desarrollo de objetivos concretos: colaborar en la regeneración de la colección del CRF, multiplicar y conservar las colecciones activas y de trabajo incluidas dentro de esta red, duplicar las colecciones incluidas en la red y en la colección nacional del CRF, conocer el material para su utilización y racionalizar su conservación.

Esta red se puso en marcha en 1995 dentro de las convocatorias públicas para la realización de proyectos de recursos fitogenéticos. Desde entonces el INIA ha financiado numerosos proyectos con el objetivo general de recolectar, multiplicar y caracterizar variedades tradicionales de judía. Estos proyectos resultan piezas fundamentales en la conservación de los RF de judía en España y entre otros muchos, han financiado los trabajos que se presentan en esta tesis.

### **1.6.3 La Colección Nuclear de Judías Española**

En el año 2000 la colección activa del CRF contaba con 2.287 entradas de *Phaseolus vulgaris* L., todas ellas documentadas con los datos de pasaporte, caracteres morfológicos de semilla y en algunos casos también de planta y flor. Con el objetivo de racionalizar la colección de judías y fomentar su uso, se elaboró una colección nuclear. Brown (1989) define este concepto del siguiente modo: "En el caso de un banco de germoplasma, una colección nuclear consta de un número limitado de las accesiones de una colección, que se escogen para representar el espectro genético de dicha colección. Debe incluir el máximo número de diversidad genética presente en la colección completa".

**Tabla 5.** Instituciones que componen la Red Española de Colecciones de Judía, tipo de colección que conservan, ámbito geográfico en el que actúan y marco de actuación además de la conservación.

Institución	Tipo de colección	Ámbito geográfico de actuación	Marco de actuación
CRF	Activa/Base	Internacional	Coordinación
SERIDA	Activa	Cornisa Cantábrica	Evaluación, estudio de la herencia de caracteres de interés y mejora genética.
MBG-CSIC	De trabajo	Internacional	Evaluación, genética de la tolerancia a estrés bióticos y abióticos, mejora genética, biología del desarrollo (floración y fructificación).
ITACyL	De trabajo	Internacional	Caracterización y mejora genética
ULE	De trabajo	León	Caracterización
UPC-FMA	De trabajo	Cataluña	Evaluación y mejora genética
NEIKER	De trabajo	País Vasco	Caracterización
COMAV-UPV	Activa	Cuenca Mediterránea	-
CITA	Activa	Aragón	-
CCBAT	De trabajo	Tenerife	Caracterización

SERIDA, Servicio Regional de Investigaciones y Desarrollo Agroalimentario; MSG-CSIC, Misión Biológica de Galicia - Consejo Superior de Investigaciones Científicas; ITACyL, Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León; ULE, Escuela Superior y Técnica de Ingeniería Agraria, Universidad de León; UPC-FMA, Universidad Politécnica de Cataluña - Fundación Miquel Agustí; NEIKER, Instituto Vasco de Investigación y desarrollo Agrario; COMAV - UPV, Centro de Conservación y Mejora de la Agrobiodiversidad Valenciana - Universidad Politécnica de Valencia; CITA, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón; CCBAT, Centro de Conservación de la Biodiversidad Agrícola de Tenerife. Fuente: Adaptado de De la Rosa y colaboradores (2008).

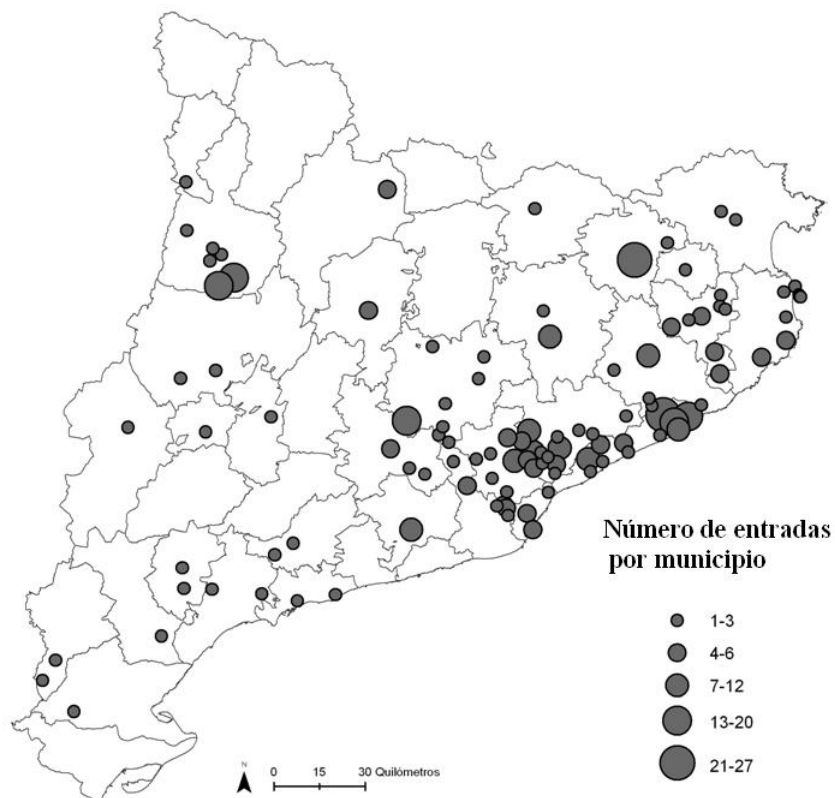
Inicialmente la Colección Nuclear de Judías Española, de ahora en adelante CN, se estableció basándose en los datos de pasaporte (provincia, localidad y altitud con respecto a nivel del mar) y el fenotipo de las semillas (color, forma y tamaño) (De la Rosa *et al.*, 2000). Posteriormente se afinó añadiendo características agronómicas y de fondo genético (Pérez-Vega *et al.*, 2009). Esta colección se modificó más tarde para incluir muestras de todas las regiones de España y en la actualidad cuenta con 202 entradas. Desde su creación ha sido ampliamente estudiada por el CRF y otras instituciones. La colección está documentada para caracteres agronómicos, morfológicos de vaina y semilla, faseolinas (Pérez-Vega *et al.*, 2009), resistencia a bacterias (*Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*) (Asensio *et al.*, 2010), antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*) (Pérez Vega *et al.*, 2006) y moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*) (Pascual *et al.*, 2010). Toda esta información es de acceso público y se puede consultar en la página web del CRF.

#### **1.6.4 La colección de judías de la Fundació Miquel Agustí en la Universidad Politécnica de Cataluña**

Los investigadores del equipo de la FMA, iniciaron sus trabajos con variedades tradicionales de judía a principios de los años 90. Conscientes de la pérdida de diversidad que se estaba produciendo

debido al abandono cada vez más frecuente del campo, decidieron iniciar la prospección de las variedades de judía que aún se conservaban. Durante diversas campañas de colecta recorrieron todas las comarcas de Cataluña, visitando mercados y tiendas locales así como también casas particulares de agricultores, cooperativas y asociaciones de productores. En las prospecciones junto con las semillas, se recogió información sobre el punto de colecta (Figura 6) e información etnobotánica relacionada con el uso de las plantas.

El número de entradas de *Phaseolus vulgaris* L. conservadas en la actualidad en el banco de germoplasma de la FMA-ESAB (Escuela Superior de Agricultura de Barcelona) es de 521. De ellas, 388 fueron prospectadas bajo el nombre de Ganxet, 17 correspondieron a la variedad Tavella Brisa/Santa Pau y el resto (116) a otras variedades tradicionales de judía.



**Figura 6.** Distribución geografía de las entradas de judía (*Phaseolus vulgaris* L.) conservadas en el banco de la FMA-ESAB.

Tal y como se ve reflejado en el mapa de colectas (Figura 6), las judías se cultivan prácticamente a lo largo del todo el territorio catalán, sin embargo se observa mayor incidencia en la zona nordeste, donde las condiciones edafológicas y climáticas favorecen el desarrollo de este cultivo.

## **1.7 EL ESTADO DE LA CUESTIÓN**

En los apartados anteriores se ha intentado poner de relieve la gran cantidad de entradas que existen almacenadas en los múltiples bancos de germoplasma de todo el mundo. Las tareas de recolección efectuadas hasta el momento han consumido considerables recursos económicos pero también es cierto que una parte de la inversión realizada se ha visto compensada con la obtención de nuevas variedades especialmente adaptadas a las condiciones de los países en vías de desarrollo.

En la actualidad un nuevo reto se abre ante nosotros: racionalizar las colecciones evitando duplicados no deseados y caracterizarlas para facilitar su uso por parte de los agricultores y mejoradores. Recolectar los materiales conlleva costes elevados, pero mucho más caro es caracterizar, evaluar, multiplicar y distribuir el material colectado. Todas estas tareas son complejas ya que requieren coordinación y también el fenotipado masivo de muchísimas entradas. Dicho fenotipado debe efectuarse además en condiciones que permitan buenas estimaciones del valor genotípico medio de las entradas. Esta labor se presenta especialmente complicada cuando los caracteres a fenotipar son difíciles de medir como es el caso del valor sensorial. Sin embargo, solo a partir de un conocimiento profundo de la variabilidad genética de la que disponemos, podremos identificar genotipos que se acerquen a los idiotipos demandados por agricultores y consumidores.

La tesis que se presenta, consta de cinco trabajos independientes, que intentan avanzar desde la racionalización de las colecciones hasta su evaluación para aquellos caracteres que deben ser objeto de mejora si queremos revalorizar el consumo de judía en los países desarrollados: el valor sensorial y el valor culinario. Los trabajos culminan con la obtención de una nueva variedad diseñada a partir de las demandas de productores y consumidores, y tomando como base de partida una variedad tradicional.

## **1.8 OBJETIVO GENERAL:**

El objetivo general de esta tesis es la racionalización de la colección de las variedades tradicionales catalanas de judía, su caracterización sensorial y culinaria junto con la colección nuclear de judías española, y la aplicación en un estudio genético y obtención de una nueva variedad como muestra del potencial que presentan las variedades tradicionales.

### **1.8.1 Objetivos concretos**

Para llevar a cabo este objetivo, la tesis se estructura en cuatro objetivos específicos que se desarrollan en cinco capítulos. Cada uno de los capítulos corresponde a un artículo, bien publicado o bien enviado para su publicación y en fase de revisión.

- 1) Agrupar de forma coherente las entradas de *Phaseolus vulgaris* L. recogidas en Cataluña mediante caracteres morfológicos, agronómicos y moleculares, para simplificar su conservación (capítulos 2 y 3).
- 2) Caracterizar los principales grupos de judías catalanas y la colección nuclear española de judía para atributos sensoriales y culinarios y determinar la variabilidad que representan. Explorar la relación que existe entre estos y otros caracteres de interés (capítulos 3 y 4).
- 3) Efectuar un análisis genético del carácter grado de curvatura de la semilla presente en la variedad tradicional Ganxet, para determinar su posible utilidad en la modificación de características sensoriales y químicas de la judía grano (capítulo 5).
- 4) Obtener una variedad mejorada genéticamente a partir de la variedad tradicional Tavella Brisa, para su uso en la DOP “*Fesols de Santa Pau*” (capítulo 6).

## 1.9 BIBLIOGRAFÍA

- Abd El-Hady, E., Habiba, R., 2003. Effect of soaking and extrusion conditions on antinutrients and protein digestibility of legume seeds. *LWT - Food Sci. Technol.* 36, 285–293.
- Alercia, A., Diulgheroff, S., Mackay, M., 2012. Multi-Crop Passport Descriptors V.2 FAO/Bioversity Internacional, Rome, Italy. Disponible en: <http://www.bioversityinternational.org/e-library/publications/detail/faobioversity-multi-crop-passport-descriptors-v2-mcpd-v2/>.
- Angioi, S.A., Rau, D., Attene, G., Nanni, L., Bellucci, E., Logozzo, G., Negri, V., Zeuli, P.L.S., Papa, R., 2010. Beans in Europe: Origin and structure of the European landraces of *Phaseolus vulgaris* L. *Theor. Appl. Genet.* 121, 829–843.
- Angioi, S.A., Rau, D., Nanni, L., Bellucci, E., Papa, R., Attene, G., 2011. The genetic make-up of the European landraces of the common bean. *Plant Genet. Resour.* 9, 197–201.
- Araújo, S.S., Beebe, S., Crespi, M., Delbreil, B., González, E.M., Gruber, V., Lejeune-henaut, I., Link, W., Monteros, M.J., Rao, I., Vadez, V., Patto, M.C.V., 2015. Abiotic stress responses in legumes: strategies used to cope with environmental challenges. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 237–280.
- Armelim, J., Canniatti-Brazaca, S.G., Spoto, M.H.F., Arthur, V., Piedade, S.M., 2006. Quantitative descriptive analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under gamma radiation. *Sens. Nutr. Qual. food* 71, 8–12.
- Arnoldi, A., Zanoni, C., Lammi, C., Boschini, G., 2015. The role of grain legumes in the prevention of hypercholesterolemia and hypertension. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 34, 144–168.
- Arvanitoyannis, I.S., Mavromatis, A., Rodiatis, A., Goulas, C., 2007. Physicochemical and sensory analysis of dry bean landraces in conjunction with multivariate analysis: an exploratory approach. *Int. J. Food Sci. Technol.* 42, 819–826.
- Asensio, C., Asensio S-Manzanera, M., Ibeas, A., De la Rosa, L., 2010. Resistance to halo blight common bacterial blight and bacterial brown spot in Spanish common bean core collection. *Annu. Report. Bean Improv. Coop.* 53, 101–111.
- Asfaw, A., Blair, M.W., Almekinders, C., 2009. Genetic diversity and population structure of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces from the East African highlands. *Theor. Appl. Genet.* 120, 1–12.
- Base de datos de consumo de hogares (MAGRAMA). Disponible en : <http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/panel-de-consumo-alimentario/base-de-datos-de-consumo-en-hogares/consulta11.asp>. (Último acceso 15/05/2015).
- Batista, K. A., Prudêncio, S.H., Fernandes, K.F., 2011. Wheat bread enrichment with hard-to-cook bean extruded flours: nutritional and acceptance evaluation. *J. Food Sci.* 76, 108–113.

- Beaver, J.S., Osorno, J.M., 2009. Achievements and limitations of contemporary common bean breeding using conventional and molecular approaches. *Euphytica* 168, 145–175.
- Becerra-Velásquez, V.L., Gepts, P., 1994. RFLP diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris*) in its centres of origin. *Genome* 37, 256–263.
- Beebe, S., Rengifo, J., Gaitan, E., Duque, M.C., Tohme, J., 2001. Diversity and origin of andean landraces of common bean. *Crop Sci.* 41, 854–862.
- Beebe, S., Skroch, P.W., Tohme, J., Duque, M.C., Pedraza, F., Nienhuis, J., 2000. Structure of genetic diversity among common bean landraces of middle american origin based on correspondence analysis of RAPD. *Crop Sci.* 40, 264–273.
- Bellucci, E., Bitocchi, E., Rau, D., Rodriguez, M., Biagetti, E., Giardini, A., Attene, G., Nanni, L., Papa, R., 2014. Genomics of Plant Genetic Resources, in: Tuberosa, R., Graner, A., Frison, E. (Eds.), *Genomics of Plant Genetic Resources. Volume 1. Managing, Sequencing and Mining Genetic Resources*. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Berglund-Brücher, O., Brücher, H., 1976. The south american wild bean (*Phaseolus aborigineus* Burk.) as ancestor of the common bean. *Econ. Bot.* 30, 257–272.
- Bitocchi, E., Bellucci, E., Giardini, A., Rau, D., Rodriguez, M., Biagetti, E., Santilocchi, R., Spagnoletti Zeuli, P., Gioia, T., Logozzo, G., Attene, G., Nanni, L., Papa, R., 2013. Molecular analysis of the parallel domestication of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Mesoamerica and the Andes. *New Phytol.* 197, 300–13.
- Bitocchi, E., Nanni, L., Bellucci, E., Rossi, M., Giardini, A., Zeuli, P.S., Logozzo, G., Stougaard, J., McClean, P., Attene, G., Papa, R., 2012. Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 788–796.
- Blair, M.W., González, L.F., Kimani, P.M., Butare, L., 2010. Genetic diversity, inter-gene pool introgression and nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) from Central Africa. *Theor. Appl. Genet.* 121, 237–248.
- Bliss, F.A., Brown, J.W.S., 1983. Breeding common bean for improved quantity and quality of seed protein. *Plant Breed. Rev.* 59–102.
- Bouchenak, M., Lamri-Senhadji, M., 2013. Nutritional quality of legumes, and their role in cardiometabolic risk prevention: a review. *J. Med. Food* 16, 1–14.
- Bressani, R., 1983. Research needs to up-grade the nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Foods Hum. Nutr.* 32, 101–110.
- Broughton, W.J., Hernández, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., Vanderleyden, J., 2003. Beans (*Phaseolus* spp.) - model food legumes. *Plant Soil.* 1, 55–128.
- Brown, A.H.D., 1989. The case for core collections, in: Brown, A.H.D., Frankel, O.H., Marshall, D.R., Williams, J.T. (Eds.), *The Use of Plant Genetic Resources*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 136–156.



- Brown, A.H.D., Hardner, C.M., 2000. Sampling the gene pools of forest trees for ex situ conservation, in: Young, A., Boshier, D., Boyle, T. (Eds.), *Forest Conservation Genetics. Principles and Practice*. CABI Publishing, Wallingford (United Kingdom), pp. 185–196.
- Botanic Gardens Conservation International. Disponible en: [http://www.bgci.org/garden\\_search.php](http://www.bgci.org/garden_search.php). (Último acceso 27/06/2015).
- Burle, M.L., Fonseca, J.R., Kami, J.A., Gepts, P., 2010. Microsatellite diversity and genetic structure among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Brazil, a secondary center of diversity. *Theor. Appl. Genet.* 121, 801–813.
- Casquero, P., 2012. Las marcas de calidad en el desarrollo de las leguminosas en España, in: V Seminario de Judía de La Península Ibérica. V Actas de la Asociación Española de Leguminosas, Pontevedra, España, pp. 145–150.
- Chacón, M.I., Pickersgill, S.B., Debouck, D.G., 2005. Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races. *Theor. Appl. Genet.* 110, 432–444.
- CIAT, Centro Investigación Agricultura Tropical. Disponible en: <http://isa.ciat.cgiar.org/urg/beancollection.do?jsessionid=F04D6EADB99F43998270A48F3634B460>. (Último acceso 27/06/2015).
- CRF, Centro de Recursos Fitogenéticos. Disponible en: <http://wwwx.inia.es/coleccionescrf/>. (Último acceso 28/06/2015).
- DAAM, 2015. Disponible en: [http://agricultura.gencat.cat/ca/departament/dar\\_estadistiques\\_observatoris/dar\\_estructura\\_produccio/](http://agricultura.gencat.cat/ca/departament/dar_estadistiques_observatoris/dar_estructura_produccio/). (Último acceso 15/05/2015).
- De la Rosa, L., Lázaro, A., Varela, F., 2000. Racionalización de la Colección de *Phaseolus vulgaris* L., in: II Seminario de Judía de La Península Ibérica. Actas Asociación Española de Leguminosas, Villaviciosa, España, pp. 55–62.
- De la Rosa, L., Marcos, T., De Ron, A.M., Casquero, P., Reinoso, B., Asensio, C., Asensio, M.C., Ruiz de Galarreta, J.I., Casañas, F., Campa, A., Ferreira, J.J., 2008. Red Española de colecciones de judía, in: IV Seminario de Judía de la Península Ibérica. Actas de la Asociación Española de Leguminosas. Valladolid, España, pp. 135–141.
- De Vicente, C., Metz, T., Alercia, A., 2004. *Descriptors for Genetic Marker Technologies*. Rome, Italy.
- Deguignet, M., Juffe-Bignoli, D., Harrison, J., B, M., Burgess, N., Kingston, N., 2014. *United Nations List of Protected Areas*, United Nat. ed. Cambridge, UK.
- Dickie, J.B., Ellis, R.H., Kraak, H.L., Ryder, K., Tompsett, P.B., 1990. Temperature and Seed Storage Longevity. *Ann. Bot.* 65, 197–204.
- Duc, G., Agrama, H., Bao, S., Berger, J., Bourion, V., De Ron, A.M., Gowda, C.L.L., Mikic, A., Millot, D., Singh, K.B., Tullu, A., Vandenberg, A., Vaz Patto, M.C., Warkentin, T.D., Zong, X., 2015. *Breeding Annual Grain Legumes for Sustainable Agriculture: New Methods to*

- Approach Complex Traits and Target New Cultivar Ideotypes. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 34, 381–411.
- Durán, L. A., Blair, M.W., Giraldo, M.C., Macchiavelli, R., Prophete, E., Nin, J.C., Beaver, J.S., 2005. Morphological and molecular characterization of common bean landraces and cultivars from the Caribbean. *Crop Sci.* 45, 1320–1328.
- Ellis, R.H., Hong, T.D., Roberts, E.H., 1990. An intermediate category of seed storage behaviour?: I. Coffee. *J. Exp. Bot.* 41, 1167–1174.
- Ellis, R.H., Roberts, E.H., 1980. Improved equations for the prediction of seed longevity. *Ann. Bot.* 45, 13–30.
- Esquinas-Alcázar, J.T., 1993. La diversidad genética como material básico para el desarrollo agrícola, in: Cubero, J.I., Moreno, M.T. (Eds.), *La Agricultura Del Siglo XXI*. Mundi-Prensa, Madrid, pp. 79–102.
- Esteban-Díez, I., González-Sáiz, J.M., Pizarro, C., 2004. Prediction of sensory properties of espresso from roasted coffee samples by near-infrared spectroscopy. *Anal. Chim. Acta* 525, 171–182.
- FAO, 1996. Informe sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos en el Mundo. Disponible en: <http://www.fao.org/agriculture/crops/mapa-tematica-del-sitio/theme/seeds-pgr/sow/es/>.
- FAO, 1998. *The State of the World' S Plant Genetic Resources*.
- FAO, 2009a. Tratado Internacional sobre los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en: <http://www.planttreaty.org/es>.
- FAO, 2009b. Como alimentar al mundo en 2050. Foro de Alto Nivel de Expertos. Roma 12-13 octubre 2009. Disponible en: <http://www.fao.org/wsfs/forum2050/wsfs-forum/es/>.
- FAO, 2010. Segundo Informe sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura en el Mundo. Roma. Disponible en: <http://www.fao.org/agriculture/crops/temas-principales/theme/seeds-pgr/sow/sow2/es/>.
- FAO, 2014. Normas para Bancos de Germoplasma de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en: <http://www.fao.org/agriculture/crops/mapa-tematica-del-sitio/theme/seeds-pgr/gbs/es/>.
- FAO, 2015. Coping with climate change – the roles of genetic resources for food and agriculture. Rome. Disponible en: <http://www.fao.org/publications/card/es/c/0099d145-f240-4e61-b30e-3d210972ceb8/>.
- FAOSTAT, 2015. Food and Agricultural Commodities Statistics. Disponible en: <http://faostat3.fao.org/home/E>. (Último acceso 16/05/2015).
- Frankel, O., Bennett, E., 1970. Genetic resources in plants: their exploration and conservation. *International Biological Programme Handbook No. 11*, Blackwell, Oxford and Edinburgh, UK.

- Frankel, O., 1973. Survey of Crop Genetic Resources in Their Centres of Diversity: First Report. FAO/IBP.
- Frankel, O.H., Hawkes, J.G., 1975. Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow. International Biological Programme 2. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Freyre, R., Ríos, R., Guzmán, L., Debouck, D.G., Gepts, P., 1996. Ecogeographic distribution of *Phaseolus* spp. (Fabaceae) in Bolivia. *Econ. Bot.* 50, 195–215.
- Galluzzi, G., López Noriega, I., 2014. Conservation and Use of Genetic Resources of Underutilized Crops in the Americas—A Continental Analysis. *Sustainability* 6, 980–1017.
- Gaut, B.S., 2014. The complex domestication history of the common bean. *Nat. Genet.* 46, 663–664.
- GENESYS, Gateway to Genetic Resources. Bioversity International. Disponible en: <http://www.genesys-pgr.org>. (Último acceso 28/06/2015).
- Gepts, P., Bliss, F., 1988. Dissemination pathways of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae) deduced from phaseolin electrophoretic variability. II Europe and Africa. *Econ. Bot.* 42, 86–104.
- Gepts, P., Debouck, D., 1991. Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), in: van Schoonhoven, A., Voysest, O. (Eds.), *Common Beans: Research for Crop Improvement*. CAB International-CIAT, Wallingford, UK, pp. 7–54.
- Gepts, P., Osborn, T., Rashka, K., Bliss, F., 1986. Phaseolin-protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): evidence for multiple centers of domestication. *Econ. Bot.* 40, 451–468.
- Gioia, T., Logozzo, G., Attene, G., Bellucci, E., Benedettelli, S., Negri, V., Papa, R., Spagnoletti Zeuli, P., 2013. Evidence for introduction bottleneck and extensive inter-gene pool (Mesoamerica x Andes) hybridization in the European common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm. *PLoS One* 8, e75974.
- Gómez, O.J., Blair, M.W., Frankow-Lindberg, B.E., Gullberg, U., 2005. Comparative study of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces conserved ex situ in genebanks and in situ by farmers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 52, 371–380.
- Gómez-Campo, C., 2006. Erosion of genetic resources within seed genebanks: the role of seed containers. *Seed Sci. Res.* 16, 291–294.
- GRIN, Germplasm Resources Information Network. Disponible en: <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/crop.aspx?id=83> (Último acceso 28/06/2015).
- Guarino, L., Ramanatha Rao, V., Reid, R., 1995. *Collecting plant genetic diversity: technical guidelines*. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- Guzman-Maldonado, S.H., Acosta-Gallegos, J., Paredes-Lopez, O., 2000. Protein and mineral content of a novel collection of wild and weedy common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Sci. Food Agric.* 80, 1874–1881.

- Guzmán-Maldonado, H., Jacinto-Hernández, C., Castellanos, J.Z., 1995. Manual de métodos para determinar las características de calidad en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). México.
- Guzmán-Maldonado, S.H., Acosta-Gallegos, J., Paredes-Lopez, O., 2000. Protein and mineral content of a novel collection of wild and weedy common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Sci. Food Agric.* 80, 1874–1881.
- Harlan, J.R., 1975. Crops and man. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Madison, Wisconsin.
- Hawkes, J.G., Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V., 2002. The Ex Situ Conservation of Plant Genetic Resources. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.
- Hayat, I., Ahmad, A., Masud, T., Ahmed, A., Bashir, S., 2014. Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 54, 580–592.
- Hosfield, G.L., Ghaderi, A., Uebersax, M.A., 1984. A factor analysis of yield and sensory and physico-chemical data from test used to measure culinary quality in dry edible beans. *Can. J. Plant Sci.* 64, 285–293.
- Hulse, J., Raichie, K.O., Billingsley, L.W., 1977. Nutritional Standards and Methods of Evaluation for Food Legume Breeders, Bulletin de l'Academie nationale de medecine. Ottawa.
- Inarejos-García, A.M., Gómez-Alonso, S., Fregapane, G., Salvador, M.D., 2013. Evaluation of minor components, sensory characteristics and quality of virgin olive oil by Near Infrared (NIR) spectroscopy. *Food Res. Int.* 50, 250–258.
- ISO 5492., 2008. Vocabulary, International Organization for Standardization Genève, Switzerland.
- Jiang, H., Chen, Q., 2015. Chemometric models for the quantitative descriptive sensory properties of green tea (*Camellia sinensis* L.) using Fourier Transform Near Infrared (FT-NIR) Spectroscopy. *Food Anal. Methods* 8, 954–962.
- Jiang, W., Lee, J., Jin, Y.M., Qiao, Y., Piao, R., Jang, S.M., Woo, M.O., Kwon, S.W., Liu, X., Pan, H.Y., Du, X., Koh, H.J., 2011. Identification of QTLs for seed germination capability after various storage periods using two RIL populations in rice. *Mol. Cells* 31, 385–392.
- Karoui, R., Debaerdemaeker, J., 2007. A review of the analytical methods coupled with chemometric tools for the determination of the quality and identity of dairy products. *Food Chem.* 102, 621–640.
- Kelly, J.D., Cichy, K.A., 2013. Dry bean breeding and production technologies, in: Siddiq, M., Uebersax, M.A. (Eds.), *Dry Beans and Pulses Production, Processing and Nutrition*. John Wiley & Sons, Inc, Oxford, pp. 23–54.
- Khattab, R.Y., Arntfield, S.D., 2009. Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments 2. Antinutritional factors. *LWT - Food Sci. Technol.* 42, 1113–1118.
- Koenig, R., Gepts, P., 1989. Allozyme diversity in wild *Phaseolus vulgaris*: further evidence for two major centers of genetic diversity. *Theor. Appl. Genet.* 78, 809–817.

- Koinange, E.M.K., Singh, S.P., Gepts, P., 1996. Genetic control of the domestication syndrome in common bean. *Crop Sci* 36, 1037–1045.
- Kwak, M., Gepts, P., 2009. Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). *Theor. Appl. Genet.* 118, 979–992.
- Kwak, M., Kami, J.A., Gepts, P., 2009. The putative mesoamerican domestication center of *Phaseolus vulgaris* is located in the Lerma–Santiago basin of Mexico. *Crop Sci.* 49, 554–563
- Lawless, H.T., Heymann, H., 2010. *Sensory Evaluation of Food - Principles and Practices*. New York USA.
- Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung. Disponible en: [http://gbis.ipk-gatersleben.de/GBIS\\_I/home.jsf;jsessionid=SypXVRTYg2bLpTQyMgyrnTKW1RN8f2tRXyn1yqnvqtq2GW75kG2Mm!-46513717!1435587512822?autoScroll=0,14](http://gbis.ipk-gatersleben.de/GBIS_I/home.jsf;jsessionid=SypXVRTYg2bLpTQyMgyrnTKW1RN8f2tRXyn1yqnvqtq2GW75kG2Mm!-46513717!1435587512822?autoScroll=0,14). (Último acceso 24/04/2015).
- Lioi, L., Piergiovanni, A.R., 2013. European common bean, in: Singh, M., Upadhyaya, H.D., Singh Bisht, I. (Eds.), *Genetic and Genomic Resources of Grain Legume Improvement*. London.
- Logozzo, G., Donnoli, R., Macaluso, L., Papa, R., Knüpffer, H., Zeuli, P.S., 2007. Analysis of the contribution of Mesoamerican and Andean gene pools to European common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm and strategies to establish a core collection. *Genet. Resour. Crop Evol.* 54, 1763–1779.
- Maciel, F.L., Echeverrigaray, S., Gerald, L.T.S., Graziotin, F.G., 2003. Genetic relationship and diversity among Brazilian cultivar and of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) revealed by AFLP markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 50, 887–893.
- Maggioni, L., Ambrose, M., Lipman, E., 2013. Report of a Working Group on Grain Legumes. Fifth Meeting, 7-8 May, Group. Rome, Italy.
- MAGRAMA, 2015. Disponible en: <http://www.magrama.gob.es/es/agricultura/temas/producciones-agricolas/cultivos-herbaceos/leguminosas-y-oleaginosas/>. (Último acceso 15/05/2015).
- Marshall, D.R., Brown, A.H., 1975. Optimum sampling strategies in genetic resources conservation, in: Frankel, O.H., Hawkes, J.G. (Eds.), *Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow*. Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido, pp. 53–80.
- Mavromatis, A.G., Arvanitoyannis, I.S., Chatzitheodorou, V., Kaltsa, A., Patsiaoura, I., Nakas, C.T., 2012. A comparative study among landraces of *Phaseolus vulgaris* L. and *P. coccineus* L. based on molecular, physicochemical and sensory analysis for authenticity purposes. *Sci. Hortic.* 144, 10–18.
- Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V., Hawkes, J.G., 1997. Complementary conservation strategies, in: Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V., Hawkes, J.G. (Eds.), *Plant Genetic Conservation: The In Situ Approach*. Springer Science & Business Media, London, pp. 20–55.

- Mehinagic, E., Royes, G., Bertrand, D., Symoneaux, R., Laurens, F., Jourjon, F., 2003. Relation between sensory analysis, penetrometry and visible NIR spectroscopy of apples belonging to different cultivars. *Food Qual. Prefer.* 14, 473–484.
- Meilgaard, M., Civille, G.V., Carr, B.T., 1999. *Sensory Evaluation Techniques*, 3 rd. ed. CRC Press, Boca Raton.
- Mendoza, F. A., Cichy, K., Lu, R., Kelly, J.D., 2014. Evaluation of canning quality traits in black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by visible/near-infrared spectroscopy. *Food Bioprocess Technol.* 7, 2666–2678.
- Mkanda, A.V., Minnaar, A., L de Kock, H., 2007. Relating consumer preferences to sensory and physicochemical properties of dry beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Sci. Food Agric.* 87, 2868–2879.
- Nanni, L., Bitocchi, E., Bellucci, E., Rossi, M., Rau, D., Attene, G., Gepts, P., Papa, R., 2011. Nucleotide diversity of a genomic sequence similar to SHATTERPROOF (PvSHP1) in domesticated and wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genet.* 123, 1341–1357.
- Nass, L.L., Sigrist, M.S., Ribeiro, C.S. da C., Reifschneider, F.J.B., 2012. Genetic resources: the basis for sustainable and competitive plant breeding. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 12, 75–86.
- National Botanic Garden of Meise. Disponible en: <http://www.br.fgov.be/PUBLIC/GENERAL/index.php>. (Último acceso 28/06/2015).
- Negri, V., Tiranti, B., 2010. Effectiveness of in situ and ex situ conservation of crop diversity. Wh NordGen, Nordic Genetic Resources. Disponible en: <http://www.nordgen.org/index.php/en>. (Último acceso 02/07/2015)
- NPGS, National Plant Germplasm System. Disponible en: <http://www.ars-grin.gov/npgs/stats/>. (Último acceso 28/06/2015).
- Oomah, B.D., Blanchard, C., Balasubramanian, P., 2008. Phytic acid, phytase, minerals, and antioxidant activity in Canadian dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 56, 11312–11319.
- Orden de 23 de abril de 1993 por la que se crea el Programa de Conservación y Utilización de Recursos Fitogenéticos del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación y se establecen los objetivos básicos, directrices y normativa general del programa. , 7 de mayo de 1993, núm.109, p. 1993-11802. (Último acceso 20/05/2015).
- Ortwin-Sauer, C., 1966. *The Early Spanish Main*. University of California Press, Berkeley.
- Papa, R., Gepts, P., 2003. Asymmetry of gene flow and differential geographical structure of molecular diversity in wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from Mesoamerica. *Theor. Appl. Genet.* 106, 239–250.

- Pascual, A., Campa, A., Pérez-Vega, E., Giraldez, R., Miklas, P.N., Ferreira, J.J., 2010. Screening common bean for resistance to four *Sclerotinia sclerotiorum* isolates collected in northern Spain. *Plant Dis.* 94, 885–890.
- Pérez-Vega, E., Campa, A., De la Rosa, L., Giraldez, R., Ferreira, J.J., 2006. Evaluation for resistance to anthracnose of a core collection established from the CRF-INIA common bean collection. *Annu. Rep. Bean Improv. Coop.* 49, 201–202.
- Pérez-Vega, E., Campa, A., De la Rosa, L., Giraldez, R., Ferreira, J.J., 2009. Genetic diversity in a core collection established from the main bean genebank in Spain. *Crop Sci.* 49, 1377–1386.
- Pistorius, R., 1997. Scientists, plants and politics. A history of the plant genetic resources movement. International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy.
- Plans, M., Simó, J., Casañas, F., Romero del Castillo, R., Rodríguez-Saona, L.E., Sabaté, J., 2014. Estimating sensory properties of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by near infrared spectroscopy. *Food Res. Int.* 56, 55–62.
- Plucknett, D., Smith, N.J.H., Williams, J.T., Anishetty, N.M., 1987. Gene Banks and the World's Food. Princeton University Press, New Jersey.
- Prieto, N., Roehe, R., Lavín, P., Batten, G., Andrés, S., 2009. Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: A review. *Meat Sci.* 83, 175–86.
- Pujolà, M., Farreras, A., Casañas, F., 2007. Protein and starch content of raw, soaked and cooked beans. *Food Chem.* 102, 1034–1041.
- Rao, N.K., Hanson, J., Dulloo, M.E., Ghosh, K., Nowell, D., Larinde, M., 2007. Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. Manuales para Bancos de Germoplasma No. 8. Bioversity International, Roma, Italia.
- Rao, V.R., Hodgkin, T., 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell. Tissue Organ Cult.* 68, 1–19.
- Real Decreto 1075/2014, de 19 de diciembre, sobre la aplicación a partir de 2015 de los pagos directos a la agricultura y la ganadería y otros regímenes de ayuda, así como sobre la gestión y control de los pagos directos y de los pagos al desarrollo rural. BOE, 20 de diciembre de 2014, núm. 307, p. 103644-103723. (Último acceso 2/06/2015).
- Rice, E.B., Smith, M.E., Mitchell, S.E., Kresovich, S., 2006. Conservation and change: A comparison of in situ and ex situ conservation of Jala maize germplasm. *Crop Sci.* 46, 428–436.
- Roberts, E.H., 1973. Predicting the storage life of seeds. *seed sci. ans Technol* 499–514.
- Rodiño, A.P., 2000. Caracterización morfoagronómica y bioquímica de germoplasma de judía común (*Phaseolus vulgaris* L.) de España. Universidad de Santiago de Compostela.
- Rodiño, A.P., Santalla, M., González, A.M., De Ron, A.M., Singh, S.P., 2006. Novel genetic variation in common bean from the Iberian Peninsula. *Crop Sci.* 46, 2540–2546.

- Rodiño, A.P., Santalla, M., Montero, I., Casquero, P.A., De Ron, A.M., 2001. Diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm from Portugal. *Genet. Resour. Crop Evol.* 48, 409–417.
- Romero del Castillo, R., Costell, E., Plans, M., Simó, J., Casañas, F., 2012. A standardized method of preparing common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) for sensory analysis. *J. Sens. Stud.* 27, 188–195.
- Romero del Castillo, R., Sabaté, J., Plans, M., Casañas, F., 2010. Evaluación para características de calidad, in: Carrillo, J.M., Díez, M.J., Pérez de la Vega, M., Nuez, F. (Eds.), *Mejora Genética y Recursos Fitogenéticos: Nuevos Avances en la Conservación y Utilización de los Recursos Fitogenéticos*. Madrid, pp. 385–420.
- Romero del Castillo, R., Valero, J., Casañas, F., Costell, E., 2008. Training, validation and maintenance of a panel to evaluate the texture of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Sens. Stud.* 23, 303–319.
- Rossi, M., Bitocchi, E., Bellucci, E., Nanni, L., Rau, D., Attene, G., Papa, R., 2009. Linkage disequilibrium and population structure in wild and domesticated populations of *Phaseolus vulgaris* L. *Evol. Appl.* 2, 504–522.
- Royal Botanic Gardens Kew (2015). Seed Information Database (SID). Version 7.1. Disponible en: <http://data.kew.org/sid/>. (Último acceso 28/06/2015).
- Rubenstein, K.D., Smale, M., Widrechner, M.P., 2006. Demand for genetic resources and the U.S. National Plant Germplasm System. *Crop Sci.* 46, 1021–1031.
- Rubiales, D., Fondevilla, S., Chen, W., Gentzbittel, L., Higgins, T.J. V, Castillejo, M. a, Singh, K.B., Rispaill, N., 2015. Achievements and challenges in legume breeding for pest and disease resistance. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 34, 195–236.
- Salunkhe, D.K., Kadam, S.S., 1989. *Handbook of world food legumes: nutritional chemistry, processing technology, and utilization*. Volume 1. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
- Sánchez, E., Sifres, A., Casañas, F., Nuez, F., 2007. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Catalonia, a Mesoamerican germoplasm hotspot to be preserved. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 82, 529–534.
- Santalla, M., Rodiño, A.P., De Ron, A.M., 2002. Allozyme evidence supporting southwestern Europe as a secondary center of genetic diversity for the common bean. *Theor. Appl. Genet.* 104, 934–944.
- Sanz, M., Atienza, J., 1999. Sensory analysis of beans (*Phaseolus vulgaris*). *Biotechnol. Agron. société Environ.* 3, 201–204.
- Schmutz, J., McClean, P.E., Mamidi, S., Wu, G.A., Cannon, S.B., Grimwood, J., Jenkins, J., Shu, S., Song, Q., Chavarro, C., Torres-Torres, M., Geffroy, V., Moghaddam, S.M., Gao, D., Abernathy, B., Barry, K., Blair, M., Brick, M. A., Chovatia, M., Gepts, P., Goodstein, D.M., Gonzales, M., Hellsten, U., Hyten, D.L., Jia, G., Kelly, J.D., Kudrna, D., Lee, R., Richard,



- M.M.S., Miklas, P.N., Osorno, J.M., Rodrigues, J., Thareau, V., Urrea, C. A., Wang, M., Yu, Y., Zhang, M., Wing, R.A., Cregan, P.B., Rokhsar, D.S., Jackson, S.A., 2014. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nat. Genet.* 46, 707–713.
- Schreinemachers, P., Ebert, A.W., Wu, M.H., 2014. Costing the ex situ conservation of plant genetic resources at AVRDC - The World Vegetable Center. *Genet. Resour. Crop Evol.* 61, 757–773.
- Shellie-Dessert, K.G., Bliss, F.A., 1991. Genetic improvement of food quality factors, in: van Schoonhoven, A., Voysest, O. (Eds.), *Common Beans: Research for Crop Improvement*. CAB International-CIAT, Wallingford, UK, pp. 649–677.
- Shermann, H., 1997. Infrared Spectroscopy, in: Settle, F.A. (Ed.), *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. New Jersey USA, pp. 247–283.
- Shiroma, C., Rodriguez-Saona, L., 2009. Application of NIR and MIR spectroscopy in quality control of potato chips. *J. Food Compos. Anal.* 22, 596–605.
- Siddiq, M., Uebersax, M.A., 2013. Dry beans and pulses production and consumption. An overview, in: Siddiq, M., Uebersax, M.A. (Eds.), *Dry Beans and Pulses: Production, Processing and Nutrition*. John Wiley & Sons, Inc, Oxford, pp. 3–22.
- Singh, S.P., 2001. Broadening the genetic base of common bean cultivars. *Crop Sci.* 41, 1659–1675.
- Singh, S.P., Gepts, P., Debouck, D.G., 1991a. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Econ. Bot.* 45, 379–396.
- Singh, S.P., Gutiérrez, J.A., Molina, A., Urrea, C., Gepts, P., 1991b. Genetic diversity in cultivated common bean: II. Marker-based analysis of morphological and agronomic traits. *Crop Sci.* 31, 23–29.
- Singh, S.P., Nodari, R., Gepts, P., 1991c. Genetic diversity in cultivated common bean: I. Allozymes. *Crop Sci.* 31, 19–23.
- Singh, S.P., Schwartz, H.F., 2010. Breeding common bean for resistance to diseases: A review. *Crop Sci.* 50, 2199–2223.
- Song, D., Chang, S.K.C., Ibrahim, S.A., 2009. Descriptive sensory characteristics of no-flatulence pinto bean. *J. Food Qual.* 32, 775–792.
- Sotelo, A., Sousa, H., Sanchez, M., 1995. Comparative study of the chemical composition of wild and cultivated beans (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Foods Hum. Nutr.* 47, 93–100.
- Stone, H., Sidel, J.L., 2004. Introduction to Sensory Evaluation, in: Press, A. (Ed.), *Sensory Evaluation Practices*. San Diego, pp. 1–19.
- Tanksley, S.D., McCouch, S.R., 1997. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science* 277, 1063–1066.
- Thomas, M., Demeulenaere, E., Bonneuil, C., Goldringer, I., 2012. On-farm conservation in industrialized countries: a way to promote dynamic management of biodiversity within

- agroecosystems., in: Maxted, N., Ehsan Dulloo, M., Ford-Lloyd, B.V., Frese, L., Iriondo, J. M., Pinheiro de Carvalho, M.A.A. (Ed.), *Agrobiodiversity Conservation: Securing the Diversity of Crop Wild Relatives and Landraces*. pp. 173–180.
- UNE 87028-1., 1997. *Directrices para la preparación de legumbres para evaluar su textura*. Madrid. Ed. AENOR.
- USDA, 2015. USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 27. Disponible en: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods>. (Último acceso 23/04/2015).
- Van de Wouw, M., Kik, C., van Hintum, T., van Treuren, R., Visser, B., 2010. Genetic erosion in crops: concept, research results and challenges. *Plant Genet. Resour. Util.* 8, 1–15.
- Vaz Patto, M.C., Amarowicz, R., Aryee, A.N.A., Boye, J.I., Chung, H.-J., Martín-Cabrejas, M. A., Domoney, C., 2015. Achievements and challenges in improving the nutritional quality of Food legumes. *CRC. Crit. Rev. Plant Sci.* 34, 105–143.
- Veteläinen, M., Negri, V., Maxted, N., 2009. European landraces: on-farm conservation, management and use, *Bioversity Technical Bulletin N15*. Bioversity International, Rome, Italy.
- VIEWS, World Information and Early Warning System on plant genetic resources for food and agriculture. Disponible en: <http://apps3.fao.org/wiews/wiews.jsp>. (Último acceso 4/05/2015).
- VIR, N.I. Vavilov Research Institute of Plant Industry. Disponible en: <http://vir.nw.ru/>. (Último acceso 24/04/2015).
- Virchow, D., 1999. *Conservation of genetic resources: costs and implications for a sustainable utilization of plant genetic resources for food and agriculture*, 1st ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin.
- Voysest, O., 2000. *Mejoramiento genético del frijol (Phaseolus vulgaris L.)*. Legado de variedades de América latina 1930-1999. CIAT, Cali, Colombia.
- Weidong, G., Fang, J., Zheng, D., Li, Y., Lu, X., Rao, R., Hodgkin, T., Zongwen, Z., 2000. Utilization of germplasm conserved in Chinese national genebanks – a survey. *Plant Genetic Resour. Newsl.* 1–8.
- Welch, R.M., House, W.A., Beebe, S., Cheng, Z., 2000. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris L.*) seeds. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3576–3580.
- Western Regional Plant Introduction Station, Pullman, Washington. Disponible en: [http://ars.usda.gov/main/site\\_main.htm?modecode=20-90-15-00](http://ars.usda.gov/main/site_main.htm?modecode=20-90-15-00). (Último acceso 28/06/2015).
- Williams, P.C., 2001. Implementation of near-infrared technology, in: Williams, P., Kar, N. (Eds.), *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industry*. American Association of Cereal Chemists, Minesota USA, pp. 145–169.
- Zeder, M. A., Emshwiller, E., Smith, B.D., Bradley, D.G., 2006. Documenting domestication: the intersection of genetics and archaeology. *Trends Genet.* 22, 139–155.
- Zeven, A.C., 1998. Landraces: A review of definitions and classifications. *Euphytica* 104, 127–139.

Zhang, X., Blair, M.W., Wang, S., 2008. Genetic diversity of Chinese common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces assessed with simple sequence repeat markers. *Theor. Appl. Genet.* 117, 629–640.



## Capítulo 2

---

### **CLASIFICACIÓN DE LAS ENTRADAS DEL TIPO VARIETAL GANXET RECOLECTADAS EN CATALUÑA**

**Aurora Rull, Juan José Ferreira, Ana Rivera, Daniel Fenero,  
Antoni Allmirall y Francesc Casañas**

*Actas de Horticultura (2012) p.241-250*

## 2.1 RESUMEN

La judía Ganxet es muy apreciada en Cataluña donde forma parte de platos tradicionales y alcanza un elevado precio en el mercado. Debido a ello y a que suele ser poco productiva se comercializan bajo este nombre una gran cantidad de formas distintas, algunas de ellas muy alejadas del tipo varietal histórico. El trabajo realiza una exhaustiva recolección de germoplasma presuntamente Ganxet (388 entradas), que se estudia para eliminar los fuera tipos. El germoplasma resultante se agrupa en 24 tipos principales atendiendo a características de la vaina y la semilla, representativos de la variabilidad varietal. Se ha elegido la entrada más curvada dentro de cada grupo para ser preservada “ex situ” en el CRF.

**Palabras clave:** *Phaseolus vulgaris* L., Variedad tradicional Ganxet, Germoplasma, Variabilidad.

## 2.2 INTRODUCCIÓN

Ganxet es una variedad tradicional de judía (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivada exclusivamente en Cataluña a donde llegó probablemente a finales del siglo XIX o principios de XX (Casañas *et al.*, 1998; Sánchez, 2003). El fenotipo de semilla Ganxet es exclusivo en la especie con semillas blancas y aplanadas que muestran un alto grado de curvatura y un peso aproximado de 50g/100 semillas. La zona de cultivo tradicional corresponde a las comarcas del Vallès, el Alt Maresme y la Selva. Es una variedad muy apreciada por los consumidores y forma parte de numerosos platos típicos, habiendo sido reconocida con una Denominación de Origen Protegida (DOP Mongeta del Ganxet).

Dado que en los materiales denominados como Ganxet se ha constatado la presencia de variación morfológica debido a mezclas, cruzamientos o una incorrecta clasificación, se pretende: i) recolectar exhaustivamente germoplasma dentro de la zona histórica de cultivo; ii) efectuar una caracterización agromorfológica del material reunido y iii) formar grupos por afinidades morfológicas que permitan conservar la máxima variabilidad con un número mínimo de entradas. Este trabajo permitirá racionalizar la conservación de la diversidad genética de Ganxet y ofrecerá la posibilidad de utilizar la variación dentro de este tipo varietal.

## 2.3 MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.3.1 Colectas

Las colectas del material que se comercializa bajo el nombre Ganxet en el territorio catalán se iniciaron en el año 1992 en las comarcas del cultivo tradicional y finalizaron en el 2007 habiéndose prospectado finalmente toda Cataluña.

### **2.3.2 Depuración del material reunido**

Tras la colecta se hizo una depuración de las entradas, basada en el grado de curvatura de la semilla dado que este carácter se había fijado como el distintivo más sencillo de la variedad (Casañas *et al.*, 1998). Fueron eliminadas aquellas entradas a las que se les adjudicaba visualmente un grado de curvatura menor de 2 (en una escala de 0 a 3). Dentro de las entradas también se efectuó una selección de las semillas, siguiendo el mismo criterio, puesto que la mayor parte de ellas resultaron ser muy heterogéneas (mezclas de líneas puras). En los últimos ensayos se ha utilizado para la valoración de la curvatura de la semilla un escáner y el software de tratamiento de imagen WinSeedle Pro v2005b (Regent Instruments, Inc. Quebec, Canada ). El grado de curvatura visual 2 o superior equivale a  $\geq 0,105$  en los valores obtenidos con la escala de medida que usa el programa asociado al escáner.

Una vez el material estuvo depurado y antes de empezar los ensayos de campo, todas las entradas fueron caracterizadas para los parámetros peso de 100 semillas, curvatura y superficie de la semilla. Estos datos permitieron agrupar las entradas por similitud, mediante un clúster. Una entrada de cada uno de estos grupos fue ensayada el primer año (62 entradas), con la intención de obtener una primera impresión de la variabilidad del material de estudio.

### **2.3.3 Diseño experimental**

Dado el gran número de entradas a evaluar los ensayos de campo se realizaron a lo largo de 3 años consecutivos (2008 a 2010). Cada año las entradas se sembraron en dos localidades pertenecientes a la región tradicional del cultivo de judía seca en Cataluña. Con el fin de poder comparar los 3 años y las 2 localidades se emplearon tres líneas puras de la variedad como testigos comunes de todos los ensayos. El cultivo se realizó siguiendo las técnicas habituales en la zona que incluyen tutorado y riego por goteo. De cada parcela elemental se registraron los caracteres de semilla y vaina que permitieron agrupar las entradas en función de sus similitudes.

### **2.3.4 Análisis de fondo genético**

En las 62 entradas que se sembraron el primer año del ensayo y con el fin de comprobar si aportaban información complementaria para realizar las agrupaciones, se analizaron los microsatélites BMd17, BMd16, BM200, BM170 y BM184, usados anteriormente en la caracterización de la colección nuclear del CRF (Pérez-Vega *et al.*, 2009).

### **2.3.5 Análisis estadístico**

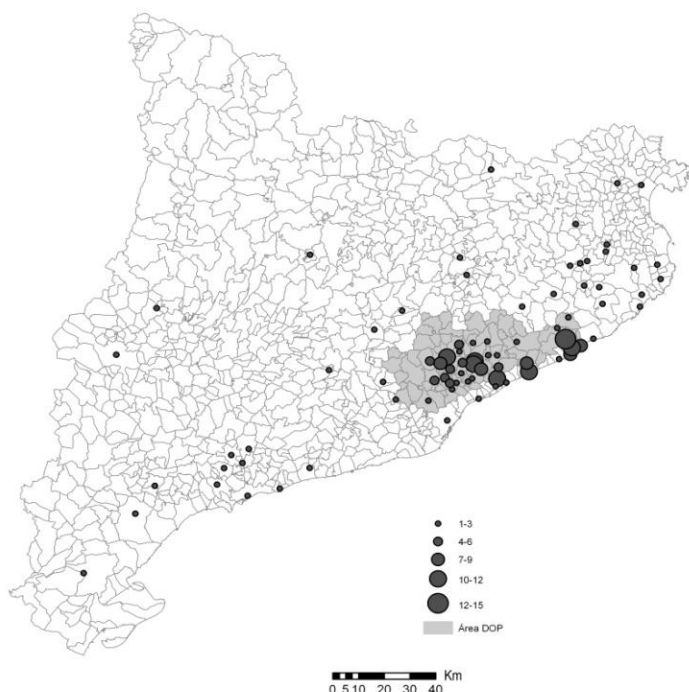
Para efectuar los grupos se utilizaron el análisis de la varianza, análisis de la covarianza, y el análisis de agrupación, aplicados a los registros morfológicos de las entradas. A priori se tomó la

decisión de limitar a 24 entradas la representación de la variación global (~10% del total de muestras, considerando que queríamos crear una colección manejable (Brown, 1989)). Para ello se utilizó el método K-means que permite determinar el número de agrupaciones a elaborar modificando la exigencia de la significación.

Para la interpretación de las agrupaciones se efectuó una representación gráfica de los resultados del Análisis de Componentes Principales (ACP), dibujando alrededor de cada centro de gravedad la elipse de confianza ( $p \leq 0.05$ ). A continuación se realizó un nuevo ACP de los 24 conjuntos usando la media de cada grupo, para tener una representación gráfica más limpia. Todos los cálculos y representaciones se efectuaron con el programa estadístico R 2.12.1.

## 2.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se colectaron un total 388 entradas comercializadas bajo el nombre de Ganxet. Entre y dentro de entradas se detectó abundante variabilidad fenotípica para el grado de curvatura y tamaño, probablemente debido a mezclas, cruzamientos y segregaciones posteriores, con otras variedades. Tras la depuración quedaron reducidas a las 257 que intervinieron en el estudio (Figura 1), la mayoría de las cuales procedían de la zona amparada por la DOP (Figura 1).



**Figura 1.** Distribución de las entradas colectadas y aceptadas como Ganxet. El radio de los círculos está correlacionado con el número de entradas en cada zona. En gris los municipios amparados por la DOP Mongeta del Ganxet.

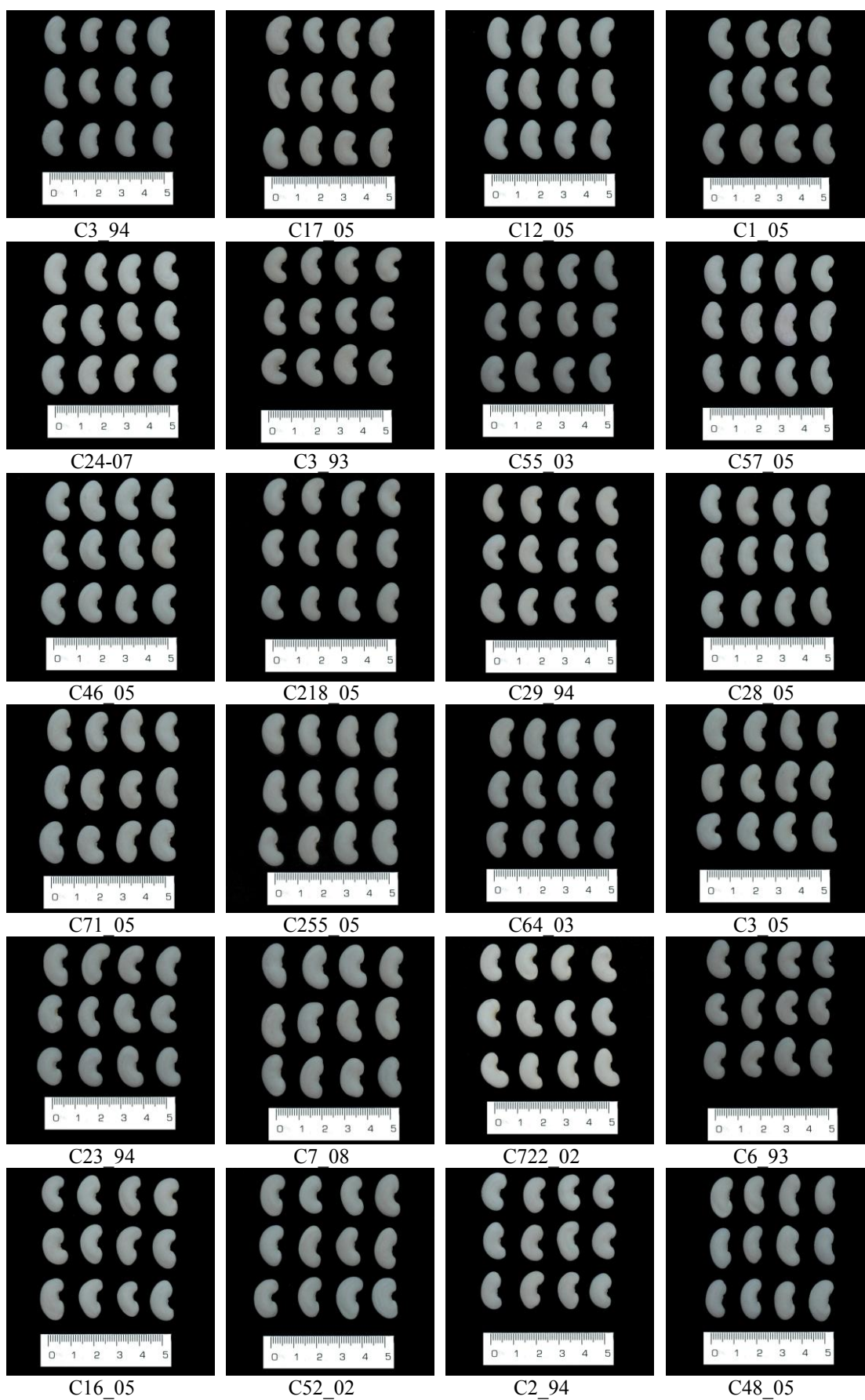
El análisis de fondo genético efectuado sobre 62 entradas escogidas antes de iniciar el estudio como representativas de la variabilidad total, ofreció escasas diferencias entre muestras, por lo que no se continuó con esta vía de clasificación (debería, probablemente, aumentarse mucho el número de microsatélites para establecer diferencias de fondo genético).

Con los datos reunidos en los ensayos de campo se realizó un análisis multivariante. Los 24 grupos generados incluían entre 2 y 24 entradas que se encontraban dentro de la elipse de confianza de cada grupo. Las características para cuatro caracteres relevantes (longitud de la vaina, floración, peso de 100 semillas y grado de curvatura) en la entrada más curvada dentro de cada uno de los 24 grupos establecidos se muestran en la Tabla 1. El grado de curvatura varió en este grupo de materiales entre 0,10 y 0,15 reflejando el polimorfismo para el carácter dentro del tipo varietal (Figura 2).

**Tabla 1.** Valores promedio de los caracteres diferenciales para las entradas más curvadas dentro de cada grupo y grupo al que pertenecen.

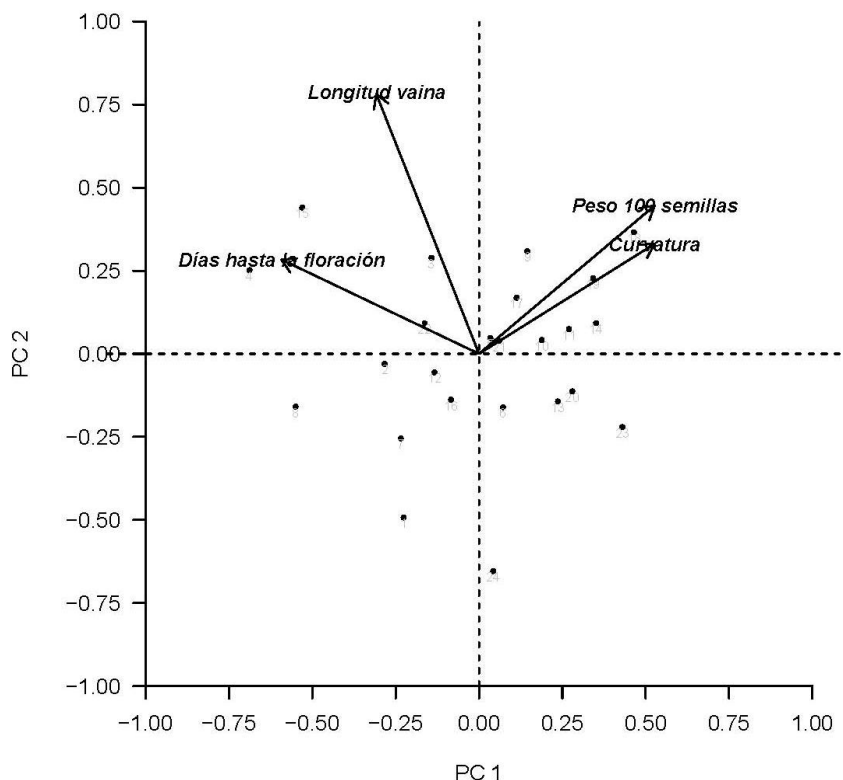
Grupo	Entrada	Peso 100 semillas (g)	Longitud vaina (cm)	Floración	Curvatura
1	C3_94	45,24	14,41	43,92	0,10836
2	C17_05	44,75	16,51	46,68	0,12672
3	C212_05	51,32	16,90	45,74	0,12135
4	C1_05	47,84	18,67	49,73	0,11050
5	C24_07	46,83	16,74	43,08	0,13739
6	C3_93	47,33	14,96	46,47	0,14722
7	C55_03	33,90	16,44	43,20	0,11859
8	C57_05	36,45	16,92	46,12	0,10777
9	C46_05	48,26	18,21	43,20	0,14269
10	C218_05	55,44	16,86	43,52	0,13299
11	C29_94	50,28	16,07	43,19	0,14576
12	C28_05	48,46	15,86	45,11	0,11153
13	C71_05	45,15	15,30	42,13	0,13967
14	C255_05	58,21	16,50	44,03	0,12553
15	C64_03	43,03	19,94	44,85	0,12938
16	C3_05	43,34	15,99	44,81	0,12790
17	C23_94	48,12	16,29	44,49	0,14563
18	C7_08	56,28	17,39	41,02	0,13287
19	722_02	50,32	16,61	43,27	0,15921
20	C6_93	48,24	15,23	44,28	0,14996
21	C16_05	45,72	16,36	44,80	0,14445
22	C52_05	45,21	18,40	45,37	0,12915
23	C2_94	50,05	14,07	42,11	0,14269
24	C48_05	46,59	13,49	40,31	0,10612





**Figura 2.** Imagen de las semillas pertenecientes a la 24 entradas seleccionadas.

La representación gráfica del análisis de componentes principales de los 24 conjuntos, que explica el 66,31% de la variación total, muestra cómo estos se distribuyen diseminados por todo el plano (Figura 3). El análisis de solapamiento de las elipses de confianza ya había demostrado que son diferentes entre si y que representan satisfactoriamente la variabilidad de los caracteres analizados. La Figura 3 muestra también la correlación positiva que existe entre el peso de 100 semillas y la curvatura de la semilla, sugiriendo que las semillas más curvadas son las más largas y por lo tanto, las que más pesan.



**Figura 3.** Representación gráfica del análisis de componentes principales empleando la media de cada grupo. Los ejes representados explican el 66,31% de la variación.

Dentro de cada uno de los 24 grupos delimitados se eligió la entrada con un mayor grado de curvatura (registrado mediante escáner) para enviarla al CRF y asegurar así su conservación “ex situ” (Tabla 1).

## 2.5 CONCLUSIONES

Las 388 entradas recolectadas como presuntamente Ganxet fueron depuradas y agrupadas en 24 categorías que representan un amplio espectro de la variabilidad colectada. Dentro de cada grupo se ha elegido la entrada más curvada para garantizar su conservación en el CRF.

## 2.6 REFERENCIAS

- Brown, A.H.D., 1989. The case for core collections, in: Brown, A.H.D., Frankel, O.H., Marshall, D.R., Williams, J.T. (Eds.), *The Use of Plant Genetic Resources*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 136–156.
- Casañas, F., Bosch, L., Romero del Castillo, R., Valero, J., Baldi, M., Mestres, J., Nuez Viñals, F., 1998. Características de la alubia Ganxet (*Phaseolus vulgaris* L.) y acciones para su conservación. *Investig. Agrar. Prod. y protección Veg.* 43–55.
- DOGC, Núm. 5554 – 27.1.2010. AAR/90/2010, de 26 de gener, per la qual s'adopta decisió favorable a la sol·licitud d'inscripció de la Denominació d'Origen Protegida Mongeta del Ganxet Vallès-Maresme o Fesol del Ganxet Vallès-Maresme o Judía del Ganxet Vallès-Maresme.
- Pérez-Vega, E., Campa, A., De la Rosa, L., Giraldez, R., Ferreira, J.J., 2009. Genetic Diversity in a Core Collection Established from the Main Bean Genebank in Spain. *Crop Sci.* 49, 1377–1386.
- Sánchez, E., 2003. Variabilitat de la mongeta Ganxet ("*Phaseolus vulgaris*" L.): determinació de tipologies i selecció de línies comercials. Universitat de Barcelona.



## Capítulo 3

---

### **VARIABILITY IN SENSORY ATTRIBUTES IN COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.): A FIRST SURVEY IN THE IBERIAN SECONDARY DIVERSITY CENTER**

**Ana Rivera, Daniel Fenero, Antoni Almirall, Juan José Ferreira, Joan Simó, Marçal Plans,  
Roser Romero del Castillo and Francesc Casañas**

*Genetic Resources and Crop Evolution* (2013) 60 (6):1885-1898

### 3.1 ABSTRACT

Few studies have explored sensory variability in beans. We used geographic, agronomic, morphological, and genetic criteria to select numerous groups of landraces from among the many collected in Catalonia (northeast Spain). Beans cultivated in a single location to avoid environmental effects were submitted to a trained panel for sensory analysis. We used multiple linear regression to explore whether the flavor and texture of the seed (evaluable only by tasting after cooking) can be estimated from easily measurable traits like the appearance of the beans. The degree of variability found for all sensory traits (coefficients of variation: 20%-70%) was similar to that of agronomic traits; however, entries were grouped differently for sensory and agronomic traits, suggesting independent evolution. Negative genotypic correlations between some sensory traits will probably hinder attempts to achieve ideotypes combining low seed-coat perceptibility, low mealiness, and high flavor. Regressions between easily measurable traits (agronomic and culinary traits and appearance of the seeds) and flavor and texture yielded  $R^2$  values ranging from 0.47 to 0.64. We consider these values good enough for rough screening of sensory attributes in genetic resources studies or breeding.

**Keywords:** Common bean, Genotypic correlations, Multiple linear regression, *Phaseolus vulgaris* L., Sensory analysis, Sensory variability.

### 3.2 INTRODUCTION

The common bean was domesticated in the Andean and Mesoamerican regions (Gepts and Debouck, 1991; Gepts, 1998), from which it has spread all over the world. During this process of dissemination, the common bean has been submitted to diverse selection pressures, mostly related to new environments, cultivation techniques, and even culinary traditions (Papa *et al.*, 2006). This wealth of selection factors has led to secondary centers of diversity, one of which is the Iberian Peninsula (Santalla *et al.*, 2002). The nutritive and cultural value of beans and the discovery of their protective role against disease (Champ, 2001; Hangen and Bennink, 2002; Mathres 2002) have recently increased their presence in the diets of developed countries. Moreover, worldwide population growth will make it impossible to meet protein requirements solely through animal sources (Asgar *et al.*, 2010). Thus, legumes will probably play an increasingly important role in our diets. On the other hand, consumers are becoming more demanding, and the success of any food product will depend on its ability to satisfy the sensory demands of a wide variety of culinary preferences. Although there is some evidence of the importance of genetics in the control of sensory traits in beans (Vasconcelos *et al.*, 2012; Pérez-Vega *et al.*, 2010; Ferreira *et al.*, 2012), no large studies have addressed the variability of these traits. Environmental effects are also important

(Florez *et al.*, 2009; Romero del Castillo *et al.*, 2008a); however, they are difficult to separate from genetic effects because it is complicated to cultivate beans collected in diverse areas in any single location due to their adaptation to particular soils and climates (Coney, 1980). Furthermore, the extent to which sensory attributes are genetically related to agronomic and/or morphological traits that might interfere with breeding programs is unknown. In summary, improving the sensory value of beans is an important goal for breeding programs, but little information to guide this task is available (Mkanda *et al.*, 2007) because sensory traits have barely been used to characterize bean genetic resources.

Catalonia, in the northeast corner of the Iberian Peninsula, has a great wealth of traditional varieties of beans of both Andean and Mesoamerican origin (Sanchez *et al.*, 2007). These varieties are ecologically adapted to a small geographical area, thus making them suitable for simultaneous trials in a single location.

We studied entries collected in Catalonia to: i) determine their agronomic and morphological variation and genetic background, to classify them in main types, ii) describe the sensory traits of these types and evaluate the usefulness of this classification for germplasm discrimination, and iii) explore the relationships between the traits studied to facilitate breeding for sensory quality.

### **3.3 MATERIALS AND METHODS**

#### **3.3.1 Origin of the entries**

From 2004 to 2006, we collected 161 entries by prospecting for bean landraces in all the counties of Catalonia, visiting local markets, farmers' associations, and individual farmers.

#### **3.3.2 Field trials for agronomic and morphological grouping**

Due to the large number of entries, the trials to characterize the entries according to agronomic and morphological traits took place over four consecutive years (summer 2006-autumn 2009). To enable comparisons between years, some landraces (Carai, Castellfollit, Confit, Floreta, Genoll de Crist, and Ganxet) were included in all the trials in all the years and locations to be used as checks.

Each year, the same trial took place in two locations (duplicated trial) with a tradition of growing beans: Gallecs, in Vallès Oriental county (41° 34' 18.48" N, 2° 11' 46.15" E), and Sabadell, in Vallès Occidental county (41° 32' 50.7" N, 2° 4' 14.7" E). The climate in both locations is mild-dry Mediterranean with mean annual rainfall of 500-700 L/m<sup>2</sup> distributed unevenly throughout the year and mainly concentrated in the spring and autumn. Summers are generally dry and bean crops require irrigation. The soils are derived from sedimentary and metamorphic rocks, and soil texture varies from sandy clay loam (Gallecs) to loam (Sabadell). The pH is neutral-alkaline and

exchangeable Ca is high in both locations. The experimental design in each location consisted of two random blocks in which each elementary plot consisted of a 3 m row. The distance between rows was 1.8 m and 3 seeds were sown at points separated by 0.5 m along each row (density of 33500 plants/ha). Drip irrigation was used and plants with indeterminate growth were provided with a 2.2-meter-high vertical plastic net for support.

The following traits were recorded during cultivation: a) days-to-flowering (IBPGR, 1982); b) color of the wings of the blossom and color of the standard (IBPGR, 1982); c) the shape of the bracteoles, scored as proposed by Singh *et al.* (1991), but with an additional level of description (triangular, lanceolate, oval-lanceolate, oval, cordate); d) pod background color (IBPGR, 1982); e) fiber, recorded when the grain started to form and the pods were still green (on a scale from 1 to 5, where 1 is very fibrous with many fibers and 5 is scantily fibrous with few fibers); f) growth habit (Singh, 1982).

The following traits were recorded after harvest: a) primary and secondary seed-coat color (De la Cuadra *et al.*, 2001); b) seed-coat pattern (IBPGR, 1982); c) seed size (estimated from the 100-seed weight); d) seed shape by means of the length/width index (Puerta-Romero, 1961), scanned and calculated using WinSeedle Pro v2005b (Regent Instruments, Inc. Quebec, Canada); e) percentage of white color in the seed, scanned and calculated with WinSeedle Pro v2005b (Regent Instruments, Inc. Quebec, Canada); and f) gross yield and net yield (commercial seeds) of each plot, recorded in Kg/ha.

### 3.3.3 Genetic background analysis

To investigate the genetic variability and its relation with morphological variability, we studied the genetic background using representatives of the first grouping based on names assigned by the farmers and the place where varieties were collected. The varieties AB136 (Mesoamerican) and Tendergreen (Andean) were included as checks.

Genomic DNA was isolated from bulked young leaves from 10 plants per accession, using the Illustra™ DNA Extraction Kit Phytopure™ (G.E. Healthcare Life Science, Fairfield, CT, USA) following the supplier's instructions.

To select a set of molecular markers showing a high level of polymorphism, the cultivars TU, MDRK, Michelite, and AB136 were analyzed for 35 microsatellite and sequence-characterized amplified region (SCAR) markers previously mapped in the common bean genetic map (Miklas *et al.*, 2000; Blair *et al.*, 2003; Larsen and Miklas, 2004). Based on the criteria of at least one marker per linkage group, high level of polymorphism, and easy allele identification, and also considering the results of Blair *et al.* (2006), the best microsatellite markers were considered to be: BMd1,

BMd16, BMd17, BMd22, BMd53, BM53, BM137, BM139, BM141, BM151, BM170, BM175, BM184, BM189, BM200, BM210, and BM212 (Blair *et al.*, 2003; Gaitán-Solis *et al.*, 2002).

PCR amplification was performed in a volume of 20 µl containing 50 ng DNA; 0.5 U Taq-DNA polymerase (BIOTAQ™ DNA Polymerase; BIOLINE, London, UK); 1x buffer; 2.5 mM MgCl<sub>2</sub> L-1; 200 µM each of dATP, dCTP, dGTP and dTTP; and 0.5 µM each of forward and reverse primers. The amplifications were carried out using the programs described by the respective authors. PCR products were resolved on 8% polyacrylamide gels, stained with SYBR Safe DNA gel stain (Invitrogen, Eugene, OR, USA), and visualized under UV light. A 100-bp ladder (G.E. Healthcare Life Science, Fairfield, CT, USA) and the software GENETOOLS V4.01 (Syngene, Cambridge, UK) was used to measure the size of the amplification products.

### 3.3.4 Sensory analysis

Once a consensus had been reached about the grouping (considering the appearance of the seeds, agronomic traits, and genetic background), we carried out a sensory analysis on representatives of all the groups. For the sensory analysis, all the chosen entries were cultivated together in Sabadell in 2010 to minimize the environmental effects. Two prestigious Spanish varieties, Tolosa and Faba (Santalla *et al.*, 2001), each cultivated in its traditional region, were used as external checks.

Beans were prepared according to the protocol described by Romero del Castillo *et al.* (2012) and were presented at 70° C to a panel of 12 judges trained over a two-year period (Romero del Castillo *et al.*, 2008b). All tasting sessions were carried out in individual cabins that met the requirements established by the International Organization for Standardization (2007). In summary, 29 different materials were studied in duplicate in a total of 12 sessions, with 5 different materials being evaluated by all the judges in each session.

Judges quantified the intensity of four sensory attributes considered the most important for describing beans in previous studies (Romero del Castillo *et al.*, 2008b). These attributes were recorded on a 10-cm semi-structured scale with the ends marked as described by Romero del Castillo *et al.* (2008b). The time required to cook each sample and the percentage of seeds that remained whole after cooking were also recorded (Romero del Castillo *et al.*, 2008b).

### 3.3.5 Statistical treatment of the data

#### 3.3.5.1 Analysis of variance in the agronomic-morphological study and in the sensory analysis

As mentioned above, to enable comparisons between different years and locations in the analysis of morphological and agronomic variables, the landraces Carai, Castellfollit, Confit, Floreta, Genoll de Crist, and Ganxet were used as common checks in all the locations and years. From the results obtained in these landraces (analysis of variance considering landrace, year, location, and main



interactions), a conversion coefficient was elaborated for each datum corresponding to year,

location, and variable:  $1 - \frac{\alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij}}{\bar{x}}$ , where the numerator represents the sum of the effects  $\alpha_i$  (year),  $\beta_j$  (location), and  $\gamma_{ij}$  (the interaction year x location), and the denominator represents the mean of the variable. Eight coefficients were obtained for each of the agronomic and morphological variables corresponding to the two locations and four years. These coefficients were multiplied by the data registered for each location and year. The matrix of converted data was used for a one-way ANOVA for the variety effect for each of the traits.

For the analysis of the sensory attributes, a two-way ANOVA based on the linear model  $y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + ab_{ij} + e_{ijk}$  was used, where  $\mu$  is the overall mean,  $a_i$  is the main panelist effect,  $b_j$  is the main entry effect,  $ab_{ij}$  is the interaction, and  $e_{ijk}$  is the error of the model taking into account the repetitions under the same conditions. All effects were considered fixed.

### 3.3.5.2 Microsatellite analysis

Molecular marker data were scored as presence (1) or absence (0) of amplified bands. Diversity for each marker was calculated using the polymorphic information content (PIC) according to Anderson *et al.*, 1993:  $PIC = 1 - \sum p_{ij}^2$ , where  $p_{ij}$  is the frequency of the patterns (j) for each marker (i). Cluster analysis was performed using the unweighted pair group method with arithmetical averages (UPGMA) with NTSYSpc software version 2.11V (Rohlf, 2002). A dendrogram was created with the TREE program of NTSYSpc software version 2.11V from the similarity matrix obtained using Jaccard's similarity coefficient (Jaccard, 1928).

### 3.3.5.3 Analysis of covariance and clustering

For the overall study of the data matrix of the sensory values, we used normalized principal component analysis (PCA) with traits related to texture (seed-coat roughness, seed-coat perception, mealiness), flavor, and appearance (percentage of whole beans after cooking, percentage of white color, shape and size of the seeds). The relation between sensory and agronomic or morphological variables was first analyzed using simple Pearson correlation. Then, a stepwise procedure with a selection significance level of  $p \leq 0.05$  was used to test combinations of variables and main factors without interactions (Montgomery, 2001; Dobson, 2002). The adjusted  $R^2$  was used to assess the model's goodness of fit. All statistical calculations were done with R software (R Development Core Team 2007) using the Agricolae (Mendiburu, 2010) and PcaMethods (Stacklies *et al.*, 2007) packages.

## 3.4 RESULTS AND DISCUSSION

### 3.4.1 Grouping the entries

The 161 entries were first classified into groups on the basis of the names assigned by the farmers and the place where they were collected. This grouping resulted in 34 presumably distinct landraces, which were assigned to previously defined market classes (Santalla *et al.*, 2001) whenever possible (Table 1).

Some of these 34 groups were quite similar. So we designated 20 new, more general groups (Table 2) comprising landraces belonging to the same market class or those whose seeds were very similar according to the field trials (Table 1). However, when two groups belonged to the same market class but presented a different growth habit, we considered them to be different, because growth habit influences sensory attributes (Ferreira *et al.*, 2012). Each of these new 20 wider groups was named after the most commercially important landrace within the group (Table 2, Figure 1).

Among these 20 groups, there was considerable variability in growth habit, fibrosity of the pod, color and size of the seeds, and yields (Table 1, Table 2, and Figure 1). These groups also reflect the wide variability among the landraces of *Phaseolus vulgaris* L. cultivated in Spain (Puerta-Romero, 1961). The lowest coefficient of variation was for earliness (Table 2), probably resulting from the adaptation to a homogeneous climate (mild Mediterranean climate).

**Table 1.** Some qualitative characteristics of the distinct landraces considered, together with the number of entries assigned to each landrace and market class assignment for each landrace.

Names assigned by the farmers	International market class	Growth <sup>a</sup> habit	Flower			Pod			Seed		n <sup>d</sup>
			Color of wings	Color of standard	Shape <sup>b</sup> of bracteole	Ground color	Wall <sup>c</sup> fiber	Primary color	Secondary color	Seed-coat pattern	
Abril	Small White	IV	White	White	1	Green	5	White	-	No pattern	1
Avellaneta	Marrow	II	White	White	2	Green	3	White	-	No pattern	2
Bastó	Sargaço	I	Lilac	Lilac	4	Carmine red	2	Brown	Brown	No pattern	1
Beige+Dibuix	Carioca	IV	Lilac	Lilac	2	Pale red stripe on green	5	Brown	Black	Broad striped	1
Bermà	Ojo de Cabra	IV	Lilac	Lilac	2	Pale red stripe on green	3	Brown	Gray	Broad striped	1
Bitxo	Bayo Gordo	IV	Lilac	Lilac	5	Carmine red	4	Brown	Brown	No pattern	7
Bitxo Groc	-	IV	Lilac	Lilac	2	Pale red stripe on green	3	White	Pink	Striped	1
Carai	Great Northern	IV	White	White	2	Green	5	White	-	No pattern	4
Careta	Red Caparron	IV	White	Lilac	3	Green	3	White	Maroon	Broad striped	1
Castellfollit	Great Northern	IV	White	White	1	Green	3	White	-	No pattern	10
Confit	Marrow	I	White	White	2	Green	3	White	-	No pattern	5
Confit Careta	Red Caparron	IV	White	Lilac	4	Green	3	White	Maroon	Broad striped	1
De 40 dies	White Kidney	IV	White	White	4	Green	3	White	-	No pattern	1
Del 29	Great Northern	IV	White	White	2	Green	5	White	-	No pattern	3
Del Carme	Bayo Gordo	IV	Lilac	Lilac	2	Carmine red	4	Brown	Brown	No pattern	1
Fals Ganxet	White Kidney	I	White	White	3	Carmine red stripe on green	3	White	-	No pattern	1
Fartetes	Great Northern	IV	White	White	1	Green	3	White	-	No pattern	2
Floreta	Hen eye	IV	White	White	3	Green	5	White	Brown, Maroon	Spotted bicolor	4
Ganxet	Hook	IV	White	White	1	Green	2	White	-	No pattern	67
Genoll de Crist	Rounded Caparron	IV	White	Lilac	2	Carmine red stripe on green	5	White	Brown, Maroon	Spotted bicolor	15
Gran Nord	Great Northern	IV	White	White	1	Green	2	White	-	No pattern	1

Joana	Great Northern	IV	White	White	2	Green	5	White	-	No pattern	1
Negres	-	IV	Lilac	Lilac	1	Carmine red stripe on green	4	Black	-	No pattern	1
Neu	-	IV	Lilac	Lilac	4	Pale red stripe on green	4	White	Pink	Striped	1
Peron	Ojo de Cabra	IV	White	White	2	Pale red stripe on green	3	Brown	Gray	Broad striped	1
Perona	Ojo de Cabra	IV	White	White	3	Pale red stripe on green	2	Brown	Gray	Broad striped	1
Pilarica	Rounded Caparron	IV	White	Lilac	4	Carmine red stripe on green	3	White	Brown, Maroon	Spotted bicolor	2
Pinta	Cranberry	IV	Lilac	Lilac	4	Pale red stripe on green	4	Brown	Maroon	Striped	1
Piula	Pinto	IV	White	White	2	Green	3	Brown	Green to olive	Striped	1
Planxada	Great Northern	IV	White	White	3	Green	5	White	-	No pattern	5
Planxeta	Great Northern	IV	White	White	2	Green	3	White	-	No pattern	5
Santa Pau	Navy	I	White	White	2	Carmine red	3	White	-	No pattern	1
Sastre	Red Pinto	IV	Lilac	Lilac	2	Carmine red stripe on green	4	Maroon	Pale cream to buff	Constant mottled	9
Vilanoví	Great Northern	IV	White	White	1	Green	5	White	-	No pattern	2

<sup>a</sup>I- determinate, II- indeterminate upright, III- indeterminate prostrate, IV- indeterminate climbing.

<sup>b</sup>1- triangular, 2-lanceolate, 3-oval-lanceolate, 4- oval, 5- cordate.

<sup>c</sup>on a scale from 1 (very fibrous with many filaments ) to 5 (scantly fibrous with few filaments).

<sup>d</sup>number of entries for each landrace.

**Table 2.** Mean  $\pm$  standard error for some agronomic and morphological traits in the twenty groups of landraces established in the second classification.

Landrace groups	Yield (Kg/ha)	Commercial yield (Kg/ha)	100-seed weight (g)	Days to 50% flowering	Number of landraces per group
Abril	1574 $\pm$ 316	1402 $\pm$ 288	33.06 $\pm$ 0.67	43.94 $\pm$ 0.77	1
Avellaneta	2113 $\pm$ 379	498 $\pm$ 103	44.09 $\pm$ 0.57	36.23 $\pm$ 1.04	1
Bastó	2570 $\pm$ 193	1921 $\pm$ 74	51.36 $\pm$ 2.57	35.53 $\pm$ 0.36	1
Beige+Dibuix	1192 $\pm$ 57	997 $\pm$ 47	28.11 $\pm$ 1.26	43.57 $\pm$ 0.58	1
Bitxo	2089 $\pm$ 170	1869 $\pm$ 155	45.65 $\pm$ 0.83	50.50 $\pm$ 0.07	2
Carai	3555 $\pm$ 191	3076 $\pm$ 169	40.65 $\pm$ 0.67	45.41 $\pm$ 0.50	9
Careta	1001 $\pm$ 107	820 $\pm$ 105	52.76 $\pm$ 1.92	45.09 $\pm$ 0.77	2
Confit	968 $\pm$ 71	658 $\pm$ 60	52.94 $\pm$ 1.19	41.42 $\pm$ 0.89	1
De 40 dies	1008 $\pm$ 179	852 $\pm$ 159	50.45 $\pm$ 4.42	40.02 $\pm$ 1.46	1
Fals Ganxet	853 $\pm$ 140	677 $\pm$ 123	42.60 $\pm$ 2.06	35.91 $\pm$ 1.06	1
Floreta	3022 $\pm$ 407	2883 $\pm$ 427	53.31 $\pm$ 1.34	49.10 $\pm$ 0.77	1
Ganxet	1928 $\pm$ 32	1742 $\pm$ 31	48.14 $\pm$ 0.40	45.58 $\pm$ 0.06	1
Genoll de Crist	2815 $\pm$ 225	2483 $\pm$ 204	52.28 $\pm$ 0.68	44.67 $\pm$ 0.35	2
Negres	1166 $\pm$ 220	778 $\pm$ 183	24.50 $\pm$ 1.04	42.56 $\pm$ 0.20	1
Neu	2286 $\pm$ 534	2108 $\pm$ 504	55.83 $\pm$ 0.77	50.57 $\pm$ 0.06	2
Perona	2863 $\pm$ 509	2347 $\pm$ 437	55.02 $\pm$ 2.61	43.18 $\pm$ 0.41	3
Pinta	3648 $\pm$ 348	3376 $\pm$ 348	66.19 $\pm$ 2.29	44.80 $\pm$ 0.38	1
Piula	1204 $\pm$ 171	1056 $\pm$ 165	41.24 $\pm$ 0.84	43.17 $\pm$ 0.71	1
Santa Pau	1641 $\pm$ 200	1416 $\pm$ 201	19.75 $\pm$ 0.10	35.91 $\pm$ 1.06	1
Sastre	3384 $\pm$ 379	3157 $\pm$ 383	49.56 $\pm$ 0.55	50.72 $\pm$ 0.27	1
CV <sup>a</sup>	70	73.08	19.15	9.73	-
LSD <sup>b</sup>	1579.59	1463	7.83	4.38	-

<sup>a</sup>CV Coefficient of variation in %.

<sup>b</sup>LSD Least significant difference ( $p \leq 0.05$ ).

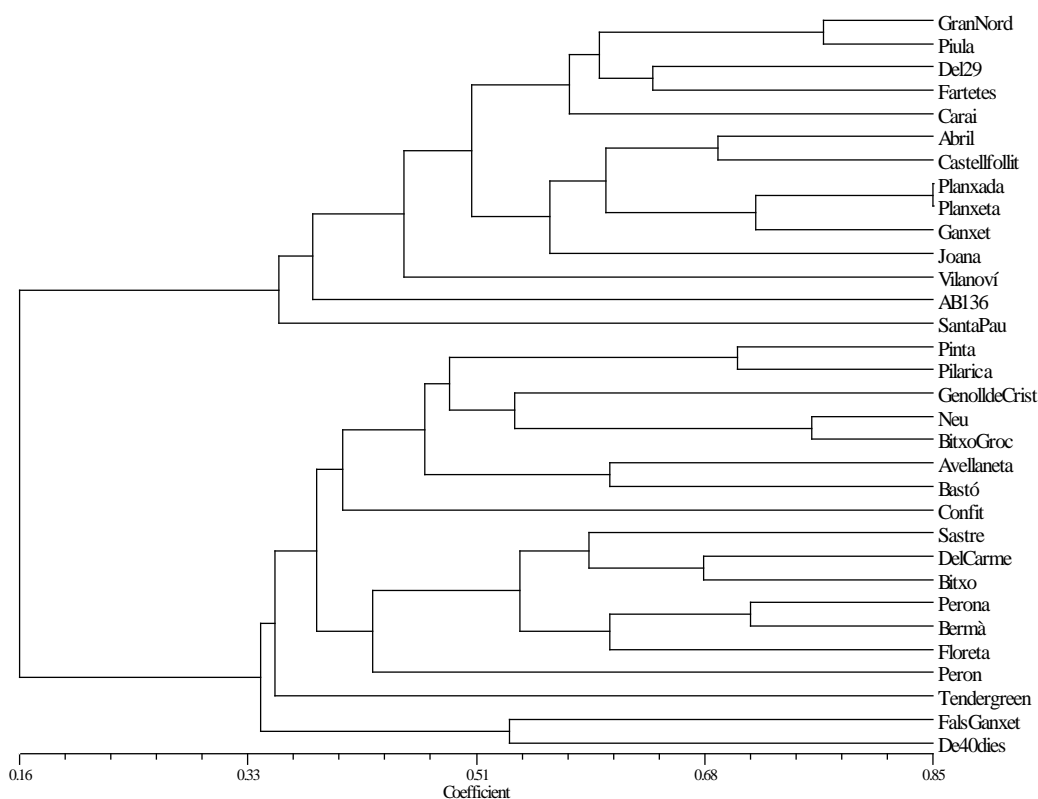


**Figure 1.** Representatives of the 20 groups of landraces, together with the two checks, submitted to sensory analysis.

### 3.4.2 Genetic background

In the genetic background analysis of the representatives from the first grouping, only one marker in seventeen was not polymorphic, and we found a total of 91 polymorphic alleles. The number of alleles per locus varied from 2 to 10, with a mean of 5.41. The PIC varied from 0.37 for marker Bmd22 to 0.83 for marker BM53, with a mean of 0.61, similar to the 0.66 reported for the Spanish core bean collection (Pérez-Vega *et al.*, 2009), which includes 200 entries.

The analysis of the genetic background reveals that some of our landraces are of Mesoamerican origin and others are of Andean origin (Figure 2). Most of the landraces grouped by the characteristics of their seeds and plants are also clustered by their genetic background. The clearest example is the group consisting of Carai/ Castellfollit/ Del 29/ Fartetes/ Grand Nord/ Joana/ Planxada/ Planxeta/ Vilanoví (Table 2), classified in the Great Northern market class (Table 1), which are all of Mesoamerican origin and have fairly similar genetic backgrounds (Figure 2). In other cases, the morphological grouping correlates even more closely with the genetic background, raising the suspicion that the different entries might merely represent different names for the same landrace. Examples of this include Perona/ Bermà, Bitxo Groc/ Neu, or Genoll de Crist/ Pilarica (Table 1 and Figure 2).



**Figure 2.** Dendrogram constructed using UPGMA clustering, based on Jaccard's distance analysis of a dataset of 17 molecular markers, performed with representatives of the groupings based on variety names and place collected. Tendergreen (Andean) and AB136 (Mesoamerican) were used as checks.

### 3.4.3 Variability of the sensory traits

Because tasting panels cannot evaluate many samples, the number of samples evaluated in the sensory analysis was limited; however, at least one representative of each of the 20 groups established on the basis of plant and seed traits and confirmed by the genetic background description (Table 2 and Figure 2) was included. Several entries per group were studied to estimate internal variation, and the number of entries chosen for each group was related to the number of landraces assigned to it. The results revealed wide variability in all attributes (Table 3). In the attributes measured on the 10-point scales, the values scored represented practically all the levels on the scale; the coefficients of variation ranged between 50.94% and 69.41% (Table 3). The coefficients of variation for cooking time and percentage of whole seeds after cooking were 33% and 47%, respectively (Table 3). The values of the checks Tolosa and Faba fell within the extreme values of the Catalan landraces for all the attributes (Table 3). The significant differences between entries found for all the sensory traits studied suggests that this kind of attributes could be included as descriptors for germplasm classification, given their importance in consumers' preferences.

Some significant differences were found even among entries classified in the same groups (Table 3), indicating that similarity in morphology and/or genetic background does not ensure that sensory characteristics will coincide (probably because sensory characteristics are not easy to drag along throughout the selection process).

The landraces studied were clustered using a PCA based on the sensory variables flavor, texture, and appearance (Figure 3). In this analysis, the first axis explained 35% of the total variation, the second axis explained 21%, and the third 12%. The first axis was positively correlated with mealiness, flavor, and percentage of whole seeds after cooking but negatively correlated with percentage of white color and seed-coat roughness, whereas the second axis was strongly correlated positively with seed-coat perceptibility (Figure 3).

Along the first axis, the varieties with more intense bean flavor and higher mealiness (Bermà, Perona, and Genoll de Crist) lie on the right, whereas the varieties with less intense flavor and higher creaminess (Santa Pau, Avellaneta, Ganxet, and Del 29) lie on the left (Figure 3). Moreover, the beans that were the mealiest and had the most intense flavor were colored with smooth seed coats, whereas those that were creamiest and of least intense flavor were white with rough seed coats (Figure 3).



**Table 3.** Mean  $\pm$  standard error of texture, flavor, and the culinary traits for the representatives of each group and for the two checks.

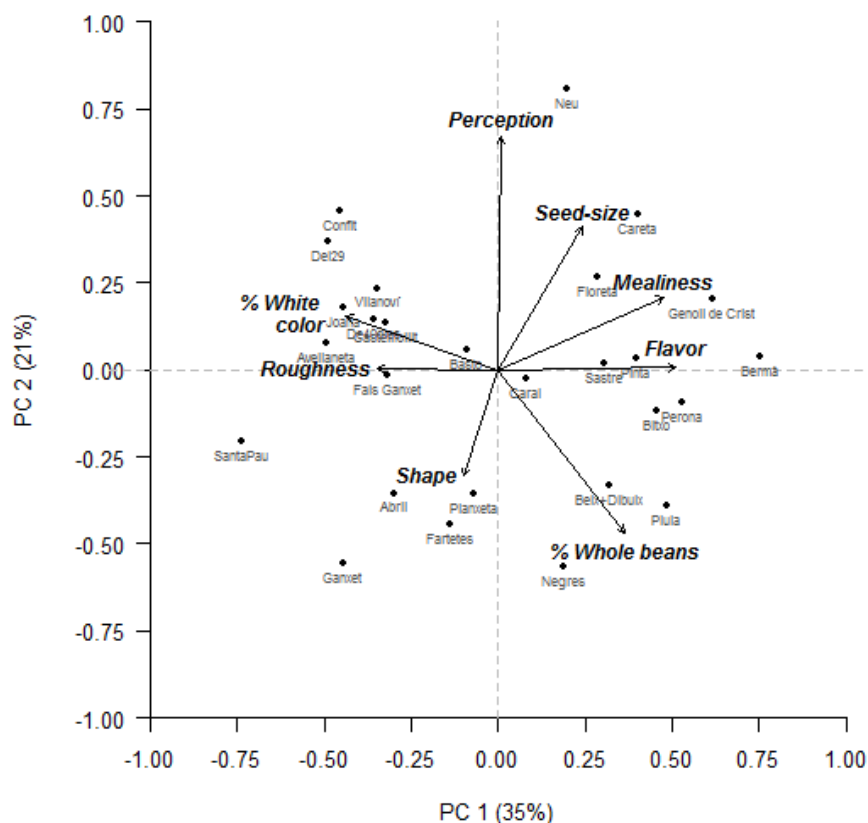
Landrace	Seed-coat perception	Seed-coat roughness	Mealiness	Flavor	Cooking time (min)	% Whole beans after cooking
Abril	1.35 $\pm$ 0.36	4.12 $\pm$ 0.39	5.00 $\pm$ 0.71	3.10 $\pm$ 0.54	151 $\pm$ 2.33	38 $\pm$ 0.22
Avellaneta	3.68 $\pm$ 0.35	7.53 $\pm$ 0.21	4.45 $\pm$ 0.34	2.66 $\pm$ 0.34	71 $\pm$ 2.99	35 $\pm$ 0.24
Basto	5.16 $\pm$ 0.47	5.35 $\pm$ 0.24	4.79 $\pm$ 0.58	4.20 $\pm$ 0.68	111 $\pm$ 5.63	14 $\pm$ 1.58
Beige+Dibuix	3.98 $\pm$ 0.44	2.65 $\pm$ 0.47	6.42 $\pm$ 0.58	4.91 $\pm$ 0.34	207 $\pm$ 1.69	77 $\pm$ 1.12
Bermà <sup>a</sup>	3.63 $\pm$ 0.50	4.07 $\pm$ 0.45	7.92 $\pm$ 0.54	8.03 $\pm$ 0.27	118 $\pm$ 0.78	51 $\pm$ 0.65
Bitxo	4.54 $\pm$ 0.34	1.94 $\pm$ 0.31	6.04 $\pm$ 0.46	5.67 $\pm$ 0.32	100 $\pm$ 0.53	46 $\pm$ 0.18
Carai <sup>b</sup>	4.01 $\pm$ 0.53	2.89 $\pm$ 0.47	5.67 $\pm$ 0.59	4.26 $\pm$ 0.43	75 $\pm$ 3.47	55 $\pm$ 0.14
Careta	6.66 $\pm$ 0.32	3.09 $\pm$ 0.37	6.83 $\pm$ 0.40	4.75 $\pm$ 0.39	73 $\pm$ 0.39	49 $\pm$ 0.16
Castellfolli <sup>b</sup>	5.40 $\pm$ 0.31	2.15 $\pm$ 0.32	4.19 $\pm$ 0.46	2.61 $\pm$ 0.31	164 $\pm$ 3.15	27 $\pm$ 0.15
Confit	5.99 $\pm$ 0.29	5.91 $\pm$ 0.27	4.34 $\pm$ 0.44	2.20 $\pm$ 0.25	93 $\pm$ 0.02	23 $\pm$ 0.06
De 40 dies	5.58 $\pm$ 0.44	4.48 $\pm$ 0.49	3.85 $\pm$ 0.51	3.25 $\pm$ 0.43	96 $\pm$ 3.24	31 $\pm$ 0.12
Del 29 <sup>b</sup>	6.56 $\pm$ 0.45	3.95 $\pm$ 0.45	3.92 $\pm$ 0.52	2.02 $\pm$ 0.29	94 $\pm$ 1.17	15 $\pm$ 0.41
Faba	3.31 $\pm$ 0.31	3.88 $\pm$ 0.32	4.46 $\pm$ 0.35	3.02 $\pm$ 0.25	145 $\pm$ 3.57	68 $\pm$ 2.25
Fals Ganxet	4.79 $\pm$ 0.24	2.11 $\pm$ 0.41	3.70 $\pm$ 0.40	3.18 $\pm$ 0.41	105 $\pm$ 3.18	27 $\pm$ 2.30
Fartetes <sup>b</sup>	1.69 $\pm$ 0.28	3.52 $\pm$ 0.38	5.60 $\pm$ 0.29	3.01 $\pm$ 0.33	106 $\pm$ 4.42	62 $\pm$ 0.12
Floreta	4.59 $\pm$ 0.35	1.62 $\pm$ 0.26	6.47 $\pm$ 0.32	5.06 $\pm$ 0.31	142 $\pm$ 0.05	37 $\pm$ 0.20
Ganxet	1.58 $\pm$ 0.31	4.58 $\pm$ 0.35	2.01 $\pm$ 0.31	2.71 $\pm$ 0.33	208 $\pm$ 0.15	66 $\pm$ 0.06
Genoll de Crist	4.31 $\pm$ 0.38	1.76 $\pm$ 0.24	7.88 $\pm$ 0.34	5.87 $\pm$ 0.30	122 $\pm$ 0.20	54 $\pm$ 0.14
Joana <sup>b</sup>	5.18 $\pm$ 0.61	4.08 $\pm$ 0.41	4.31 $\pm$ 0.54	2.10 $\pm$ 0.32	85 $\pm$ 5.06	21 $\pm$ 1.09
Negres	3.58 $\pm$ 0.46	2.28 $\pm$ 0.30	4.02 $\pm$ 0.31	4.22 $\pm$ 0.48	166 $\pm$ 8.43	79 $\pm$ 0.23
Neu	8.18 $\pm$ 0.34	2.44 $\pm$ 0.48	6.86 $\pm$ 0.47	4.75 $\pm$ 0.60	69 $\pm$ 2.22	21 $\pm$ 0.83
Perona <sup>a</sup>	3.70 $\pm$ 0.47	2.79 $\pm$ 0.35	5.18 $\pm$ 0.47	5.10 $\pm$ 0.44	118 $\pm$ 5.44	74 $\pm$ 1.28
Pinta	3.80 $\pm$ 0.32	3.35 $\pm$ 0.35	4.75 $\pm$ 0.37	4.50 $\pm$ 0.37	133 $\pm$ 4.93	62 $\pm$ 0.20
Piula	2.51 $\pm$ 0.35	1.35 $\pm$ 0.21	5.31 $\pm$ 0.37	4.75 $\pm$ 0.36	99 $\pm$ 0.07	75 $\pm$ 0.05
Planxeta <sup>b</sup>	2.23 $\pm$ 0.27	4.19 $\pm$ 0.37	5.65 $\pm$ 0.42	3.30 $\pm$ 0.38	124 $\pm$ 0.42	69 $\pm$ 0.73
Santa Pau	2.49 $\pm$ 0.57	6.68 $\pm$ 0.62	2.37 $\pm$ 0.26	4.24 $\pm$ 0.63	65 $\pm$ 0.85	04 $\pm$ 0.22
Sastre	4.08 $\pm$ 0.31	4.87 $\pm$ 0.37	5.06 $\pm$ 0.40	5.82 $\pm$ 0.48	91 $\pm$ 1.67	46 $\pm$ 0.01
Tolosa	3.06 $\pm$ 0.41	1.19 $\pm$ 0.25	8.14 $\pm$ 0.33	5.47 $\pm$ 0.44	141 $\pm$ 2.84	69 $\pm$ 2.08
Vilanoví <sup>b</sup>	5.38 $\pm$ 0.46	2.75 $\pm$ 0.44	3.59 $\pm$ 0.38	3.62 $\pm$ 0.47	91 $\pm$ 1.69	10 $\pm$ 0.41
CV <sup>c</sup>	60	69.41	50.94	57.92	33.25	46.63
LSD <sup>d</sup>	1.32	1.23	1.48	1.35	9.45	3.12

<sup>a</sup>Landraces representative of the Ojo de Cabra market class.

<sup>b</sup>Landraces representative of the Great Northern market class.

<sup>c</sup>CV Coefficient of variation in %.

<sup>d</sup>LSD Least significant difference ( $p \leq 0.05$ ).



**Figure. 3** Principal component analysis using all the traits related to texture, flavor, and appearance of the beans.

### 3.4.4 Breeding for sensory attributes

We used the mean phenotypic values to estimate the genotypic correlations among the traits in order to determine to what extent it would be possible to achieve ideotypes. Significant ( $p \leq 0.001$ ) correlations were found between mealiness and flavor ( $r = 0.68$ ) and between flavor and percentage of white color ( $r = -0.65$ ). Additional significant ( $p \leq 0.01$ ) correlations were found between seed-coat perceptibility and percentage whole beans after cooking ( $r = -0.52$ ), between seed-coat roughness and days-to-flowering ( $r = -0.52$ ), and between cooking time and percentage whole seeds after cooking ( $r = 0.52$ ) (Table 4). Significant ( $p \leq 0.05$ ) correlations were found between different agronomic variables, between agronomic and sensory variables, and between sensory variables: for example, between seed-coat perception and cooking time ( $r = -0.40$ ), between seed-coat perception and 100-seed weight ( $r = 0.39$ ), between seed-coat roughness and mealiness ( $r = -0.42$ ), between seed-coat roughness and growth habit ( $r = -0.39$ ), or between percentage whole seeds after cooking and percentage of white color ( $r = -0.47$ ) (Table 4). Although our sample is somewhat limited for a thorough correlation study and our design is only intended as a first approach, if these correlations are caused by pleiotropic effects, it will not be easy to obtain some

transgressive ideotypes (high flavor with low mealiness and low seed-coat perception, for example).

**Table 4.** Genotypic correlations (calculated from the mean phenotypic values) among all the traits with continuous variability.

	Roughness	Mealiness	Flavor	Cooking time (min)	% Whole beans	Commercial yield (Kg ha <sup>-1</sup> )	100-seed weight (g)	Days to 50% flowering	% of White color	Growth habit
Seed-coat perception	-0.15	0.18	-0.04	-0.4*	-0.52**	-0.02	0.39*	0.27	0.07	-0.2
Roughness		-0.42*	-0.32	-0.28	-0.38	-0.06	-0.06	-0.52**	0.24	-0.39*
Mealiness			0.68***	-0.07	0.32	0.2	0.34	0.32	-0.31	0.21
Flavor				0.002	0.33	0.17	0.25	0.3	-0.65***	0.29
Cooking time (min)					0.52**	-0.09	-0.24	0.07	-0.11	0.18
% Whole beans						0.02	0.01	0.14	-0.47*	0.36
Commercial yield (Kg ha <sup>-1</sup> )							0.38*	0.47 *	-0.01	0.31
100-seed weight (g)								0.33	-0.25	-0.09
Days to 50% flowering									-0.1	0.4*
% of White color										-0.07

\*\*\* P < 0.001; \*\* P < 0.01; \* P < 0.05; P < 0.1.

One of the main hurdles to overcome in breeding beans for sensory attributes is the need to use trained panels to study the variability and/or perform the selection. Given that we found genotypic correlations between easily measurable traits (agronomic and culinary traits and appearance of the seed) and those that are more difficult to measure because they require a tasting panel (texture and flavor), we elaborated multiple linear regression equations to try to enable large numbers of samples to be evaluated without the need for a panel (Table 5).

Given that the values of R<sup>2</sup> range from 0.47 to 0.64 (Table 5), we consider that the proposed models have sufficient goodness of fit to enable large numbers of entries to be screened to choose which ones to present to the panel. We have started to use this approach, and the results have been satisfactory.

### 3.5 CONCLUSIONS

The entries of landraces collected in Catalonia have high variability in both agronomic/morphological traits and genetic background. Furthermore, grouping on the basis of

agronomic and morphological traits generally led to the same results as grouping on the basis of neutral molecular markers.

We found wide genetic variability in sensory attributes, with coefficients of variation ranging from 20% to 70% and similar magnitude for the genetic variability recorded in the agronomic traits. The low variability in the trait days-to-flowering is explained by the adaptation of all the landraces to the climatic conditions in Catalonia.

The seven entries belonging to the Carai group (uniform in agronomic and morphologic traits and in genetic background) submitted to sensory analysis showed significant differences in all the traits studied. This suggests that, at least in some cases, sensory attributes have evolved separately from agronomic and morphologic traits.

Thus, sensory description is needed to complete the information we have on germplasm collections, especially when we consider their practical use as a base for breeding purposes. Nevertheless, a rough study of the genotypic correlations suggests that it will not be easy to obtain varieties fulfilling some ideotypes, such as those with colored and high flavored seeds with low seed-coat perceptibility and low mealiness, due to probable negative pleiotropic relationships between these traits.

For germplasm characterization and sensory breeding, we propose using multiple linear regression equations based on easy measurable traits for a preliminary analysis of the sensory variability to lighten the panel's workload. We consider that the values of  $R^2$  obtained for the regression equations (0.47-0.64) are good enough to enable fast screening of large numbers of samples.

### **Acknowledgments**

This project was funded through grants RF 2003-00024-C06-06, RF 2007-00014-C04-04, and AGL 2007 -66563-C02-01. The authors thank the members of the Fundació Miquel Agustí's tasting panel.

**Table 5.** Coefficients of the multiple linear regression model for estimating texture and flavor traits. The independent variables were selected with a stepwise algorithm. The coefficients for qualitative independent variables must be included in the equation only if the statement is true.

y	Quantitative traits					Qualitative traits								Adjusted R <sup>2</sup>
	b	a <sub>1</sub>	a <sub>2</sub>	a <sub>3</sub>	a <sub>4</sub>	a <sub>5</sub>	a <sub>61</sub>	a <sub>62</sub>	a <sub>63</sub>	a <sub>64</sub>	a <sub>7</sub>	a <sub>81</sub>	a <sub>82</sub>	
Seed -coat Perception	4.56	-0.04	0.00	0.05	0.00	-1.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.47
Flavor	5.23	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.76	0.89	0.59	-0.53	1.54	-0.92	0.00	0.00	0.64
Mealiness	6.48	0.02	-0.01	0.00	0.00	-1.10	1.08	-0.95	-0.33	2.29	0.00	0.00	0.00	0.57
Roughness	8.35	-0.02	0.00	0.03	-0.16	0.00	0.66	3.22	1.13	-0.69	0.00	2.86	0.36	0.51

Interception (b); % Whole beans (a<sub>1</sub>); Cooking time (a<sub>2</sub>); 100-seed weight (a<sub>3</sub>); Days to 50% flowering (a<sub>4</sub>); Standard color: white (a<sub>5</sub>); Color, seed-coat pattern: broad striped (a<sub>61</sub>), constant mottled (a<sub>62</sub>), no pattern (a<sub>63</sub>), spotted bicolor (a<sub>64</sub>); Main seed color: white (a<sub>7</sub>); Growth habit: II (a<sub>81</sub>), IV (a<sub>82</sub>).

Equation:  $y = b + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_4 + (a_5x_5) + ((a_{61}, a_{62}, a_{63}, a_{64})x_6) + (a_7x_7) + ((a_{81}, a_{82})x_8)$ .

### 3.6 REFERENCES

- Anderson, J.A., Churchill, G.A., Autrique, J.E., Tanksley, S.D., Sorrells, M.E., 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome* 36, 181–186.
- Asgar, M.A., Fazilah, A., Huda, N., Bhat, R., Karim, A.A., 2010. Nonmeat protein alternatives as meat extenders and meat analogs. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 9, 513–529.
- Blair, M.W., Pedraza, F., Buendia, H.F., Gaitán-Solís, E., Beebe, S.E., Gepts, P., Tohme, J., 2003. Development of a genome-wide anchored microsatellite map for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genet.* 107, 1362–1374.
- Blair, M.W., Giraldo, M.C., Buendía, H.F., Tovar, E., Duque, M.C., Beebe, S.E., 2006. Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genet.* 113, 100–109.
- Champ, M.M.J., 2001. Benefits of pulses in human diet, in: Proceedings of the 4th European Conference on Grain Legumes: Towards the Sustainable Production of Healthy Food, Feed and Novel Products. AEP, Cracow, Poland., pp. 109–113.
- Coyne, D.P., 1980. Modification of plant architecture and crop yield by breeding. *HortScience* 15, 244–247.
- De la Cuadra, C., De Ron, A.M., Schachl, R., 2001. Handbook on Evaluation of Phaseolus Germplasm, in: De La Cuadra, C., De Ron, A.M., Schachl, R., (Eds.), PHASELIEU-FAIR-PL97-3463-MBG-CSIC. Pontevedra, Spain. pp.39-43.
- Dobson, A.J., 2002. Normal linear models, in: An Introduction to Generalized Linear Models. Chapman & Hall/CRC, Boca Raton. Chapter 6.
- Ferreira, J.J., Romero del Castillo, R., Pérez-Vega, E., Plans, M., Simó, J., Casañas, F., 2012. Sensory changes related to breeding for plant architecture and resistance to viruses and anthracnose in bean market class Fabada (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica* 186, 687–696.
- Flórez, A., Pujolà, M., Valero, J., Centelles, E., Almirall, A., Casañas, F., 2009. Genetic and environmental effects on chemical composition related to sensory traits in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chem.* 113, 950–956.
- Gaitán-Solís, E., Duque, M.C., Edwards, K.J., Tohme, J., 2002. Microsatellite repeats in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): isolation, characterization, and cross-species amplification in *Phaseolus* ssp. *Crop Sci.* 42, 2128–2136.
- Gepts, P., 1998. Origin and evolution of common bean: past events and recent trends. *HortScience* 33, 1124–1130.
- Gepts, P., Debouck, D., 1991. Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), in: Schoonhoven, A. van, Voysest, O. (Eds.), Common Beans: Research for Crop Improvement. CAB International-CIAT, Wallingford, UK, pp. 7–54.

- Hangen, L., Bennink, M.R., 2002. Consumption of black beans and navy beans (*Phaseolus vulgaris*) reduced azoxymethane-induced colon cancer in rats. *Nutr. Cancer* 44, 60–65.
- IBPGR, 1982. *Phaseolus vulgaris* descriptors. Rome.
- ISO 8589., 2007. Sensory analysis – General guidance for the design of test rooms. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Jaccard, P., 1928. *Handbuch Biologischer Arbeitsmethoden*. pp. 165–202.
- Larsen, R.C., Miklas, P.N., 2004. Generation and molecular mapping of a sequence characterized amplified region marker linked with the bct gene for resistance to Beet curly top virus in common bean. *Phytopathology* 94, 320–325.
- Mathers, J.C., 2002. Pulses and carcinogenesis: potential for the prevention of colon, breast and other cancers. *Br. J. Nutr.* 88, 273–279.
- Mendiburu, F., 2010. *Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*. R package version 1.0-9. Available in: <http://CRAN.R-project.org/package=agricolae>. (Accessed 16/12/2011).
- Miklas, P.N., Delorme, R., Stone, V., Daly, M.J., Stavely, J.R., Steadman, J.R., Bassett, M.J., Beaver, J.S., 2000. Bacterial, fungal, and viral disease resistance loci mapped in a recombinant inbred common bean population ('Dorado'/XAN 176). *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 125, 476–481.
- Mkanda, A.V., Minnaar, A., L de Kock, H., 2007. Relating consumer preferences to sensory and physicochemical properties of dry beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Sci. Food Agric.* 87, 2868–2879.
- Montgomery, D.C., 2001. *Design and Analysis of Experiments*, 5th ed, in: Inc, J.W.& S. (Ed.),. New York, pp. 619–624.
- Papa, R., Nanni, L., Sicard, D., Rau, D., Attene, G., 2006. The evolution of the genetic diversity in *Phaseolus vulgaris* L., in: Motley, T.J., Zerega, N., Cross, H. (Eds.), *Darwin's Harvest: New approaches to the origins, evolution, and conservation of crops*. Columbia University Press, New York, pp. 121–143.
- Pérez-Vega, E., Campa, A., De la Rosa, L., Giraldez, R., Ferreira, J.J., 2009. Genetic diversity in a core collection established from the main bean genebank in Spain. *Crop Sci.* 49, 1377–1386.
- Pérez-Vega, E., Pañeda, A., Rodríguez-Suárez, C., Campa, A., Giraldez, R., Ferreira, J.J., 2010. Mapping of QTLs for morpho-agronomic and seed quality traits in a RIL population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genet.* 120, 1367–1380.
- Puerta-Romero, J., 1961. *Varietades de judías cultivadas en España*. Monogr. Inst. Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria 11. Ministerio de Agricultura, Madrid, España. pp.70-71.

- R Development Core Team, 2007. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Available in: <http://www.R-project.org>. (Accessed 15/12/2011).
- Rohlf, F.J., 2002. NTSYS-PC: numerical taxonomy and multivariate analysis system Version 2.11. Exeter Software, Setauket, New York.
- Romero del Castillo, R., Almirall, A., Valero, J., Casañas, F., 2008a. Protected designation of origin in beans (*Phaseolus vulgaris* L.): Towards an objective approach based on sensory and agromorphological properties. *J. Sci. Food Agric.* 88, 1954–1962.
- Romero del Castillo, R., Costell, E., Plans, M., Simó, J., Casañas, F., 2012. A standardized method of preparing common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) for sensory analysis. *J. Sens. Stud.* 27, 188–195.
- Romero del Castillo, R., Valero, J., Casañas, F., Costell, E., 2008b. Training, validation and maintenance of a panel to evaluate the texture of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Sens. Stud.* 23, 303–319.
- Sánchez, E., Sifres, A., Casañas, F., Nuez, F., 2007. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Catalonia, a Mesoamerican germoplasm hotspot to be preserved. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 82, 529–534.
- Santalla, M., De Ron, A.M., Voysest, O., 2001. European Bean Market Classes, in: Amurrio, M., Santalla, M., De Ron, A.M. (Eds.), *Calogue of Bean Genetic Resources. PHASELIEU-FAIR-3463-MBG-CSIC*, Fundación Pedro Barrié de la Maza, Pontevedra, Spain. pp.79-94.
- Santalla, M., Rodiño, P., De Ron, M., 2002. Allozyme evidence supporting southwestern Europe as a secondary center of genetic diversity for the common bean. *Theor. Appl. Genet.* 104, 934–944.
- Singh, S., 1982. A key for identification of different growth habits of *Phaseolus vulgaris* L. *Annu Rep Bean Improv Coop* 25, 92–95.
- Singh, S.P., Gepts, P., Debouck, D.G., 1991. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Econ. Bot.* 45, 379–396.
- Stacklies, W., Redestig, H., Scholz, M., Walther, D., Selbig, J., 2007. *pcaMethods*—a bioconductor package providing PCA methods for incomplete data. *Bioinformatics* 23, 1164–1167.
- Vasconcelos, R.A., Nascimento, P., Zaczuk, P., Brondani, C., Cunha, L., Tadeu, S., Pereira, R., 2012. QTL mapping for the cooking time of common beans. *Euphytica* 186, 779–792.





## Capítulo 4

---

### CULINARY AND SENSORY TRAITS IN THE SPANISH CORE COLLECTION OF COMMON BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.)

Ana Rivera, Pedro A. Casquero, Sara Mayo, Antoni Allmirall, Marçal Plans,  
Joan Simó, Roser Romero del Castillo and Francesc Casañas

*Spanish Journal of Agricultural Sciences (Submitted)*

#### 4.1 ABSTRACT

The Spanish National Plant Genetic Resource Center's core collection of bean germplasm comprises 202 entries selected from more than 3000 accessions in function of passport data, seed phenotype, genetic background, and agronomic traits. To acquire more useful information about these entries, we cultivated and characterized them on sensory and culinary traits. We found considerable variability in culinary and internal sensory traits of the cooked beans (mean coefficients of variation: 41 for the sensory traits and 40 for the culinary traits). The large dataset enabled us to study correlations between sensory and culinary traits and between these traits and geographic origin, seed color, and growth habit. Greater proportion of white in the seed coat correlated positively with brightness and negatively with mealiness ( $r=0.60$ ,  $r=-0.60$ ,  $p<0.001$ , respectively). Mealiness correlated negatively with seed-coat roughness and rate of water absorption ( $r=-0.60$ ,  $r=-0.53$ ,  $p<0.001$ , respectively). Materials of Andean origin had lower seed-coat brightness ( $p<0.01$ ) and seed-coat roughness, and greater seed-coat perceptibility, mealiness, flavor, and aroma ( $p<0.001$ ) than materials of Mesoamerican origin. Growth habit failed to correlate with culinary or sensory traits. These data add information about the Spanish core collection of beans, increasing its value as a source of material that can be used to obtain new varieties. Breeders can benefit from the information about the core collection available at [www.crf.inia.es/crfesp/paginaprincipaljudia.asp](http://www.crf.inia.es/crfesp/paginaprincipaljudia.asp).

**Additional Key Words:** Genetic resources, Spanish core collection, Variability for sensory and culinary traits, Region of domestication.

#### 4.2 INTRODUCTION

The Spanish National Plant Genetic Resource Center has collected and conserved over 3000 accessions of bean ([www.inia.es/inventarionacional](http://www.inia.es/inventarionacional)). To make it easier to use the material from this vast germplasm bank, a core collection was compiled based on the passport data and seed phenotype (De la Rosa *et al.*, 2000). Later, the information about the entries was expanded to include agronomic and morphologic traits of the plants, type of phaseolin (Pérez-Vega *et al.*, 2009), and some resistances (Pérez-Vega *et al.*, 2006; Asensio *et al.*, 2010; Pascual *et al.*, 2010).

Beans are a good source of proteins, starch, dietary fiber, vitamins and minerals, and other nutritional components, as well as of polyphenolic compounds, and they might help prevent cardiovascular disease, obesity, and cancer (Hayat *et al.*, 2014). Furthermore, in association with some rhizobium strains, beans can replace fertilization with chemical N (Mulas *et al.*, 2011). These health and environmental benefits have led to renewed interest in beans in developed countries, where demanding consumers force growers to consider culinary traits and sensory value.

Culinary traits (rate of hydration, cooking time, percentage of whole beans after cooking, etc.) can be characterized in the laboratory with considerable repeatability, but this process is time consuming (Romero del Castillo *et al.*, 2012). Fine characterization of internal sensory traits requires trained panels and appropriate conditions (Romero del Castillo *et al.*, 2008) that allow only limited sets of samples to be managed. For these reasons, systematic information about the culinary and internal sensory traits of the materials in germplasm banks is lacking (Romero del Castillo *et al.*, 2010). The appearance of the seeds (external sensory traits) remains the primary criterion for classification and guiding consumers' choices (Jahns *et al.*, 2001; Costa *et al.*, 2011). Therefore, it would be useful to have a complete description of materials that includes information about culinary, external and internal sensory traits.

In a previous study, our group found considerable variability in culinary and sensory traits in a set of accessions from Catalonia (Rivera *et al.*, 2013). In the same study, we correlated the color of the seeds with some of their sensory and culinary traits. Previously, Singh *et al.* (1991) reported that beans' genetic background with respect to where they were originally domesticated (the Andes vs. Middle America) correlates with several traits of the plant, seed, and phaseolin seed protein patterns. Furthermore, the most appreciated bean landraces in Spain have indeterminate growth habit (Casquero *et al.*, 2006), suggesting some kind of relationship between growth habit and sensory quality. Studying the Spanish core collection of bean germplasm, a broader collection of materials with proven genetic variability, could help us to better understand the relationships between all these traits. Moreover, complementing the information already compiled with information about culinary and sensory traits should help breeders make better use of the collection while paving the way for similar studies in other collections.

In the present study, we characterized the entries on culinary and sensory traits: i) to determine the variability of these traits in the Spanish core collection and ii) to analyze the relations among these traits and between them and domestication origin, seed coat color, and growth habit.

## **4.3 MATERIAL AND METHODS**

### **4.3.1 Plant material and field trials**

The Spanish core collection of beans comprises 202 entries including 51 market classes (Santalla *et al.*, 2001) from all areas of Spain where beans are cultivated. About 75% are of Andean origin and 25% are of Mesoamerican origin (Pérez-Vega *et al.*, 2009).

The 202 entries were sown in Sabadell (Northeast Spain: 41° 32' 50.7" N, 2° 4' 14.7" E), a location with loam soil with abundant Ca, low P, and a mild Mediterranean climate that allows both short- and long-cycle materials to develop to maturity. We used a randomized two-block design with 21

effective plants per plot. The experiment was conducted at a low density (29,167 plants/ha) to facilitate individualized recording of data. A vertical plastic net was used to trellis the entries with indeterminate growth. Plants were cultivated with the traditional management in the area, including drip irrigation and fertilizer when necessary. During cultivation, growth habit (Singh, 1982) was recorded.

Seeds were harvested by plots, but owing to the lack of significance of the block factor for agronomic traits, the seeds from the two blocks in each entry were combined to ensure a sufficient sample for the culinary and sensory analyses.

### 4.3.2 Sensory and culinary traits

#### 4.3.2.1 Appearance of the uncooked seeds

Seed-coat color was visually classified in the following categories: yellow, white, cream, gray-brownish to greenish, brown, vinous brown, black, ochre, purple, rosy, green, bicolor, or tricolor. To estimate the percentage of white in the seed coat, and the length, width, projected area, and curvature of the seed, samples of 100 seeds per entry were scanned and processed using WinSeedle Pro v2005b (Regent 156 Instruments, Inc. Quebec, Canada). Thickness (perpendicular to length and width) was measured in 10 seeds per entry with digital calipers. The length/width index was calculated to determine seed shape (Puerta-Romero, 1961). Volume ( $v$ ) and surface area ( $s.a$ ) were calculated using geometric formulas adjusted to seed shape: spherical,  $v = \frac{4}{3}\pi r^3$  and  $s.a = 4\pi r^2$ ;

rectangular,  $v = lwh$  and  $s.a = 2 \times (wh + lw + lh)$ ; or ellipsoid,  $v = \frac{4}{3}\pi abc$  and

$s.a = \frac{\pi^2}{4} a \times \left( b + c + 2\sqrt{b^2 + c^2} \right)$ , where  $w$  represents width,  $l$  length,  $h$  height,  $a$  length-axis

radius,  $b$  height-axis radius, and  $c$  width-axis radius. We also recorded the 100-seed weight for each accession.

#### 4.3.2.2 Culinary traits

A sample of 100 g of beans of each entry was soaked in 300 ml distilled water. At 3h, 6h, 9h, and 24h the beans were drained and weighed to determine water absorbed during soaking, measured as  $100 \times (\text{weight at time } t_1 - \text{weight at time } t_0) / \text{weight at time } t_0$ . The resultant data were used to calculate the rate of water absorption during soaking:  $100 \times (\text{water absorption at 9 h} / \text{water absorption at 24 h})$ . After the last weight measurement, beans were cooked as described by Romero del Castillo *et al.* (2012). Cooking time was recorded as the time elapsed from breaking a boil to the end of cooking process. The sample of beans was weighed after being allowed to drain for 10

minutes; the result was recorded as wet weight and was used to estimate the percentage of whole seeds after cooking:  $100 \times (\text{weight of the whole seeds} / \text{wet weight})$ . This sample was then dried in an oven at 60°C for 48 h and weighed again; the result was recorded as dry weight. Water absorption during cooking, expressed as a percentage of the dry matter, was calculated using the following formula  $100 \times ((\text{wet weight} - \text{dry weight}) / \text{dry weight})$  - water absorption at 24h soaking.

#### 4.3.2.3 Sensory traits in the cooked seeds

The sensory traits seed-coat perceptibility, seed-coat roughness, mealiness, flavor, seed-coat brightness, and aroma (Romero del Castillo *et al.*, 2008) were calculated using regression models from near-infrared spectroscopy (NIR) measurements. The ground, cooked samples were analyzed and recorded using a model 5000 spectrophotometer (Foss-NIRSystems; Silver Spring, MD, USA) equipped with a rapid content analyzer module. The lab procedures and the regression models used are described in detail in Plans *et al.* (2014).

#### 4.3.3 Statistical analysis

To estimate the variability, we calculated the means, variances, and covariances of the recorded traits.

Entries were grouped successively in function of the type of phaseolin (indicating Andean or Mesoamerican origin of domestication), seed-coat color, and growth habit. For each type of classification, analysis of variance (ANOVA) was done based on the linear model  $y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$ , where  $y_i$  was an individual level for a specific trait,  $\mu$  was the grand mean,  $\alpha_i$  was the effect of  $i$  group based on type of phaseolin, seed-coat color, or growth habit, and  $\varepsilon_{ij}$  was the random error for  $i$  groups with  $j$  replications of the model following a  $N(0, \sigma^2)$ . All factors were considered fixed. Finally, for type of phaseolin and seed-coat color, we performed normalized principal component analysis (PCA) and we calculated 95% confidence ellipses around each cluster of entries. We used the R software (R Development Core Team 2007) *Agricolae*, *PCAmethods*, and *Ellipse* packages for all statistical analyses (Murdoch and Chow, 2007; Stacklies *et al.*, 2007; Mendiburu, 2010).

### 4.4 RESULTS

#### 4.4.1 Sensory and culinary traits in the core collection

At the end of the trial, complete datasets were available for 174 of the 202 entries in the core collection. For the sensory traits of the uncooked seeds, the coefficients of variation ranged from 11% for width to 162% for the percentage of white (Table 1). In the culinary traits, the coefficients of variation ranged from 13% for water absorption at 24h to 81% for water absorption at 3h, (Table

2). For the sensory traits after cooking, the coefficients of variation ranged from 24% for aroma to 76% for seed-coat roughness (Table 2).

**Table 1.** Sensory traits of the uncooked beans. Mean, coefficient of variation, and extreme values for the traits studied.

	Mean	CV <sup>a</sup>	Max	Min
100- seed weight (g)	41.1	26.4	79	16
Width (mm)	8	11.4	10.2	5.8
Length (mm)	13	16.9	21.6	8.2
Thickness (mm)	6.1	15.2	8	4.1
Length/width	1.7	17.7	2.4	1.1
Volume (mm <sup>3</sup> )	541.6	41.1	1346.4	129.7
Surface area (mm <sup>2</sup> )	421.7	34.8	876.3	123
Projected area (mm <sup>2</sup> )	84.2	24.2	166.3	37.5
Curvature	0	36.6	0.1	0
% of white	26.9	162.4	100	0

<sup>a</sup>CV: coefficient of variation (%).

**Table 2.** Culinary and sensory traits of the cooked beans. Mean, coefficient of variation, and extreme values for the traits studied.

	Mean	CV <sup>a</sup>	Max	Min	
Culinary traits	Water absorption at 3h (%)	33.4	80.6	93.7	0.7
	Water absorption at 6h (%)	55.9	59.8	113	2.9
	Water absorption at 9h (%)	71.9	45.2	122.1	5.3
	Water absorption at 24h (%)	102.5	12.9	134.3	38.2
	Rate of water absorption	67.9	41.5	97.9	8.4
	Water absorption during cooking (%)	75.6	26.2	147	41.3
	Cooking time (min)	65.3	33.3	159	34
	% whole beans	86.4	16.4	100	30.7
Internal sensory traits	Seed-coat roughness	2.5	76.4	10	0
	Seed-coat perceptibility	5.3	38.1	10	0
	Seed-coat brightness	5.1	36.8	10	0
	Mealiness	5.9	31.4	10	0
	Flavor	5.2	39.2	10	0
	Aroma	6.6	24.5	10	0

<sup>a</sup>CV: coefficient of variation (%).

Having data about a large number of entries with high variability in all traits enabled us to perform a robust study of the correlations among the sensory and culinary traits. Although  $r$  values  $\geq 0.25$  are significant different from zero at  $p < 0.001$ , for practical purposes, we discuss only absolute  $r$  values  $\geq 0.50$  (Table 3).

The beans with the greatest proportion of white were also the brightest ( $r=0.60$ ); these beans were also less mealy ( $r=-0.60$ ) than darker beans (Table 3). The beans with rougher seed coats and faster water absorption were also less mealy ( $r=-0.60$ ,  $r=-0.53$ ). The size of the seeds (100-seed weight) correlated positively with seed-coat perceptibility ( $r=0.67$ ). Water absorption during cooking correlated positively with cooking time ( $r=0.57$ ) and negatively with the percentage of whole beans after cooking ( $r=-0.54$ ). Flavor correlated negatively with seed-coat roughness ( $r=-0.55$ ) and positively with aroma, seed-coat perceptibility, and mealiness ( $r=0.71$ ,  $r=0.57$ ,  $r=0.54$ ).

**Table 3.** Correlations among sensory and culinary traits.

	Rate of water absorption	Cooking time (min)	Whole beans (%)	Seed-coat brightness	Seed-coat roughness	Aroma	Seed-coat perception	Mealiness	Flavor
% of white	0.48***	0.17*	-0.22**	0.60***	0.4***	-0.18*	-0.15*	-0.60***	-0.18*
Volume (mm <sup>3</sup> )	-0.19*	0.13	0.1	0	-0.25***	0.35***	0.49***	0.26***	0.41***
Surface area (mm <sup>2</sup> )	-0.12	0.24**	0.08	-0.13	-0.15*	0.25***	0.35***	0.19*	0.28***
100-seed weight (g)	-0.25***	0.16 *	-0.06	0.03	-0.22**	0.38***	0.67***	0.27***	0.45***
Rate of water absorption		0.02	-0.20**	0.30***	0.24**	-0.31***	-0.23**	-0.53***	-0.33***
Water absorption during cooking (%)		0.57***	-0.54***	0.29***	0.06	0.07	0.20**	-0.37***	0.12
Whole beans (%)				-0.19*	-0.06	0	-0.43***	0.23**	-0.07
Seed-coat brightness					0.54***	-0.20**	-0.05	-0.73***	-0.25***
Seed-coat roughness						-0.38***	-0.36***	-0.60***	-0.55***
Aroma							0.44***	0.48***	0.71***
Seed-coat perception								0.33***	0.57***
Mealiness									0.54***

\*\*\*p < 0.001; \*\*p < 0.01; \*p < 0.05; p < 0.

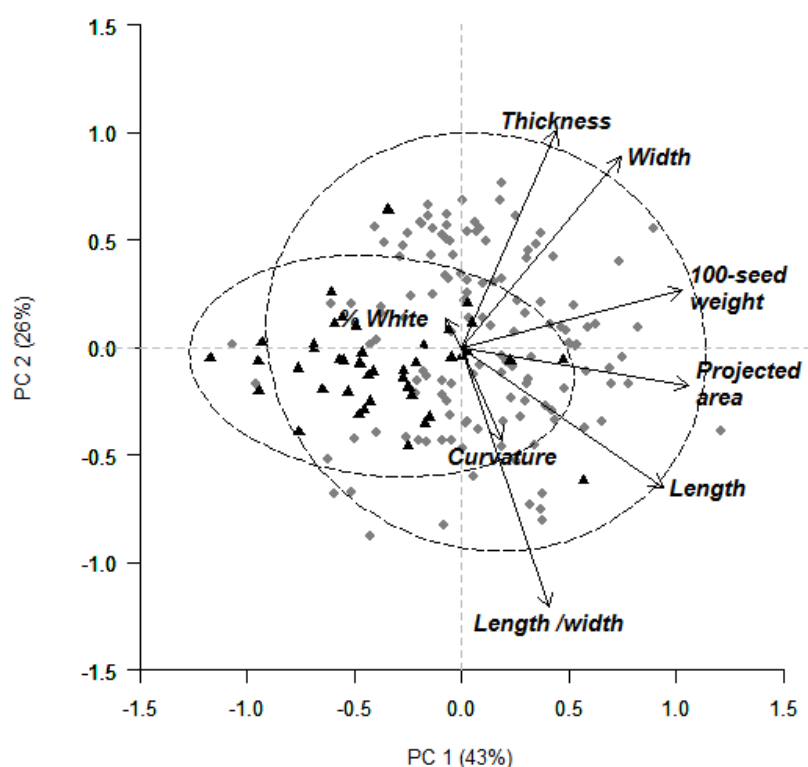
#### 4.4.2 Domestication origin and sensory and culinary traits

Our study comprises 131 entries domesticated in the Andes and 43 domesticated in Mesoamerica. The results showed significant differences between the two origins for sensory traits of the uncooked beans ( $p<0.05$  for length/width and  $p<0.001$  for the others), except seed curvature and percentage of white (Table 4). The PCA also showed that Mesoamerican materials tended to have smaller seeds (Figure 1).

**Table 4.** Comparisons of means for sensory traits of the uncooked and cooked beans, according to area of domestication.

	Andean	Mesoamerican	Significance ANOVA	
Uncooked beans	100-seed weight (g)	44.03	31.36	***
	Width (mm)	8.1	7.55	***
	Length (mm)	13.39	11.81	***
	Length/ width	1.67	1.56	*
	Thickness (mm)	6.41	5.27	***
	Projected area (mm <sup>2</sup> )	87.75	71.97	***
	Curvature	0.04	0.04	-
	% of white	24.21	35.71	-
Cooked beans	Seed-coat roughness	2.01	3.91	***
	Seed-coat perceptibility	5.79	3.52	***
	Seed-coat brightness	4.89	5.81	**
	Mealiness	6.4	4.35	***
	Flavor	5.73	3.42	***
	Aroma	7.03	5.19	***

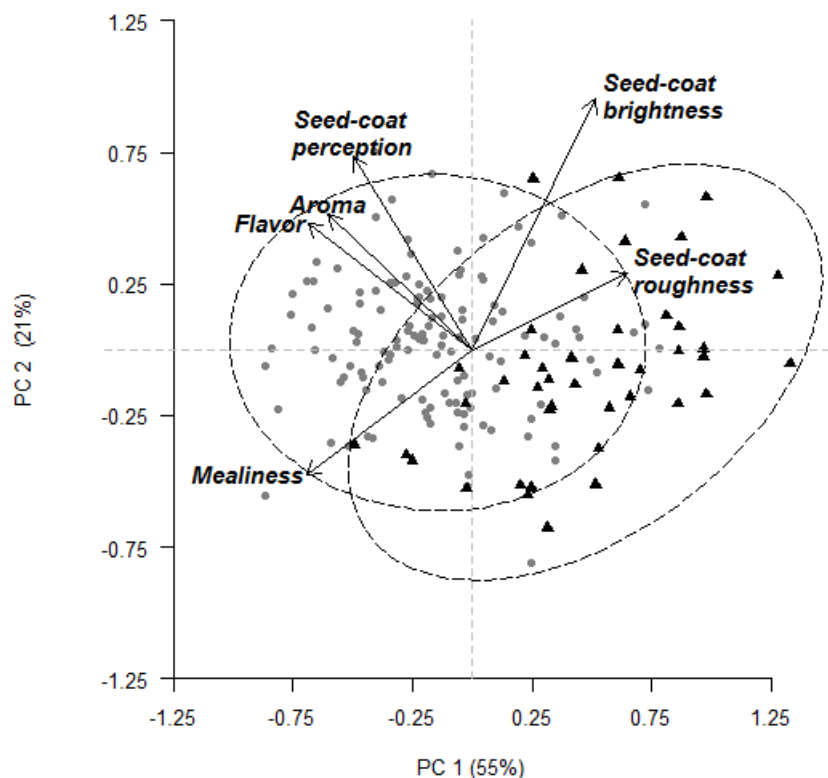
\*\*\*p < 0.001; \*\*p < 0.01; \*p < 0.05; (-) not significant.



**Figure 1.** Principal component analysis in the sensory traits recorded in uncooked beans, considering domestication origin. Entries with phaseolins of Mesoamerican origin are represented as black triangles and those with phaseolins of Andean origin are represented as gray circles. The dashed lines represent the 95% confidence ellipses. The percentages between parentheses refer to the variability explained by each principal component.



With regard to the sensory traits of the cooked beans (Table 4), we found that materials of Andean origin had lower seed-coat brightness ( $p < 0.01$ ) and seed-coat roughness and higher seed-coat perceptibility, mealiness, flavor, and aroma (all significant at  $p < 0.001$ ) than materials of Mesoamerican origin. These results are reflected in the PCA done on the sensory traits of the cooked beans and phaseolin type (Figure 2). No significant differences were found in any culinary trait, and the PCA failed to reveal any clear clustering among materials of Mesoamerican or Andean origin based solely on culinary traits.



**Figure 2.** Principal component analysis in the sensory traits recorded in cooked beans, considering domestication origin. Entries with phaseolins of Mesoamerican origin are represented as black triangles and those with phaseolins of Andean origin are represented as gray circles. The dashed lines represent the 95% confidence ellipses. The percentages between parentheses refer to the variability explained by each principal component.

#### 4.4.3 Relations between the color of uncooked seeds and culinary and sensory traits

The ANOVA on the means of the sensory and culinary traits of the entries distributed into 13 color categories revealed few significant differences between groups for most traits, although the rate of water absorption was generally lower (40-62,  $p < 0.001$ ) in brown, vinous brown, gray-brownish to greenish, purple, and black seeds and higher (84-93,  $p < 0.001$ ) in yellow and white seeds. Nevertheless, some black beans showed a high rate of water absorption.

In the PCA done on sensory traits of the cooked seeds in function of the color classification of the entries, white beans tended to have rougher and brighter seed coats and to be less mealy than more pigmented beans, while pigmented beans tended to have a stronger aroma and flavor than white beans (Figure 3a).

On the other hand, the PCA of the culinary traits (Figure 3b) also confirmed that white beans tended to have higher rates of water absorption and to yield a lower percentage of whole beans after cooking (Figure 3b).

#### **4.4.4 Growth habit and sensory and culinary traits**

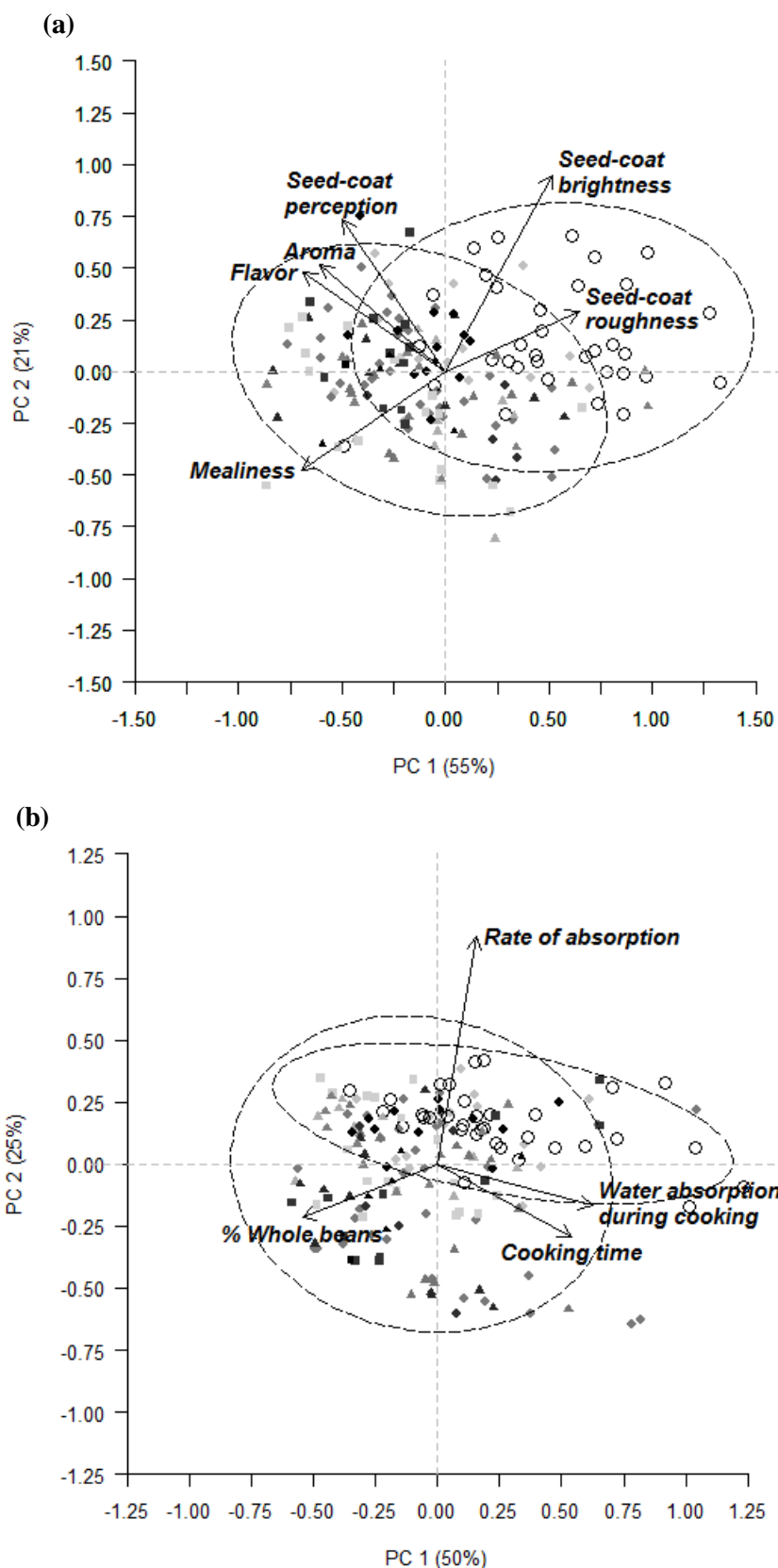
Our study contains 29 entries with determinate growth (Type I) (Singh, 1982) and 111 entries with indeterminate growth (Type IV). The ANOVA to compare the mean values of the sensory and culinary traits between materials with determinate and indeterminate growth found significant differences only in seed-coat perceptibility ( $p < 0.001$ ) and flavor ( $p < 0.01$ ), but these differences were small (for seed-coat perceptibility: 3.7 in indeterminate growth vs. 2.8 in determinate growth; for flavor: 6.6 in indeterminate growth vs. 6.1 in determinate growth).

### **4.5 DISCUSSION**

#### **4.5.1 Sensory and culinary traits in the core collection**

The Spanish core collection of beans, derived from screening more than 3000 entries fundamentally through the criteria of zone of collection and appearance of the raw seeds and later fine-tuned with information from molecular markers of genetic background, also has wide variability in sensory and culinary traits (Tables 1 and 2). The especially high variability in the traits recorded in the cooked beans suggests that the cooking process generates variability in the characteristics of the seed that is added to the variability that was present before cooking (Tables 1 and 2).

The traits 100-seed weight and seed width, length, and thickness (Table 1) were included in the selection criteria for the core collection. The coefficients of variation for these traits were among the lowest for all the traits studied (Tables 1 and 2), coinciding with the findings reported by Casquero *et al.* (2006). The high coefficients of variation in culinary and internal sensory traits support the idea that the current core collection encompasses a large proportion of the variability for these traits that were not initially included in the selection criteria.



**Figure 3.** Principal component analysis in the sensory traits recorded in cooked beans (a) and in culinary traits (b), considering the color of the raw seed coat. Entries with white seed coats are represented as white circles and entries with seed coats of other colors are represented as black and gray icons. The dashed lines represent the 95% confidence ellipses. The percentages between parentheses refer to the variability explained by each principal component.

For the trait water absorption, the coefficients of variations were lower at 24h than at 3h, 6h, or 9h (Table 2). This suggests that differences between entries for this trait are more substantial in the early part of the soaking process. The rate of water absorption is a variable that we wanted to explore as a synthetic value for the differences found at different times in the process. To this end, we analyzed the correlations between this variable and two absorption constants proposed by Peleg (1988):  $K_1$  (a constant related to mass transfer rate) and  $K_2$  (a constant related to maximum water absorption capacity). The rate of water absorption correlated negatively with  $K_1$  ( $r=-0.81$ ,  $p<0.001$ ) and positively with  $K_2$  ( $r=0.80$ ,  $p<0.001$ ), showing that the rate of water absorption is a good synthetic trait that summarizes the relevant information.

In the overall set of the core collection, we found a wide variety of combinations between the sensory traits of the uncooked beans, sensory traits of the cooked beans, and culinary traits, although some combinations were more common than others (Table 3). The strongest correlations were found between seed-coat brightness and mealiness ( $r=-0.73$ ,  $p<0.001$ ) and between flavor and aroma ( $r=0.71$ ,  $p<0.001$ ). Plans *et al.* (2014) reported similar results for flavor and aroma ( $r=0.62$ ,  $p<0.001$ ) and also reported that flavor correlated with seed-coat roughness ( $r=-0.4$ ,  $p<0.01$ ) and mealiness ( $r=0.68$ ,  $p<0.001$ ). In our study, flavor also correlated with seed-coat roughness ( $r=-0.55$ ,  $p<0.001$ ) and with mealiness ( $r=0.54$ ,  $p<0.001$ ). We found that 100-seed weight correlated with seed-coat perception ( $r=0.67$ ,  $p<0.001$ ), % of white correlated with mealiness ( $r=-0.60$ ,  $p<0.001$ ), and with seed-coat brightness ( $r=0.60$ ,  $p<0.001$ ). Mealiness also correlated negatively with seed-coat roughness ( $r=-0.60$ ,  $p<0.001$ ), as previously reported by Rivera *et al.* (2013) in an earlier study done in Catalan landraces.

The relation between seed size and rate of water absorption is controversial (Sefa-Dedeh and Stanley, 1979; Del Valle *et al.*, 1992; Abdel Kader, 1995; Berrios *et al.*, 1999). We found a very low correlation between the rate of water absorption and seed volume ( $r=-0.19$ ,  $p<0.05$ ), suggesting that factors other than surface area and volume are also involved; these factors might include the shape of the hilum and micropyle or the structure and composition of the seed coat and cotyledon and their thickness (Sefa-Dedeh and Stanley, 1979).

#### **4.5.2 Domestication origin and sensory and culinary traits**

*Phaseolus vulgaris* L. was domesticated independently in the Andean and Mesoamerican regions, resulting in two highly differentiated gene pools that can be distinguished by the phaseolin content (Gepts and Blis 1986; Gepts *et al.*, 1986; Koenig *et al.*, 1990). Using this approach, these authors found that seeds of Mesoamerican origin tend to be smaller than those of Andean origin. We found significant differences between the two origins for all traits related to size and shape ( $p<0.05$  for length/widht and  $p<0.001$  for the others), except seed curvature, a trait not included in previous

studies and percentage of white in the seed, although the mean values for this trait differed greatly between Andean and Mesoamerican materials, these differences were not significant (Table 4).

Our results showed significant differences between the two origins for all the sensory traits of the cooked beans, but none for the culinary traits. Materials of Andean origin had lower seed-coat brightness ( $p < 0.01$ ) and seed-coat roughness, and greater seed-coat perceptibility, mealiness, flavor, and aroma (all significant at  $p < 0.001$ ). These differences had not been reported before and add new criteria for the description of the two groups.

#### **4.5.3 Relations between the color of uncooked seeds and culinary and sensory traits**

The color of beans is attributed to the presence and quantity of polyphenols, such as condensed tannins (Espinosa-Alonso *et al.*, 2006), which reside mainly in the seed coat and are found in greater concentrations in black, red, and bronze seeds (Bressani and Elias, 1980). Seed-coat color has been correlated with other traits of interest like *Pythium ultimum* resistance (Lucas and Griffiths, 2004; Campa *et al.*, 2010) or seed composition (Casañas *et al.*, 2013; Hacisalihoglu and Settles, 2013).

We found few significant differences in culinary and/or sensory properties in relation to color. White beans tended to be brighter, rougher, and less mealy; they also absorbed water faster and yielded a low percentage of whole beans after cooking (Table 3, Figures 3a and 3b). Stanley (1992) attributed the lower rate of water absorption in colored seeds to the formation of macromolecules from tannins and other molecules such as proteins and pectins. These macromolecules strengthen the cell wall and reduce the absorption of water, impeding the separation of cells and softening. However, Espinosa-Alonso *et al.* (2006) reported that the variability in polyphenolic contents found in their studies was more related to the rest of the genetic background than to color. In a previous study (Rivera *et al.*, 2013), our group found a similar correlation between the percentage of white in raw seeds and the percentage of whole beans after cooking ( $r = -0.47$ ,  $p < 0.05$ ) to those found in the present study.

#### **4.5.4 Growth habit and sensory and culinary traits**

Growth habit did not correlate with culinary or sensory traits. These results do not explain the predominance of beans with indeterminate growth among the most prestigious varieties in Spain (PGI Judías de El Barco de Ávila, PGI Alubia de La Bañeza-León, PGI Faba Asturiana, PGI Faba de Lourenzà, and PDO Mongeta del Ganxet) (Casquero, 2012). This suggests that we should probably look to agronomical, historical, or cultural reasons to explain this point.

Our results add information about the Spanish core collection of beans, increasing its value as a source of material that can be used to obtain new varieties. Breeding programs stand to benefit

greatly from more complete characterization of the entries, including information about culinary aspects, the appearance, texture, and flavor of the cooked seed; or resistance to disease. Moreover, crossing the materials in the collection will help identify genes related to sensory and culinary quality. The recent sequencing of the genome of *Phaseolus vulgaris* L. (Schmutz *et al.*, 2014) and the identification of quantitative trait loci related to sensory and culinary quality (Posa-Macalincag *et al.*, 2002; Vasconcelos *et al.*, 2011; Casañas *et al.*, 2013) should pave the way for the identification of genes and the development of internal markers that will allow them to be managed easily.

The traits detailed in the entries of the Spanish core collection can be consulted on the Spanish National Plant Genetic Resource Center's website [www.crf.inia.es/crfesp/paginaprincipaljudia.asp](http://www.crf.inia.es/crfesp/paginaprincipaljudia.asp).

#### 4.6 REFERENCES

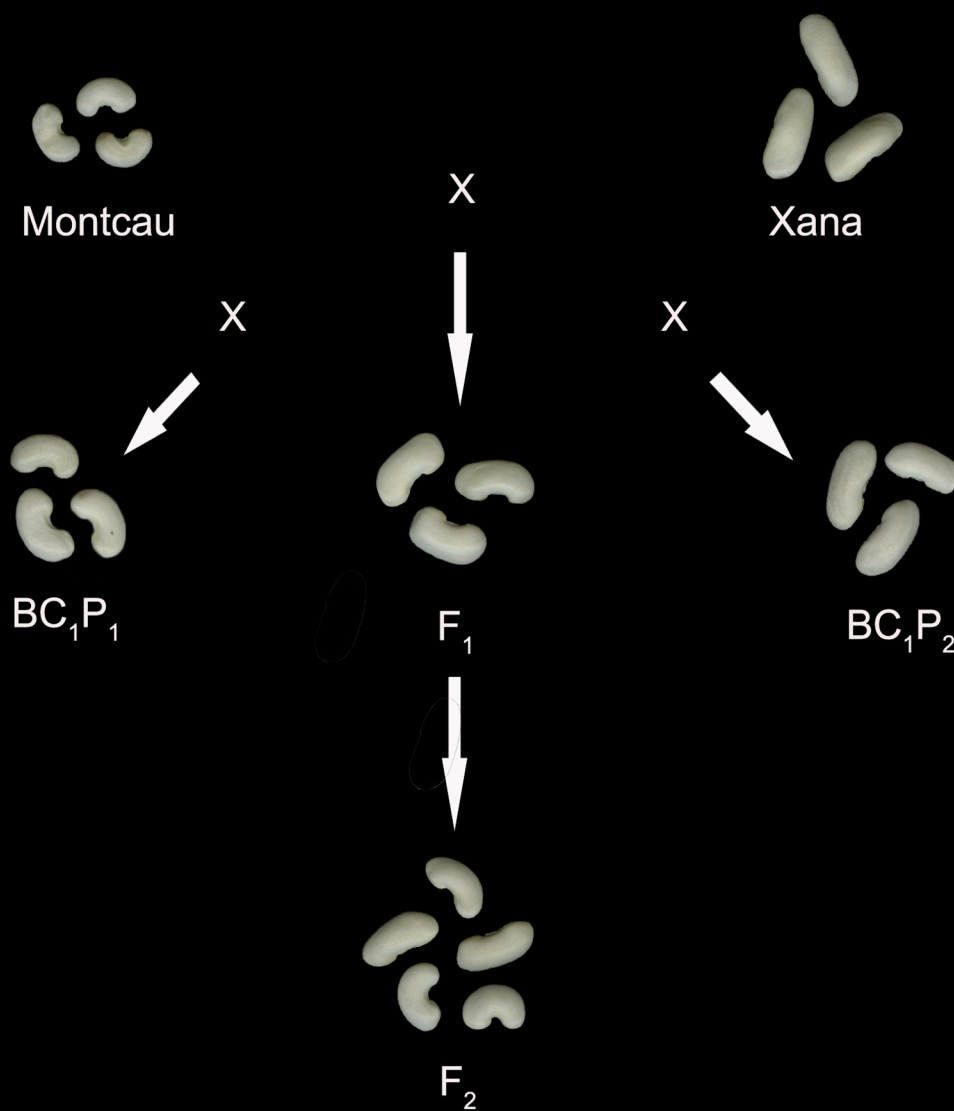
- Abdel Kader, Z.M., 1995. Study of some factors affecting water absorption by faba beans during soaking. *Food Chem.* 53, 235–238.
- Asensio, C., Asensio S-Manzanera, M., Ibeas, A., De la Rosa, L., 2010. Resistance to halo blight common bacterial blight and bacterial brown spot in Spanish common bean core collection. *Annu. Report. Bean Improv. Coop.* 53, 101–111.
- Berrios, J.D.J., Swanson, B.G., Cheong, W.A., 1999. Physico-chemical characterization of stored black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Res. Int.* 32, 669–676.
- Bressani, R., Elías, L., 1980. The nutritional role of polyphenols in beans, in: Hulse, J.H. (Ed.), *Polyphenols in Cereals and Legumes. Proc. Symp. 36 th Annual Meeting Inst. Food Technologists, St. Louis, Missouri*, pp. 10–13.
- Campa, A., Pérez-Vega, E., Pascual, A., Ferreira, J.J., 2010. Genetic analysis and molecular mapping of quantitative trait loci in common bean against *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 100, 1315–1320.
- Casañas, F., Pérez-Vega, E., Almirall, A., Plans, M., Sabaté, J., Ferreira, J.J., 2013. Mapping of QTL associated with seed chemical content in a RIL population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica* 192, 279–288.
- Casquero, P.A., 2012. Las marcas de calidad en el desarrollo de las leguminosas en España, in: V Seminario de Judía de La Península Iberica. V Actas de la Asociación Española de Leguminosas, Pontevedra, España, pp. 145–150.
- Casquero, P.A., Lema, M., Santalla, M., De Ron, A.M., 2006. Performance of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces from Spain in the Atlantic and Mediterranean environments. *Genet. Resour. Crop Evol.* 53, 1021–1032.

- Costa, C., Antonucci, F., Pallottino, F., Aguzzi, J., Sun, D.-W., Menesatti, P., 2011. Shape analysis of agricultural products: a review of recent research advances and potential application to computer vision. *Food Bioprocess Technol.* 4, 673–692.
- De la Rosa, L., Lázaro, A., Varela, F., 2000. Racionalización de la Colección de *Phaseolus vulgaris* L., in: II Seminario de Judía de La Península Iberica. Actas Asociación Española de Leguminosas, Villaviciosa, Spain, pp. 55–62.
- Del Valle, J.M., Stanley, D.W., Bourne, M.C., 1992. Water absorption and swelling in dry bean seeds. *J. Food Process. Preserv.* 16, 75–98.
- Espinosa-Alonso, L., Lygin, A., Widholm, J.M., Valverde, M.E., Paredes-Lopez, O., 2006. Polyphenols in wild and weedy Mexican common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Agric. Food. Chem.* 54, 4436–4444.
- Gepts, P., Bliss, F.A., 1986. Phaseolin variability among wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris*) from Colombia. *Econ. Bot.* 40, 469–478.
- Gepts, P., Osborn, T., Rashka, K., Bliss, F., 1986. Phaseolin-protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): evidence for multiple centers of domestication. *Econ. Bot.* 40, 451–468.
- Hacisalihoglu, G., Settles, A.M., 2013. Natural variation in seed composition of 91 common bean genotypes and their possible association with seed coat color. *J. Plant Nutr.* 36, 772–780.
- Hayat, I., Ahmad, A., Masud, T., Ahmed, A., Bashir, S., 2014. Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 54, 580–592.
- Jahns, G., Møller Nielsen, H., Paul, W., 2001. Measuring image analysis attributes and modelling fuzzy consumer aspects for tomato quality grading. *Comput. Electron. Agric.* 31, 17–29.
- Koenig, R.L., Singh, S.P., Gepts, P., 1990. Novel Phaseolin types in wild and cultivated common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Econ. Bot.* 44, 50–60.
- Lucas, B., Griffiths, P.D., 2004. Evaluation of common bean accessions for resistance to *Pythium ultimum*. *HortScience* 39, 1193–1195.
- Mendiburu, F., 2010. *Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*. R package version 1.0-9. Available in: <http://CRAN.R-project.org/package=agricolae>. (Accessed 04/12/2013).
- Mulas, D., García-Fraile, P., Carro, L., Ramírez-Bahena, M.-H., Casquero, P., Velázquez, E., González-Andrés, F., 2011. Distribution and efficiency of *Rhizobium leguminosarum* strains nodulating *Phaseolus vulgaris* in northern spanish soils: selection of native strains that replace conventional N fertilization. *Soil Biol. Biochem.* 43, 2283–2293.
- Murdoch, D., Chow, E.D., 2007. *Ellipse: Functions for drawing ellipses and ellipse like confidence regions*. R package version 0.3-5. Available in <http://CRAN.R-project.org/package=ellipse>. (Accessed 4/12/2013).

- Pascual, A., Campa, A., Pérez-Vega, E., Giraldez, R., Miklas, P.N., Ferreira, J.J., 2010. Screening common bean for resistance to four *Sclerotinia sclerotiorum* isolates collected in northern Spain. *Plant Dis.* 94, 885–890.
- Peleg, M., 1988. An empirical model for the description of moisture sorption curves. *J. Food Sci.* 53, 1216–1219.
- Pérez-Vega, E., Campa, A., De la Rosa, L., Giraldez, R., Ferreira, J.J., 2006. Evaluation for resistance to anthracnose of a core collection established from the CRF-INIA common bean collection. *Annu. Rep. Bean Improv. Coop.* 49, 201–202.
- Pérez-Vega, E., Campa, A., De la Rosa, L., Giraldez, R., Ferreira, J.J., 2009. Genetic diversity in a core collection established from the main bean genebank in Spain. *Crop Sci.* 49, 1377–1386.
- Plans, M., Simó, J., Casañas, F., Romero del Castillo, R., Rodríguez-Saona, L.E., Sabaté, J., 2014. Estimating sensory properties of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by near infrared spectroscopy. *Food Res. Int.* 56, 55–62.
- Posa-Macallincag, M.C., Hosfield, G.L., Grafton, K.F., Uebersax, M.A., Kelly, J.D., 2002. Quantitative trait loci (QTL) analysis of canning quality traits in kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Hort Sci.* 127, 608–615.
- Puerta-Romero, J., 1961. Variedades de judías cultivadas en España. *Monogr. Inst. Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria* 11. Ministerio de Agricultura, Madrid, España. pp.70-71.
- R Development Core Team, 2007. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Available in: <http://www.R-project.org>. (Accessed 04/12/2013).
- Rivera, A., Fenero, D., Almirall, A., Ferreira, J.J., Simó, J., Plans, M., Romero del Castillo, R., Casañas, F., 2013. Variability in sensory attributes in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): a first survey in the Iberian secondary diversity center. *Genet. Resour. Crop Evol.* 60, 1885–1898.
- Romero del Castillo, R., Costell, E., Plans, M., Simó, J., Casañas, F., 2012. A standardized method of preparing common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) for sensory analysis. *J. Sens. Stud.* 27, 188–195.
- Romero del Castillo, R., Sabaté, J., Plans, M., Casañas, F., 2010. Evaluación para características de calidad, in: Carrillo, J.M., Díez, M.J., Pérez de la Vega, M., Nuez, F. (Eds.), *Mejora Genética y Recursos Fitogenéticos: Nuevos Avances en la Conservación y Utilización de los Recursos Fitogenéticos*. Madrid, pp. 385–420.
- Romero del Castillo, R., Valero, J., Casañas, F., Costell, E., 2008. Training, validation and maintenance of a panel to evaluate the texture of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Sens. Stud.* 23, 303–319.



- Santalla, M., De Ron, A.M., Voysest, O., 2001. European Bean Market Classes, in: Amurrio, M., Santalla, M., De Ron, A.M. (Eds.), Catalogue of Bean Genetic Resources. PHASELIEU-FAIR 3463-MBG-CSIC, Fundación Pedro Barrié de la Maza, Pontevedra, España. pp.79-94.
- Schmutz, J., McClean, P.E., Mamidi, S., Wu, G.A., Cannon, S.B., Grimwood, J., Jenkins, J., Shu, S., Song, Q., Chavarro, C., Torres-Torres, M., Geffroy, V., Moghaddam, S.M., Gao, D., Abernathy, B., Barry, K., Blair, M., Brick, M. A., Chovatia, M., Gepts, P., Goodstein, D.M., Gonzales, M., Hellsten, U., Hyten, D.L., Jia, G., Kelly, J.D., Kudrna, D., Lee, R., Richard, M.M.S., Miklas, P.N., Osorno, J.M., Rodrigues, J., Thareau, V., Urrea, C. A., Wang, M., Yu, Y., Zhang, M., Wing, R.A., Cregan, P.B., Rokhsar, D.S., Jackson, S.A., 2014. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nat. Genet.* 46, 707–713.
- Sefa-Dedeh, S., Stanley, D., 1979. The relationship of microstructure of cowpeas to water absorption and dehulling properties. *Cereal Chem* 56, 379–386.
- Singh, S., 1982. A key for identification of different growth habits of *Phaseolus vulgaris* L. *Annu Rep Bean Improv Coop* 25, 92–95.
- Singh, S.P., Gepts, P., Debouck, D.G., 1991. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Econ. Bot.* 45, 379–396.
- Stacklies, W., Redestig, H., Scholz, M., Walther, D., Selbig, J., 2007. PcaMethods—a bioconductor package providing PCA methods for incomplete data. *Bioinformatics* 23, 1164–1167.
- Stanley, D.W., 1992. A possible role for condensed tannins in bean hardening. *Food Res. Int.* 25, 187–192.
- Vasconcelos, R.A., Nascimento, P., Zaczuk, P., Brondani, C., Cunha, L., Tadeu, S., Pereira, R., 2012. QTL mapping for the cooking time of common beans. *Euphytica* 186, 779–792.



## Capítulo 5

SEED CURVATURE AS A USEFUL MARKER TO TRANSFER MORPHOLOGIC, AGRONOMIC, CHEMICAL AND SENSORY TRAITS FROM GANXET COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.)

Ana Rivera, Salva Roselló and Francesc Casañas

*Scientia Horticulturae (Accepted)*

## 5.1 ABSTRACT

The Ganxet bean is a highly appreciated landrace characterized by markedly curved seeds, high protein content, low seed-coat perceptibility, and low mealiness. To analyze the genetic control of seed curvature and of morphological, agronomical, chemical, and sensory traits related to high quality in these beans, we used an Additive, Dominance, and Additive  $\times$  Additive model applied to Ganxet and Faba Asturiana varieties, their  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $BC_1P_1$ , and  $BC_1P_2$  progenies.

The narrow-sense heritability ( $h^2$ ) of seed curvature was 0.72. The  $h^2$  of the number of seeds per pod was 0.75. The  $h^2$  of area and length of the seed were 0.55 and 0.60, respectively. The  $h^2$  for seed width, 100-seed weight, pod length, Mg content, and sensory traits mealiness, seed-coat roughness and seed-coat perceptibility, ranged from 0.3 to 0.4. Seed curvature behaved like a continuously variable trait that is probably controlled by 3 loci. The expression of this trait depends partly on the environment, and its expression is greatest in environments that favor larger seeds. Seed curvature also had strong additive genetic correlations with protein content (positive) and with mealiness (negative).

Given the ease of determining seed curvature and its apparently simple control, this trait could be used as an easy-to-select morphological marker to transfer high protein content and low mealiness to other varieties by backcross procedures, regardless of whether the correlation between traits is due to pleiotropic or linkage effects.

**Keywords:** Landraces, Genetic control, Highly correlated traits, Quality, Marker-assisted selection.

## 5.2 INTRODUCTION

Beans are the most important legume in the human diet (Broughton *et al.*, 2003). They are consumed throughout the world, but especially in developing countries (Shimelis and Rakshit, 2005). Beans are nutritious, having 2 or 3 times as much protein as cereals (Siddiq and Uebersax, 2013), and are easily adapted to many environments. In developed countries, there is a growing interest in beans due to their nutraceutical properties (Hayat *et al.*, 2014) and importance in crop rotation. However, if beans are to regain a predominant role in developed countries' diets, their nutritional and environmental strengths must be accompanied by improvements in culinary and sensory characteristics (cooking time, seed-coat perception, aroma, flavor, mealiness, breakage during cooking) to appeal to increasingly demanding consumers (Casañas *et al.*, 2006; Ghasemlou *et al.*, 2013;). Thus, the challenge is to obtain varieties that meet nutritional needs while fulfilling consumers' sensory demands. To meet this challenge, landraces can provide excellent starting material for breeding programs because some of them retain great sensory and nutritional potential.

The Ganxet landrace derives from the Mesoamerican gene pool (Sánchez *et al.*, 2007) and is cultivated in Catalonia (northeastern Spain). Ganxet seeds are white, slightly shiny, flat, and very hook-shaped (“ganxet” means little hook in Catalan) (Fig. 1). Ganxet seeds have a high content of protein (24%-29%, Bosch *et al.*, 1998; Casañas *et al.*, 2006). This landrace enjoys great culinary prestige thanks to its sensory traits (creaminess, low seed-coat perceptibility, and mild flavor) (Casañas *et al.*, 2006, 2002; Romero del Castillo *et al.*, 2008), and it has an important role in some emblematic dishes of Catalan cuisine, such as pork sausage with beans, beans with clams, beans with salt cod, bean omelets, etc. The Ganxet bean has Protected Designation of Origin status from the European Union according to EC Regulation 1376/11. In Catalonia, the historical home of Ganxet cultivation, 257 entries with different agricultural and morphological characteristics have been collected (Rull *et al.*, 2012) and are conserved in the FMA-BarcelonaTech germplasm bank.

Seed shape, size, and seed-coat color are important in consumers’ preferences and market acceptance (Mkanda *et al.*, 2007; Costa *et al.*, 2011). The study of these traits goes back to the beginning of the twentieth century, with Johannsen’s landmark study on size (Johannsen, 1903). Some authors have reported quantitative inheritance for seed length, width, and thickness, and for 100-seed weight (Coyne, 1968; Motto *et al.*, 1978; Nienhuis and Singh, 1988; Vallejos and Chase, 1991; Dalla Corte *et al.*, 2010), and in recent years quantitative trait loci (QTLs) have been identified for these traits (Park and Coyne, 2000; Tar’an *et al.*, 2002; Blair *et al.*, 2006; Pérez-Vega *et al.*, 2010; Yuste-Lisbona *et al.*, 2014). Marker-assisted selection using these QTLs has been useful in breeding programs. These studies have used the length/width index to analyze the shape of the seed, but none of them took into account the curvature of the seed, although genetic variability in this trait occurs in collections such as those of the Spanish National Plant Genetic Resource Center (<http://wwwx.inia.es/inventarionacional>) and the International Center for Tropical Agriculture (<http://isa.ciat.cgiar.org/urg/beancollection.do>).

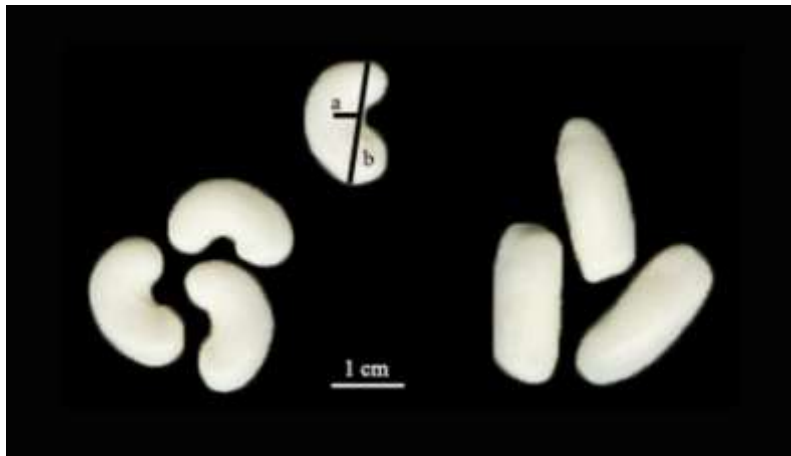
Seed shape and size have also been associated with yield. White and González, (1990) found that seed weight correlates negatively with yield. Dalla Corte *et al.* (2010) found that both seed length and thickness correlated negatively with yield, suggesting larger yields from plants with smaller seeds. Blair *et al.* (2006), in a study using advanced backcrossing between a commercial variety and a wild variety, reported QTLs associated with larger yield and lower seed weight. However, we have no information about possible correlations between shape and chemical and/or sensory traits.

Thus, we studied the Ganxet bean, a landrace characterized by a highly curved seed that is appreciated for its nutritional and sensory traits to: i) analyze the genetic determinants of seed curvature and other traits related to the shape and size of the seeds; ii) estimate and analyze possible correlations between seed curvature and agronomic, morphological, chemical, and sensory traits; and iii) evaluate the possibilities of using this extremely easy-to-measure trait in breeding programs aimed at increasing the nutritional and sensory value of beans.

## 5.3 MATERIAL AND METHODS

### 5.3.1 Plant material

This study was carried out using two varieties of beans that represent the two extremes of seed curvature: Montcau ( $P_1$ ), an inbred developed by our group within the Ganxet landrace for its high degree of curvature and reasonable agronomic behavior (Bosch *et al.*, 1998), and Xana ( $P_2$ ), an inbred developed by the Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA) in Asturias from crosses between two varieties of Andean origin, Andecha and V203. Montcau has type IV indeterminate growth habit (Singh, 1982) and mid-sized white seeds belonging to the Hook market class (Santalla *et al.*, 2001) (Fig. 1). Xana has type I determinate growth habit (Singh, 1982) and very large, not hooked, white seeds belonging to the Fabada market class (Santalla *et al.*, 2001) (Fig. 1). We studied the parents ( $P_1$  and  $P_2$ ), their descendents ( $F_1$  and  $F_2$ ), and backcrosses with both parents ( $BC_1P_1$  and  $BC_1P_2$ ). Multiple controlled  $P_1 \times P_2$  crosses were performed in the greenhouse to obtain enough  $F_1$  seeds. Some  $F_1$  plants were used to obtain  $F_2$  by self-pollination and some were used to obtain the backcrosses  $BC_1P_1$  ( $F_1 \times P_1$ ) and  $BC_1P_2$  ( $F_1 \times P_2$ ).



**Figure 1.** Ganxet seeds (left) are curved, Xana seeds (right) are not. Curvature trait defined as  $a/b$ , (a) is a perpendicular distance from the center of the object at the point of maximum straight width to the straight length and (b) is the straight length.

### 5.3.2 Field trials

The trial comparing the different generations was carried out in 3 locations in northeast Spain: Sabadell (41° 32' 41" N, 2° 4' 26" E), Rubí (41° 30' 08.2" N, 2° 01' 02.2" E), and Viladecans (41° 17' 22" N, 2° 02' 41"). In Sabadell and Rubí, plants were cultivated in open fields with mild Mediterranean climate. Both locations have moderately alkaline soils with high levels of calcium and medium or low levels of other soil parameters. In general, the soil in Sabadell is poorer in nutrients than the soil in Rubí. In the third location, Viladecans, plants were cultivated in greenhouses, where the temperature and humidity are higher than in open fields, favoring more turgid plant development and larger seeds (Hanan, 1998). Plants in the greenhouse were cultivated

in pots with acid substrate with high concentrations of all soil parameters studied except calcium carbonate equivalent, which was very low.

In each location, we used a randomized 4 block design with 10 plants per elementary furrow. Seeds were sown at a low density (18519 plants/ha) to facilitate individualized management of plants. Plants with indeterminate growth habit were trellised onto a vertical plastic mesh in the open fields and onto poles in the greenhouse. Plants were cultivated using the traditional methods in the area, including drip irrigation.

### **5.3.3 Determination of agronomic and morphological traits**

The trait days-to-flowering (IBPGR, 1982) was recorded for each plant. All the plants were harvested individually, and the following traits were measured and recorded in the laboratory for each plant: pod length, number of pods, and number of seeds per pod (IBPGR, 1982). A sample of 100 seeds per plant was scanned and then processed using WinSeedle Pro v2005b (Regent 156 Instruments, Inc. Quebec, Canada) to estimate seed length (line connecting the two farthest points on the projected image perimeter) and seed width (the maximum width perpendicular to length), projected area, and curvature (defined as  $(a/b)$ , where (a) is a perpendicular distance from the center of the object at the point of maximum straight width to the straight length and (b) is the straight length (Fig.1). We also recorded the dry weight of 100 seeds, gross yield (total yield including seeds affected by disease or pest), and net yield (commercial seeds) from each plant.

### **5.3.4 Determination of chemical and sensory traits**

Seeds from plants grown in the same furrow and location were mixed to obtain homogeneous groups. The seed coat of common beans accounts for only 8% to 15% of the mass of the seed and has different chemical and sensory traits, so it must be separated from the embryo prior to analysis to enable its composition to be accurately determined. To this end, 40 g of seeds from each sample were soaked in deionized water for 24 hours at 15°C, and the seed coat was manually separated from the embryo. The two fractions were immediately dehydrated and ground to a particle size less than 0.4 mm; thus, flour from the raw seed coat was obtained separately from flour from the raw embryo. Additionally, 150 g of seeds from each sample were cooked using the protocol described by Romero del Castillo *et al.* (2012). Cooking time was recorded as the time elapsed from breaking a boil to the end of cooking process. Approximately 100 g of the cooked beans were used to estimate the percentage of whole beans remaining after cooking (Romero del Castillo *et al.*, 2012). Afterward, the sample was dehydrated and ground to a particle size less than 0.4 mm to obtain flour from cooked seeds.

To estimate chemical and sensorial attributes, we recorded near-infrared spectroscopy (NIRS) data from the three types of milled samples (raw bean seed coats, raw embryos, and cooked beans) using a model 5000 spectrophotometer (Foss NIRSystems, Silver Spring, MD, USA) equipped with a rapid content analyzer (RCA) module. Spectra were recorded every 2 nm between 1100 nm to 2500 nm and averaged from 32 scans. Three spectra were registered for each sample and the average spectrum was used for computations. We calculated the absorbance at each wavelength as  $(\log(1/R))$ ; this variable correlates with chemical constituents better than reflectance does. We used Vision software, version 2.51, (Foss NIRSystems, Silver Spring, MD, USA) to control the recorder, collect the spectra, and import the data.

We used the regression models developed by Plans *et al.* (2012) and Plans *et al.* (2013) on the NIRS data to estimate the dietary fiber, uronic acids, ash, calcium, magnesium, and phosphorus in the raw seed coats and the protein, starch, and apparent amylose in the raw embryo. We used the regression models developed by Plans *et al.* (2014), applied to the NIR registers made on cooked beans flour, to estimate the mealiness, seed-coat roughness, seed-coat perceptibility, seed-coat brightness, flavor, and aroma (Romero del Castillo *et al.*, 2008).

### 5.3.5 Genetic models and data analysis methodology

As a first approach to describing the variation, we used the linear model  $X_{ijk} = \mu + G_i + E_j + GE_{ij} + B_{k(j)} + \varepsilon_{ijk}$ , where  $\mu$  is the mean,  $G_i$  is the effect of the different genotypes,  $E_j$  is the environment effect,  $GE_{ij}$  is the interaction effect,  $B_{k(j)}$  is the block effect within the environment, and  $\varepsilon_{ijk}$  is the residual. In variables with significant differences between generations in the ANOVA, we used the least significant difference (LSD) test for separation of means ( $P \leq 0.05$ ). We used the Agricolae package (Mendiburu, 2010) of R software (R Development Core Team 2007) for all analyses.

To gain deeper insight into to the genetic components of the variation and their interactions, the genetic terms in the above model were partitioned using an Additive, Dominance, and Additive  $\times$  Additive (ADAA) model (Zun, 1992; Yan *et al.*, 1998). The ADAA model assumes normal diploid segregation, inbred parents in diallel mating, and linkage equilibrium. Additive  $\times$  Dominance and Dominance  $\times$  Dominance epistases were considered negligible because in comparison with other genetic components, these epistatic components are very complicated and will decline quickly with progressive generations (Xu and Zhu, 1999). The ADAA model included G $\times$ E interactions.

The linear model for the phenotypic value  $Y_{hijkl}$  of the  $k$ th mating type ( $k = 0$  for parent,  $k = 1$  for  $F_1$ ,  $k = 2$  for  $F_2$ ,  $k = 3$  for  $BC_1P_1$ , and  $k = 4$  for  $BC_1P_2$ ) from lines  $i$  and  $j$  in the  $l$ th block within the  $h$ th environment was:

$$Y_{hijkl} = \mu + G_{ijk} + E_h + GE_{hijk} + B_{l(k)} + \varepsilon_{hijkl}$$

where  $Y_{ijkl} \sim (\mu, \sigma_P^2)$ ;  $G_{ijk}$  is the total genetic main effect, where  $G_{ijk} \sim (0, \sigma_G^2)$ ;  $E_h$  is the environment effect, where  $E_h \sim (0, \sigma_E^2)$ ;  $GE_{hijk}$  is the total G×E interaction effect, where  $GE_{hijk} \sim (0, \sigma_{GE}^2)$ ;  $B_{l(k)}$  is the randomized complete block effect, defined as  $B_{l(k)} \sim (0, \sigma_B^2)$ ;  $\varepsilon_{hijkl}$  is the residual effect, where  $\varepsilon_{hijkl} \sim (0, \sigma_\varepsilon^2)$ .

For the family generations used (parents and their F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, BC<sub>1</sub>P<sub>1</sub>, and BC<sub>1</sub>P<sub>2</sub>), the  $G_{ijk}$  and  $GE_{hijk}$  components were partitioned into genetic subcomponents for each generation (Zhu, 1992; Yan *et al.*, 1998).

As a result, the phenotypic variance ( $V_P$ ) was partitioned as:

$$V_P = V_G + V_{G \times E} + V_e = V_A + V_D + V_{AA} + V_{AE} + V_{DE} + V_{AAE} + V_e$$

where  $V_G$  is the genotypic main variance, which was partitioned into additive ( $V_A$ ), dominance ( $V_D$ ), and epistatic ( $V_{AA}$ ) variances;  $V_{GE}$  is the G×E interaction variance, partitioned into additive × environment ( $V_{AE}$ ), dominance × environment ( $V_{DE}$ ), and epistatic × environment ( $V_{AAE}$ ) interaction variances; finally,  $V_e$  is the residual variance.

Analogously, the equivalent expression for covariance components is:

$$C_P = C_G + C_{G \times E} + C_e = C_A + C_D + C_{AA} + C_{AE} + C_{DE} + C_{AAE} + C_e$$

Variances and covariance components were estimated by the minimum norm quadratic unbiased estimation method 1 (MINQUE 1) (Zhu and Weir, 1996). Standard errors of the statistics were obtained by the jackknife technique (Miller, 1974). These computations were performed with QGA Station software ver. 1.0 (provided by Prof. Jun Zhu, Bioinformatics Institute, Zhejiang University, China).

Narrow-sense heritability ( $h^2$ ) was calculated as  $V_A/V_P$  (Falconer, 1970).

The effective number of loci ( $\hat{n}_e$ ) in which the accessions studied differ for the control of the recorded trait was estimated using the Castle–Wright estimator (Lynch and Walsh, 1998):

$$\hat{n}_e = \frac{(\bar{P}_1 - \bar{P}_2)^2 - V_{P_1} - V_{P_2}}{8V_S}$$

where  $\bar{P}_1$  and  $\bar{P}_2$  are the phenotypic means of parents 1 and 2, respectively;  $V_{P_1}$  and  $V_{P_2}$  are the phenotypic variances of parents 1 and 2, respectively;  $V_S$  is the estimated segregation variance. The  $V_S = 2V_{F_2} - V_{BC_1P_1} - V_{BC_1P_2}$  expression was used to consider possible dominance effects (Wright, 1968), where  $V_{BC_1P_1}$  and  $V_{BC_1P_2}$  are phenotypic variances of the two backcross generations. The standard error of ( $\hat{n}_e$ ) from Castle–Wright estimator was calculated using the methods described in (Lynch and Walsh, 1998).



## 5.4 RESULTS

The ANOVA on data from the parents and from the four generations studied found significant differences between the parents for the traits curvature, projected area, seed length, seed width, 100-seed weight, pod length, seed/pod, ashes, Ca, Mg, protein, starch, mealiness, seed-coat roughness, and seed-coat perceptibility (Table 1). Only these traits were included in the genetic study.

There were significant differences between locations for all traits except the number of seeds per pod, the magnesium content of the seed coat, and seed-coat roughness (Table 1). In the plants cultivated in the greenhouse, seeds were larger and more curved, and they had higher protein content and were less mealy. They also had a lower content of calcium and ash in the seed coat. The interaction genotype  $\times$  location was significant for all agronomic and morphologic traits except degree of curvature. The block effect was not significant.

The ADAA analysis found significant genetic variance for all traits (Table 2). The total genetic variance ( $V_A + V_D + V_{AA}$ ) was very high for all agronomic and morphologic traits studied, accounting for more than 73% of the phenotypic variance except in the traits seed width and pod length. In the remaining traits, the proportion of genetic variance was lowest for mealiness, where it accounted for 44.14% of the phenotypic variance. In the trait curvature, the total genetic variance accounted for 94.6% of the phenotypic variance, mainly due to additive effects; the environmental variance was very low for this trait. Other traits where the environmental variance was low include the projected area, seed length, 100-seed weight, ash, and calcium. Although variance due to the interaction G $\times$ E was present in all the traits, the only cases where it accounted for more than 17% of the total phenotypic variance were seed width, 100-seed weight, pod length, and mealiness.

The narrow-sense heritability was significant for all traits except ash and calcium in the seed coat (Table 2), because these two traits do not have an additive component. The traits with the highest narrow sense heritability (about 0.75) were curvature and the number of seeds per pod. The traits with the lowest heritability ( $<0.1$ ) were protein and starch content; heritability for the remaining traits ranged from 0.27 to 0.60 (Table 2).

The estimates of dominance variance were significantly greater than zero for all traits except pod length, number of seeds per pod, and seed-coat roughness, whereas the epistatic component was significant only for seed length, 100-seed weight, pod length, number of seeds per pod, mealiness, and seed-coat roughness, all of which, however, had very low values, accounting for less than 3.5% of the phenotypic variance (except for the trait seed-coat roughness, where the epistatic variance was the main component, with a value very similar to the additive variance). As epistatic variance was generally low, dominance variance in the traits where it was found must be attributed to partial or total dominance within loci (Table 2).

**Table 1.** Mean ( $\pm$  standard error) values of the traits submitted to the ADAA analysis, in each of the generations and locations studied.

	P <sub>1</sub> (Montcau)	P <sub>2</sub> (Xana)	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	BC <sub>1</sub> P <sub>1</sub>	BC <sub>2</sub> P <sub>2</sub>	LSD	OP <sub>1</sub>	OP <sub>2</sub>	GH	LSD
Curvature <sup>a</sup>	0.15 $\pm$ 0	0.04 $\pm$ 0*	0.07 $\pm$ 0	0.09 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0	0.06 $\pm$ 0	0.01	0.08 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.01	0.1 $\pm$ 0.01	0.01
Projected area <sup>b</sup>	95.1 $\pm$ 1.8	129.7 $\pm$ 5.7*	117.7 $\pm$ 6.2	111.3 $\pm$ 5.7	110.4 $\pm$ 4.6	119.1 $\pm$ 6.8	4.0	102.7 $\pm$ 1.7	102.3 $\pm$ 2.4	136.3 $\pm$ 3.6	2.8
Seed length <sup>c</sup>	15.5 $\pm$ 0.1	20.8 $\pm$ 0.4*	18.8 $\pm$ 0.4	17.9 $\pm$ 0.4	17.3 $\pm$ 0.3	19.2 $\pm$ 0.4	0.4	17.5 $\pm$ 0.3	17.5 $\pm$ 0.3	19.7 $\pm$ 0.4	0.3
Seed width <sup>c</sup>	8 $\pm$ 0.1	7.8 $\pm$ 0.2*	7.7 $\pm$ 0.3	7.8 $\pm$ 0.2	8.1 $\pm$ 0.2	7.7 $\pm$ 0.3	0.2	7.4 $\pm$ 0.1	7.3 $\pm$ 0.1	8.8 $\pm$ 0.1	0.1
100-seed weight <sup>d</sup>	45.2 $\pm$ 1.3	91.6 $\pm$ 7.5*	76.2 $\pm$ 4.3	64.6 $\pm$ 2.9	61.7 $\pm$ 3.4	79.9 $\pm$ 5.8	5.1	57.2 $\pm$ 1.9	64.6 $\pm$ 3.1	86.3 $\pm$ 4.9	3.6
Pod length <sup>e</sup>	17.1 $\pm$ 0.2*	15.4 $\pm$ 0.3	16.6 $\pm$ 0.2	16.7 $\pm$ 0.2	17.9 $\pm$ 0.4	15.7 $\pm$ 0.4	0.7	16.3 $\pm$ 0.3	16.5 $\pm$ 0.3	16.9 $\pm$ 0.2	0.5
Seed/pod	4.2 $\pm$ 0.2*	2.2 $\pm$ 0.1	3.6 $\pm$ 0.1	3.5 $\pm$ 0.1	4.1 $\pm$ 0.2	3 $\pm$ 0.1	0.3	3.4 $\pm$ 0.2	3.6 $\pm$ 0.2	3.4 $\pm$ 0.1	-
Ashes <sup>f</sup>	51.3 $\pm$ 2.8*	41.3 $\pm$ 3	63.9 $\pm$ 2.9	54.1 $\pm$ 2.2	54.1 $\pm$ 2.4	53.6 $\pm$ 2.8	5.4	60.1 $\pm$ 1.3	61 $\pm$ 1.6	44.5 $\pm$ 1.6	3.7
Calcium <sup>f</sup>	13.5 $\pm$ 0.9*	9.7 $\pm$ 1	18.2 $\pm$ 1.1	14.4 $\pm$ 0.9	14.5 $\pm$ 0.9	13.8 $\pm$ 1.1	1.7	16.9 $\pm$ 0.5	17.1 $\pm$ 0.6	10.6 $\pm$ 0.5	1.2
Magnesium <sup>f</sup>	3.7 $\pm$ 0.1	2.8 $\pm$ 0.1*	3.2 $\pm$ 0.1	3.4 $\pm$ 0.1	3.4 $\pm$ 0.1	3.2 $\pm$ 0.1	0.5	3.3 $\pm$ 0.1	3.2 $\pm$ 0.1	3.4 $\pm$ 0.1	-
Protein <sup>g</sup>	268.8 $\pm$ 3.5	236 $\pm$ 2.4*	229.8 $\pm$ 5.4	244.8 $\pm$ 6.2	252.1 $\pm$ 4.6	237.5 $\pm$ 6	14.2	243.9 $\pm$ 3.4	232.5 $\pm$ 4.7	255.6 $\pm$ 3.4	10.0
Starch <sup>g</sup>	358.9 $\pm$ 6.1	390.7 $\pm$ 6.3*	403.6 $\pm$ 6.7	388.4 $\pm$ 7	380 $\pm$ 5.9	398.7 $\pm$ 8.2	17.8	391.9 $\pm$ 4.2	403.8 $\pm$ 5.2	370 $\pm$ 4.4	12.5
Mealiness <sup>h</sup>	3.8 $\pm$ 0.2	4.8 $\pm$ 0.1*	4.5 $\pm$ 0.2	4.3 $\pm$ 0.1	4.3 $\pm$ 0.2	4.6 $\pm$ 0.2	0.3	4.9 $\pm$ 0.1	4.4 $\pm$ 0.1	3.9 $\pm$ 0.1	0.2
Seed-coat roughness <sup>i</sup>	7 $\pm$ 0.1*	5.3 $\pm$ 0.1	6.7 $\pm$ 0.1	6.9 $\pm$ 0.1	6.9 $\pm$ 0.2	6.2 $\pm$ 0.2	0.5	6.6 $\pm$ 0.1	6.9 $\pm$ 0.1	6.5 $\pm$ 0.2	-
Seed-coat perceptibility <sup>j</sup>	3.2 $\pm$ 0.2	6.4 $\pm$ 0.4*	5.6 $\pm$ 0.2	4.9 $\pm$ 0.2	4.7 $\pm$ 0.2	5.2 $\pm$ 0.4	0.8	4.6 $\pm$ 0.2	5.2 $\pm$ 0.3	5.2 $\pm$ 0.3	0.6

OP<sub>1</sub>: Open field in Sabadell; OP<sub>2</sub>: Open field in Rubí; GH: Greenhouse; LSD, least significant difference. \*Corresponding to the dominant parent for each trait. <sup>a</sup>Measured in a scale from 0 to 0.17, (0 correspond to uncurved seed and 0.17 correspond to the most curved possible seed); <sup>b</sup>Expressed in mm<sup>2</sup>; <sup>c</sup>Expressed in mm; <sup>d</sup>Expressed in g; <sup>e</sup>Expressed in cm; <sup>f</sup>Expressed in mg/kg; <sup>g</sup>Expressed in g/kg; <sup>h</sup>0 represents Ganxet Montcau reference intensity and 10 represents Tolosa reference; <sup>i</sup>0 represents Tolosa reference intensity and 10 represents Ganxet Montcau reference intensity; <sup>j</sup>0 represents Ganxet Montcau (cooked with distilled water) reference intensity and 10 represents Ganxet Montcau (cooked with 200 ppm of Ca) reference intensity.

**Table 2.** Results from the ADAA analysis, together with heritability estimated for all traits and followed by their standard error.

	$V_A$	$V_D$	$V_{AA}$	$V_{AE}$	$V_{DE}$	$V_{AAE}$	$V_e$	$V_P$	$h^2$
Curvature <sup>a</sup>	32.7±3.86**	10.16±1.78**	0	0	1.17±0.32**	0.02±0**	1.28±0.28**	45.33±5.95**	0.72±0.04**
Projected area	187.5±32.99**	76±16.46**	0	1.47±0.28**	21.51±4.36**	27.42±6.33**	29.59±5.47**	343.49±94.04**	0.55±0.04**
Seed length	4.49±0.59**	1.91±0.35**	0.26±0.04**	0	0.46±0.09**	0.13±0.02**	0.26±0.04**	7.52±1.10**	0.60±0.04**
Seed width	0.11±0.03**	0.03±0.01**	0	0	0	0.10±0.02**	0.06±0.02**	0.30±0.16*	0.35±0.02**
100-seed weight	219.32±43.02**	268.17±52.51**	24.27±4.66**	83.19±15.43**	55.09±13.99**	16.61±3.42**	27.93±6.73**	694.60±176.84**	0.32±0.03**
Pod length	1.07±0.26**	0	0.01±0**	1.01±0.22**	0	0.03±0.01**	0.92±0.21**	3.03±1.06**	0.35±0.04**
Seed/pod	0.98±0.13**	0	0.02±0**	0.18±0.04**	0	0	0.14±0.03**	1.32±0.25**	0.75±0.04**
Ashes	0	263.77±40.55**	0	0±0	7.88±1.47**	3.03±0.66**	25.62±7.19**	300.30±85.90**	0
Calcium	0	39.68±5.64**	0	1.05±0.27**	2.49±0.53**	0	2.59±0.66**	45.81±11.45**	0
Magnesium	0.13±0.03**	0.08±0.02**	0	0	0	0.04±0.01**	0.12±0.04**	0.36±0.32	0.35±0.04**
Protein	68.94±16.36**	531.48±141.51**	0	0	0	117.23±30.27**	134.08±30.22**	851.72±521.45	0.08±0.03**
Starch	41.42±10.02**	454.79±114.44**	0	154.31±37.72**	0	0	241.52±56.38**	892.04±613.84	0.05±0.02*
Mealiness	0.19±0.03**	0.01±0**	0.01±0**	0.13±0.04**	0.07±0.02**	0	0.07±0.02**	0.47±0.19**	0.4±0.03**
Seed-coat roughness	0.15±0.03**	0	0.15±0.04**	0.05±0.02**	0	0.02±0**	0.19±0.04**	0.55±0.48	0.27±0.04**
Seed-coat perceptibility	1.44±0.34**	1.10±0.25**	0	0.48±0.11**	0	0	0.74±0.17**	3.77±1.36**	0.38±0.03**

\* significant at P &lt;0.05; \*\* significant at P &lt;0.01.

<sup>a</sup>The same units than Table 1.

$V_A$ , additive variance;  $V_D$ , dominance variance;  $V_{AA}$ , additive epistatic variance;  $V_{AE}$ , variance of the interaction between the additive and environmental effects;  $V_{DE}$ , variance of the interaction between the dominance and environmental effects;  $V_{AAE}$ , variance of the interaction between the additive epistatic and environmental effects;  $V_e$ , Variance of the error term in the model;  $V_P$ : phenotypic variance;  $h^2$ , narrow-sense heritability.

The effective number of loci is an estimate of the number of genes for which parental lines differ and that are involved in the control of a trait. We started with lines that were on the opposite extremes for the curvature of the seed (Fig. 1). Thus, we considered that only the estimates for this trait were reliable. By location, the estimates of the effective number of loci for the trait degree of curvature were  $2.06 \pm 0.1$  loci in Sabadell,  $2.93 \pm 0.17$  in Rubí, and  $2.77 \pm 0.14$  in Viladecans' greenhouse. Thus, we consider it reasonable that the extreme curvature of the Ganxet derives from alleles at three loci.

The ADAA model makes it possible to determine the additive and dominance components of the genetic covariances to calculate the different types of correlations and evaluate the possibilities of carrying out indirect selection. Table 3 shows the significant additive and phenotypic correlations between the traits studied and the curvature of the seed.

The majority of the additive correlations were very high. Seed curvature correlated positively with seed width, pod length, number of seeds per pod, magnesium content, protein content, and seed-coat roughness, and negatively with projected seed area, seed length, 100-seed weight, and mealiness (Table 3). All the phenotypic correlations were significant and of the same sign as the genetic additive ones.

**Table 3.** Significant genetic additive and phenotypic correlations between seed curvature and the other traits studied, followed by their standard error.

	Additive	Phenotypic
Projected area (mm <sup>2</sup> )	-1 ± 0.22**	-0.87 ± 0.10**
Seed length (mm)	-0.98 ± 0.12**	-0.98 ± 0.07**
Seed width (mm)	0.97 ± 0.14**	0.7 ± 0.18**
100-seed weight (g)	-1 ± 0.13**	-0.93 ± 0.08**
Pod length (cm)	1 ± 0.22**	0.7 ± 0.20**
Seed/pod	1 ± 0.11**	0.83 ± 0.15**
Magnesium (mg/Kg)	0.79 ± 0.12**	0.73 ± 0.20**
Protein (g/Kg)	1 ± 0.40*	0.74 ± 0.13**
Starch (g/Kg)		-0.87 ± 0.20**
Mealiness	-1 ± 0.13**	-0.97 ± 0.12**
Seed-coat roughness	1 ± 0.36**	1 ± 0.19**
Seed-coat perceptibility		-0.58 ± 0.19**

\* significant at P <0.05; \*\* significant at P <0.01.

## 5.5 DISCUSSION

Two of the experimental environments (Sabadell and Rubí) were selected because they are representative of the area and soil specified for Ganxet bean cultivation in the definition of the Protected Designation of Origin. The third environment was a greenhouse with controlled, optimal conditions for the development of all the genotypes. The high cation exchange capacity of the

substrate used in the greenhouse environment is especially important, given that this characteristic is associated with higher protein content and less mealiness in beans (Flórez *et al.*, 2009).

In our experiment, materials cultivated in the greenhouse had not only higher protein content and less mealiness, but also greater curvature and size of the seed (greater projected area, length, width, and 100-seed weight). The increase in the size of the seeds along all dimensions seems reasonable given the greater abundance of nutrients and especially moisture. However, the explanation for why favorable environmental conditions should lead to greater seed curvature does not seem so simple. One plausible hypothesis is that the degree of curvature in Ganxet beans might be the consequence of the inhibition of seed growth in the area of the hilum; in this case, factors that favor the growth of the rest of the seed would tend to increase the curvature. To test this hypothesis, we analyzed the environmental correlations in F<sub>1</sub>, because this generation had no genetic variance, so the differences observed must be due to environmental effects. We found significant positive environmental correlations ( $p < 0.001$ ) between seed curvature and the traits related to the size of the seed (100-seed weight ( $r = 0.67$ ), projected area ( $r = 0.75$ ), seed length ( $r = 0.65$ ), and seed width ( $r = 0.83$ )), which would support our hypothesis.

The distribution of the population according to the curvature in the different generations studied suggests that the uncurved shape is dominant; the mean for the individuals in F<sub>1</sub> is closer to that for the uncurved parents than to that for the curved parents (Table 1). The deviations from the mean observed both in the parents and in F<sub>1</sub> must be attributed to environmental effects because these are non-segregating generations. The environmental effects probably convert any model based on the control of a trait by two or more loci into a continuous model (Table 1). Thus, based on the means and distributions, it seems that curvature fits a quantitative model with partial dominance toward uncurved seed shape within the locus.

The ADAA model confirmed the mode of inheritance of the curvature trait in which the additive component of variance predominates over the dominance component (Table 2). Both the environmental variance (contained within the residual variance) and the genotype  $\times$  environment variance, although significant, were small. This results in a narrow-sense heritability of 0.72, which indicates that the response to selection in heterogeneous populations will be high. Of particular importance for breeding, the low effect of the environment on this trait indicates that the phenotype is a good reference for the genetic constitution of each plant (Table 2).

The estimated effective number of loci involved in the control of the curvature using the Castle-Wright method was about three. So if we assume that the wild-type bean is uncurved, the parent P<sub>1</sub> (Montcau) would be a partially recessive triple homozygote with complete additivity among loci, given that the epistatic variance is null. This is not true for the interactions  $V_{DE}$  and  $V_{AAE}$ , which is also reflected in the different estimates of the number of loci involved according to the location.

The rest of the agronomic and morphologic traits except the number of pods per plant and the length of the seed were normally distributed in  $F_2$ ; this finding, together with the breakdown of the phenotypic variance (Table 2), suggests control by multiple genes, with two or more loci involved. This supposed quantitative control coincides with the results reported by Pérez-Vega *et al.* (2010), who identified QTLs for some of these traits in a Xana x Cornell family of recombinant inbred lines, as well as with the data reported by Motto *et al.* (1978), Vallejos and Chase (1991) Akande and Balogun (2007), Dalla Corte *et al.* (2010) and Yuste-Lisbona *et al.* (2014).

Casañas *et al.* (2013) found polygenic control for the chemical traits in both the seed coat and embryo and mapped the QTLs involved in the genetic control of the chemical traits in the Xana x Cornell family of recombinant inbred lines mentioned above. The normal distribution of these traits in our  $F_2$  generation is in concordance with these previous results.

The only trait that had a heritability of the same order of magnitude as degree of curvature was the number of seeds per pod ( $h^2=0.75$ ) (Table 2). Nearly all the genetic variance for this trait was additive, and there was no dominance variance, although there was also very small epistatic variance. Nienhuis and Singh (1988) reported a somewhat lower heritability for the trait number of seeds per pod ( $h^2=0.57$ ). The heritabilities of the remaining traits varied widely and can be divided into three groups. The first group includes the area and length of the seed, which had heritabilities of 0.55 and 0.60, respectively. In both cases, the additive variances were much higher than the dominance variances, with a significant  $V_{GE}$  (Table 2). The second group, with heritabilities ranging between 0.27 and 0.4, includes seed width, 100-seed weight, pod length, magnesium content, and the sensory traits mealiness, seed-coat roughness, and seed-coat perceptibility. In this group, the heritabilities resulted from different combinations of variances. In 100-seed weight, the dominance genetic variance was greater than the additive, whereas in the rest of the traits the variance of the interactions and the environmental variance were what led to medium and low heritabilities. Finally, a third group includes ash content, calcium content, protein content, and starch content. In these traits, the dominance genetic variance was much greater than the additive. This, together with the large interaction and environmental variances, led to heritabilities near zero (Table 2). Nevertheless, even the traits with low narrow-sense heritabilities had high broad-sense heritabilities (100-seed weight=0.74, ash=0.88, Ca=0.87, protein=0.7, and starch=0.56). As the main aim of this investigation is to apply the results in backcross procedures, we can also transfer the dominant variability to our recurrent lines because this process results in homozygous individuals. The transfer of recessive genes is slow in the absence of linked molecular markers, but even without these markers this practice is widely used.

In a study starting from a cross between a domesticated variety and a wild variety, Motto *et al.* (1978) reported much higher narrow-sense heritabilities for seed length and seed width than those found in the present study. On the other hand, our results fall within the wide range of heritabilities

for these two traits calculated by Dalla Corte *et al.* (2010) from crosses among three varieties. Since heritability is a population-dependent parameter, the differences in the values reported is not surprising.

We found numerous significant additive genetic and phenotypic correlations between the curvature of the seed and the other traits (Table 3). In general, high additive genetic correlations suggest pleiotropic effects rather than linkage (Table 3). It seems that a high curvature is related to small seeds with high protein content, low mealiness, and high seed-coat roughness, together with long pods and many seeds per pod. Other authors have reported similar genotypic correlations. Casañas *et al.* (1998) found a positive genotypic correlation between curvature and protein content ( $r=0.68$ ,  $p\leq 0.05$ ). Pujolà *et al.* (2004) found a negative genotypic correlation between mealiness and protein content ( $r=-0.59$ ,  $p\leq 0.1$ ). Given the Ganxet parent was characterized by highly curved seeds with high protein content and low mealiness, these traits could also be caused by linkage and would therefore be unaffected by recombination in the generations studied.

In view of the additive correlations found, the trait curvature can be a simple morphologic marker for introducing Ganxet's high protein content and low mealiness into other varieties, improving nutritional and sensory value (low mealiness is a preferential trait in beans, Casañas *et al.*, 2006). Large increases in protein and decreases in mealiness would not be expected through backcrossing with Xana, because Xana has medium protein content and mealiness. Ganxet would be most useful in backcrosses with other varieties with lower protein content and higher mealiness.

Earlier studies found evidence of negative genotypic correlation between the degree of curvature and yield ( $-0.68$ ,  $p\leq 0.05$ , Casañas *et al.*, 1998). In our general study of correlations, curvature had no significant genetic correlation with yield. Nevertheless, this could be partly due to the lower than usual yields for the Xana parent in all three locations than in their usual place of cultivation or to the lower yield of plants with type I growth habit compared to those with type IV habit. An analysis of the genotypic correlations done solely from the data collected in the greenhouse (where both parents had equally optimal conditions for their development) showed negative correlations between curvature and yield ( $r= -0.42$ ,  $p < 0.05$ ), and environmental correlations done only on the data from the Ganxet variety in the three locations were similar ( $r=-0.62$ ,  $p<0.001$ ).

Decreased protein content has been associated with domestication because wild beans have a greater proportion of protein than cultivated beans (Sotelo *et al.*, 1995; Guzman-Maldonado *et al.*, 2000). A negative correlation between protein content and yield has also been reported (Shellie-Dessert and Bliss, 1991). It remains to be determined to what extent increases in protein from introgression from Ganxet into other materials would compensate for accompanying losses in yield.

Our data (Tables 2 and 3) indicate that, in general, all the traits studied have a quantitative basis with a high additivity effect between loci and a variable dominance effect within loci. The Montcau parent (Ganxet) would have a predominance of recessive genes encoding for high curvature, low 100-seed weight, high protein content and low mealiness (Table 1). Pleiotropy/linkage between the degree of curvature and some traits makes it difficult to establish separate models for the genetic structure that controls the traits studied.

We do not know the position of the loci involved within the genome or whether they are located in areas with high or low recombination. We are now undertaking two approaches to resolve this problem. On the one hand, in a practical way, we are using a classical approach to try to introduce the trait into diverse inbred lines through backcrossing and checking the results (ease of recovery of the genetic background of the recurrent, confirmation of the pleiotropic/linking effects of the genes involved in the degree of curvature of the seed in Ganxet). On the other hand, we are developing a family of recombinant inbred lines from Montcau x Xana and trying to map the loci involved as accurately as possible. The complete sequencing of the bean genome (Schmutz *et al.*, 2014) and comparison of the syntenies with model species studied in greater detail offers hope for the identification of the genes and the development of internal markers that will facilitate the definitive evaluation of the potential of Ganxet as a donor of genes in bean breeding programs.

## 5.6 CONCLUSIONS

The genetic control of the curvature of the seed in the Ganxet variety comes mainly from an additive component and to a lesser extent from a dominance component, which is reflected in high narrow-sense heritability. The trait seed curvature correlates with other traits of interest such as protein content and mealiness, probably due to pleiotropy. Moreover, seed curvature is controlled by only three loci and is not very sensitive to environmental effects, so it will be relatively easy and fast to create new inbred lines that incorporate this trait in homozygosis. The Ganxet variety, the only variety reported to date with a large incidence of this trait, can become an important resource for breeding programs to improve the nutritional and sensory quality of beans. Apparently the use of backcrossing methods could increase protein content and creaminess in most varieties.

## Acknowledgements

The Spanish Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) funded this research through the project RTA INIA 2011-00076-C02-02. We want also thank Dr. Juan José Ferreira (SERIDA) for supplying seeds of Xana.



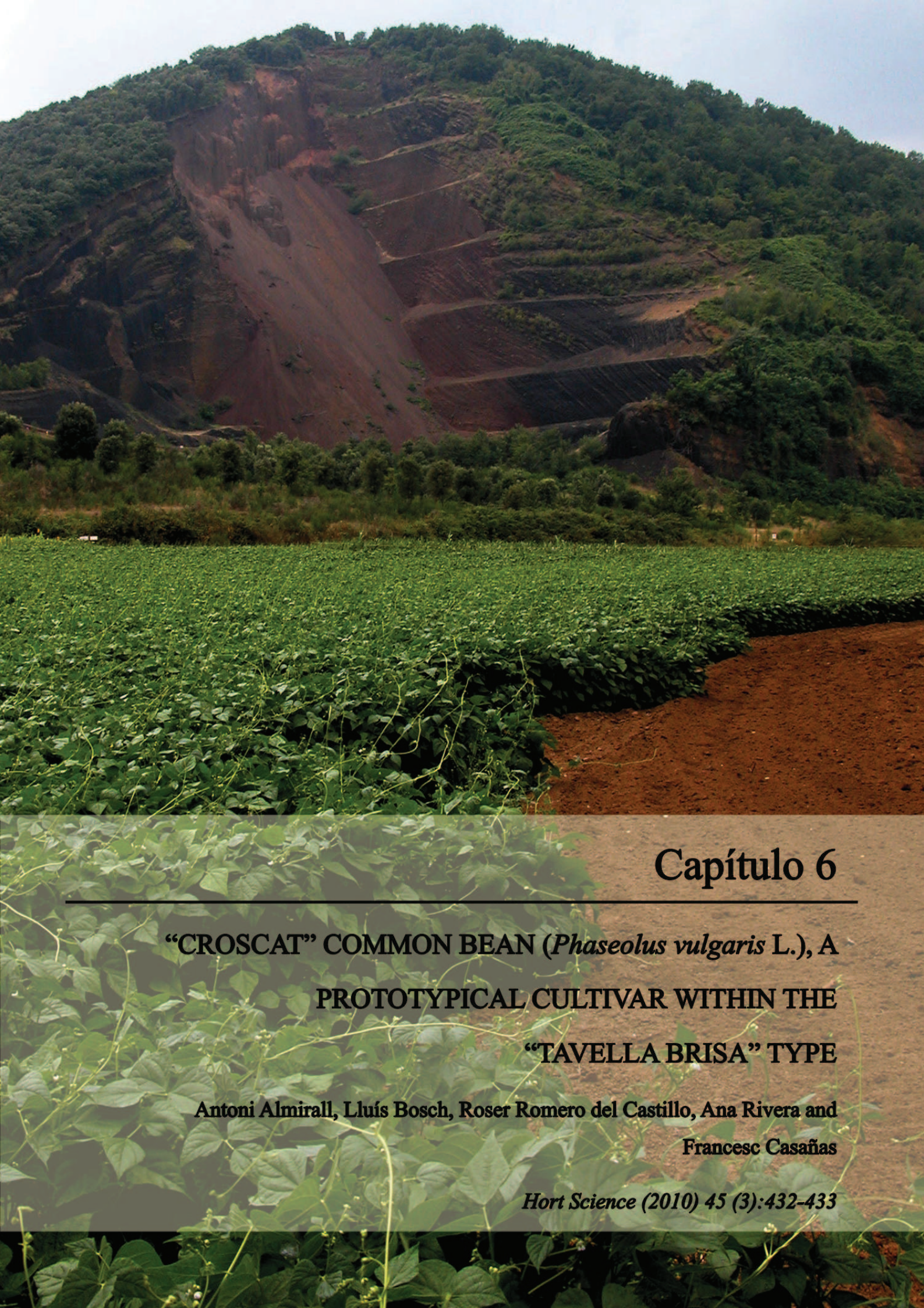
## 5.7 REFERENCES

- Akande, S.R., Balogun, M.O., 2007. Evaluation and heritability studies of local Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) cultivars from south-west Nigeria. *Rev. Cient. UDO Agric.* 7, 22–28.
- Blair, M.W., Iriarte, G., Beebe, S., 2006. QTL analysis of yield traits in an advanced backcross population derived from a cultivated Andean x wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. *Theor. Appl. Genet.* 112, 1149–1163.
- Bosch, L., Casañas, F., Sánchez, E., Pujolà, M., Nuez, F., 1998. Selection L67, a pure line with true seed type of the Ganxet common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 33, 905–906.
- Broughton, W., Hernandez, G., Blair, M., Bee, S., Gepts, P., Vanderleyden, J., 2003. Beans (*Phaseolus* spp.)—model food legumes. *Plant Soil* 252, 55–128.
- Casañas, F., Bosch, L., Sanchez, E., Romero del Castillo, R., Valero, J., 1998. Características de la alubia Ganxet (*Phaseolus vulgaris* L.) y acciones para su conservación. *Investig. Agrar. Prod. y Protección Veg.* 13, 43–56.
- Casañas, F., Pujola, M., Bosch, L., Sánchez, E., Nuez, F., 2002. Chemical basis for the low sensory perception of the Ganxet bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed coat. *J. Sci. Food Agric.* 82, 1282–1286.
- Casañas, F., Pujolà, M., Romero del Castillo, R., Almirall, A., Sáchez, E., Fernando, N., 2006. Variability in some texture characteristics and chemical composition of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Sci. Food Agriculture* 86, 2445–2449.
- Casañas, F., Pérez-Vega, E., Almirall, A., Plans, M., Sabaté, J., Ferreira, J.J., 2013. Mapping of QTL associated with seed chemical content in a RIL population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica* 192, 279–288.
- Commission Implementing Regulation (EU) No 1376/2011 of 20 December 2011 entering a name in the register of protected designations of origin and protected geographical indications (Mongeta del Ganxet (PDO), 2011. *OJ L* 343, p. 14–15.
- Costa, C., Antonucci, F., Pallottino, F., Aguzzi, J., Sun, D.-W., Menesatti, P., 2011. Shape analysis of agricultural products: a review of recent research advances and potential application to computer vision. *Food Bioprocess Technol.* 4, 673–692.
- Coyne, D.P., 1968. Correlation, heritability, and selection of yield components in field beans, *Phaseolus vulgaris* L. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 93, 388–396.
- Dalla Corte, A., Moda-Cirino, V., Arias, C.A.A., Ferraz de Toledo, J.F., Destro, D., 2010. Genetic analysis of seed morphological traits and its correlations with grain yield in common bean. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* 53, 27–34.
- Falconer, D.S., 1970. *Introducción a la Genética Cuantitativa*, 2ª Impresión. Compañía Editorial Continental, S.A. México.

- Flórez, A., Pujolà, M., Valero, J., Centelles, E., Almirall, A., Casañas, F., 2009. Genetic and environmental effects on chemical composition related to sensory traits in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chem.* 113, 950–956.
- Ghasemlou, M., Gharibzahedi, S.M.T., Emam-Djomeh, Z., 2013. Relating consumer preferences to textural attributes of cooked beans: Development of an industrial protocol and microstructural observations. *LWT - Food Sci. Technol.* 50, 88–98.
- Guzman-Maldonado, S.H., Acosta-Gallegos, J., Paredes-Lopez, O., 2000. Protein and mineral content of a novel collection of wild and weedy common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Sci. Food Agric.* 80, 1874–1881.
- Hanan, J., 1998. *Greenhouses: Advanced Technology for Protected Horticulture*. CRC Press, Boca Raton.
- Hayat, I., Ahmad, A., Masud, T., Ahmed, A., Bashir, S., 2014. Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 54, 580–592.
- IBPGR, 1982. *Phaseolus vulgaris* descriptors. Rome.
- Johannsen, W.L., 1903. “Om arvelighed i samfund og i rene linier,” *Kongelige Danske Videnskabernes Selskabs Forhandlinger*. 3, 235–294.
- Lynch, M., Walsh, B., 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*, first ed. Sinauer Assoc Sunderland.
- Mendiburu, F., 2010. *Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*. R package version 1.0-9. <http://CRAN.R-project.org/package=agricolae>. (accessed December 2014).
- Miller, R., 1974. The jackknife-a review. *Biometrika* 61, 1–15.
- Mkanda, A.V., Minnaar, A., L de Kock, H., 2007. Relating consumer preferences to sensory and physicochemical properties of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Sci. Food Agric.* 87, 2868–2879.
- Motto, M., Soressi, G., Salamini, F., 1978. Seed size inheritance in a cross between wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Genetica* 49, 31–36.
- Nienhuis, J., Singh, S.P., 1988. Genetics of seed yield and its components in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) of Middle-American origin. 1. General combining ability. *Plant Breed.* 101, 155–163.
- Park, S., Coyne, D., 2000. Mapping of QTL for seed size and shape traits in common bean. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 125, 466–475.
- Pérez-Vega, E., Pañeda, A., Rodríguez-Suárez, C., Campa, A., Giraldez, R., Ferreira, J.J., 2010. Mapping of QTLs for morpho-agronomic and seed quality traits in a RIL population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genet.* 120, 1367–1380.
- , J., Casañas, F., Sabaté, J., 2012. Near-infrared spectroscopy analysis of seed coats of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.): A potential tool for breeding and quality evaluation. *J. Agric. Food Chem.* 60, 706–712.

- Plans, M., Simó, J., Casañas, F., Sabaté, J., Rodríguez-Saona, L., 2013. Characterization of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by infrared spectroscopy: Comparison of MIR, FT-NIR and dispersive NIR using portable and benchtop instruments. *Food Res. Int.* 54, 1643–1651.
- Plans, M., Simó, J., Casañas, F., Romero del Castillo, R., Rodríguez-Saona, L.E., Sabaté, J., 2014. Estimating sensory properties of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by near infrared spectroscopy. *Food Res. Int.* 56, 55–62.
- Pujolà, M., Casañas, F., Bosch, L., Almirall, A., Sánchez, E., Nuez, F., 2004. Creaminess and chemical composition in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) the roles of protein and starch, in: *Proceeding of the 5th European Conference on Grain Legumes: For the Benefit of Agriculture Nutrition and Environment*. Dijon.
- R Development Core Team, 2007. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <http://www.R-project.org>. (accessed December 2014).
- Romero del Castillo, R., Valero, J., Casañas, F., Costell, E., 2008. Training, validation and maintenance of a panel to evaluate the texture of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Sens. Stud.* 23, 303–319.
- Romero del Castillo, R., Costell, E., Plans, M., Simó, J., Casañas, F., 2012. A standardized method of preparing common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) for sensory analysis. *J. Sens. Stud.* 27, 188–195.
- Rull, A., Ferreira, J.J., Rivera, A., Fenero, D., Almirall, A., Casañas, F., 2012. Clasificación de las entradas del tipo varietal Ganxet recolectadas en Cataluña, in: *V Actas de la Asociación Española de Leguminosas*. Pontevedra, pp. 241–248.
- Sánchez, E., Sifres, A., Casañas, F., Nuez, F., 2007. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Catalonia, a Mesoamerican germoplasm hotspot to be preserved. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 82, 529–534
- Santalla, M., De Ron, A.M., Voysest, O., 2001. European bean market classes, in: Amurrio, M., Santalla, M., De Ron, A.M. (Eds.), *Calogue of Bean Genetic Resources. PHASELIEU-FAIR-3463-MBG-CSIC*, Fundación Pedro Barrié de la Maza, Pontevedra, Spain. pp.79-94.
- Schmutz, J., McClean, P.E., Mamidi, S., Wu, G.A., Cannon, S.B., Grimwood, J., Jenkins, J., Shu, S., Song, Q., Chavarro, C., Torres-Torres, M., Geffroy, V., Moghaddam, S.M., Gao, D., Abernathy, B., Barry, K., Blair, M., Brick, M.A., Chovatia, M., Gepts, P., Goodstein, D.M., Gonzales, M., Hellsten, U., Hyten, D.L., Jia, G., Kelly, J.D., Kudrna, D., Lee, R., Richard, M.M.S., Miklas, P.N., Osorno, J.M., Rodrigues, J., Thareau, V., Urrea, C.A., Wang, M., Yu, Y., Zhang, M., Wing, R.A., Cregan, P.B., Rokhsar, D.S., Jackson, S.A., 2014. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nat. Genet.* 46, 707–13.

- Shellie-Dessert, K.G., Bliss, F.A., 1991. Genetic improvement of food quality factors, in: Schoonhoven, A. Van, Voysest, O. (Eds.), *Common Beans: Research for Crop Improvement*. CAB International-CIAT, Wallingford, Uk, pp. 649–677.
- Shimelis, E.A., Rakshit, S.K., 2005. Proximate composition and physico-chemical properties of improved dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Ethiopia. *LWT - Food Sci. Technol.* 38, 331–338.
- Siddiq, M., Uebersax, M.A., 2013. Dry beans and pulses production and consumption. an overview, in: Siddiq, M., Uebersax, M.A. (Eds.), *Dry Beans and Pulses: Production, Processing and Nutrition*. Oxford, p. 408.
- Singh, S., 1982. A key for identification of different growth habits of *Phaseolus vulgaris* L. *Annu Rep Bean Improv Coop* 25, 92–95.
- Sotelo, A., Sousa, H., Sanchez, M., 1995. Comparative study of the chemical composition of wild and cultivated beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Foods Hum. Nutr.* 47, 93–100.
- Tar'an, B., Michaels, T.E., Pauls, K.P., 2002. Genetic mapping of agronomic traits in common bean. *Crop Sci.* 42, 544–556.
- Vallejos, C.E., Chase, C.D., 1991. Linkage between isozyme markers and a locus affecting seed size in *Phaseolus vulgaris* L. *Theor. Appl. Genet.* 81, 413–419.
- Wright, S., 1968. *Evolution and the Genetics of Populations, Volume 1: Genetic and Biometric Foundations*, Wright. University Of Chicago Press, Chicago.
- White, J.W., González, A., 1990. Characterization of the negative association between seed yield and seed size among genotypes of common bean. *F. Crop. Res.* 23, 159–175.
- Xu, Z., Zhu, J., 1999. An approach for predicting heterosis based on an additive, dominance and additive× additive model with environment interaction. *Heredity.* 82, 510–517.
- Yan, X.F., Xu, S.Y., Xu, Y.H., Zhu, J., 1998. Genetic investigation of contributions of embryo and endosperm genes to malt Kolbach index, alpha-amylase activity and wort nitrogen content in barley. *Theor. Appl. Genet.* 96, 709–715.
- Yuste-Lisbona, F.J., González, A.M., Capel, C., García-Alcázar, M., Capel, J., De Ron, A.M., Lozano, R., Santalla, M., 2014. Genetic analysis of single-locus and epistatic QTLs for seed traits in an adapted × nuña RIL population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genet.* 127, 897–912.
- Zun, J., 1992. Mixed model approaches for estimating genetic variances and covariances. *J. Biomath.* 7, 1–11.
- Zhu, J., Weir, B., 1996. Diallel analysis for sex-linked and maternal effects. *Theor. Appl. Genet.* 92, 1–9.



## Capítulo 6

---

**“CROSCAT” COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.), A  
PROTOTYPICAL CULTIVAR WITHIN THE  
“TAVELLA BRISA” TYPE**

**Antoni Almirall, Lluís Bosch, Roser Romero del Castillo, Ana Rivera and  
Francesc Casañas**

*Hort Science* (2010) 45 (3):432-433

The cultivar 'Crosca' is a common bean inbred line developed by the Fundació Miquel Agustí from the 'Tavella Brisa' landrace. This landrace is adapted to the climate (Mediterranean with Atlantic components) and soil (volcanic soil with high levels of potassium, very good water retention, and high cationic exchange capacity) of the Volcanic Region of Santa Pau in Garrotxa County in northeast Spain. Seeds are sown at the end of May or beginning of June, depending on the rains as the beans are cultivated without irrigation. Depending on the weather in the fall and the time when the seeds are sown, beans are harvested between the beginning of September and the end of October.

In the last 30 years, the 'Tavella Brisa' germplasm has suffered numerous introgressions (Sánchez *et al.*, 2007) that have modified the populations and affected its sensory value. On the other hand, this landrace, which now includes growth Types I and II (Singh, 1982), was formerly grown together with maize and suffers from lodging, thus making mechanized harvesting difficult when it is cultivated without support. 'Tavella Brisa Crosca' was developed through selection with the aim of preserving the sensory traits of the landrace (low seed-coat perceptibility, medium-low mealiness, mild and pleasant taste, purple pod) and its tolerance to drought and heat stress while improving the architecture of the plant (more upright) to facilitate mechanized harvesting. The new cultivar is also a good starting point for introducing resistances to diseases and pests. Furthermore, the development of a homogeneous inbred line that has the main differential traits of the landrace helps support the application for the European label Protected Denomination of Origin (European Commission, 2006a; 2006b) that the area's farmers have submitted.

## 6.1 ORIGIN

Seventeen entries of 'Tavella Brisa' were collected from the production area and their agricultural and morphological traits were studied together with molecular markers. The results showed wide genetic variability between and within entries (Sánchez *et al.*, 2007) in the growth habit, intensity of pod color, maturity, leaf size, drought tolerance, and yield, whereas sensory traits showed less genetic variation but more environmental variation. As a result of the high variability within entries, we built up a single selection pool representing the landrace, mixing about 20.000 seeds of all the entries we had collected. Field studies of this pool allowed us to identify diverse presumably inbred lines (no phenotypical segregation was observed between their progenies) that were interesting for some of the traits that we wanted to preserve or improve, but no single inbred line had all the desired qualities (upright architecture of the plants, short or medium cycle, high yield, round and not very big seeds, purple pods, low seed-coat perceptibility, and low mealiness). The inbred line L543, which has moderate yields and Type Ia growth habit (Singh, 1982), a short cycle, large leaves, large seeds, light purplish pod color, and high tolerance to drought (qualitatively measured

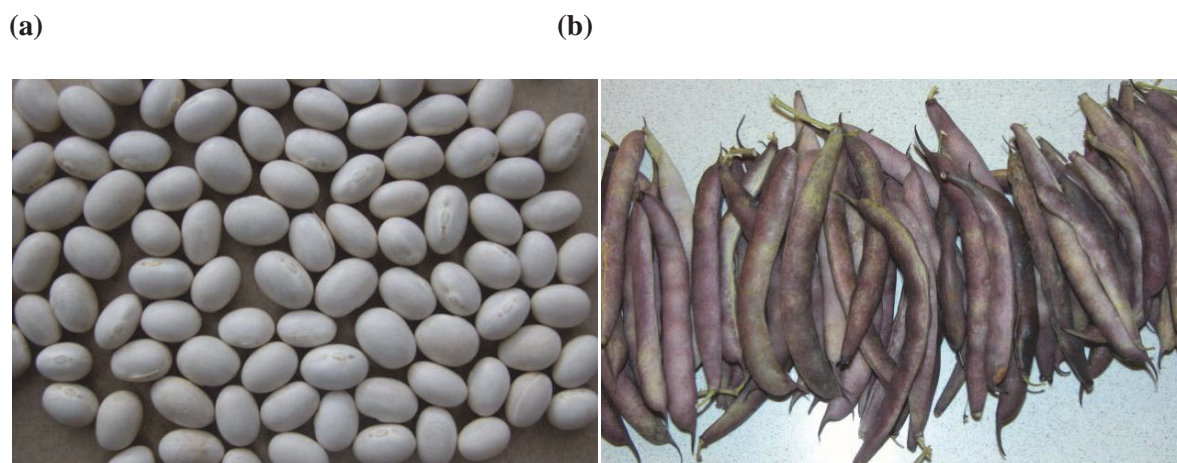
through the plants' appearance in dry periods and through production in dry years) was manually crossed in greenhouse with the inbred line L214, which has high yield, Type Ib growth habit (Singh, 1982), medium cycle, medium-sized leaves and seeds, strong purple pod color, and medium tolerance to drought. From this cross, we undertook a seven-generation pedigree-type breeding program starting with 73 F<sub>2</sub> families. Fifty plants from each family were controlled. We selected 72 of the 3.600 F<sub>2</sub> plants to study their progenies obtained by selfing. This scheme was maintained through F<sub>6</sub>. In F<sub>3</sub> and F<sub>4</sub> the selection was based mainly on the phenotype of individual plants, whereas in F<sub>5</sub>, F<sub>6</sub> and F<sub>7</sub> the mean phenotypical value of the families was the determining trait of selection. At F<sub>7</sub>, 'Tavella Brisa Crosca' was chosen from among nine candidate inbred lines as the closest to the ideotype we were seeking.

## 6.2 DESCRIPTION

We cultivated 'Tavella Brisa Crosca' in the locations Santa Pau, Santa Llúcia and La Cot, in the Volcanic Region of Santa Pau in 2006 and 2007. A sample of the selection pool (landrace) was used to control the advances in all desired traits. The Navy market class control T9905 (Hyland Seeds, div. of Thompsons Ltd., Blenheim, Canada) was also included in the experiment. We recorded parameters related to agronomic traits, plant morphology, and seed morphology according to IBPGR (1982) descriptors (Table 1) and sensory traits (Table 2).

The variety 'Tavella Brisa Crosca' belongs to the Navy commercial class (Voyses, 1999); it has upright Type Ia growth habit (Singh, 1982) and white flowers on inflorescences protected under large leaves. The pods are green but change to purple while ripening (in Catalan language, the variety's name means pod with the color of crushed grape skin) (Figure 1). This coloration is short-lived and the mature pod is parchment white. The seeds are small (25 g/100 seeds; Table 1), round, and white (Figure 1). The average yield is 1500 kg ha<sup>-1</sup>, which is similar to that of the landrace and of the commercial control (Table 1), but the variability in yields between years and between locations in the same year was much lower in 'Crosca' and in the landrace than in the commercial control (CVs 11%, 8%, and 63%, respectively). The control was especially sensitive to heat stress and drought.

The morphological aspects in which 'Crosca' is most different from the average of the landrace and more similar to the commercial control include fewer vines and more upright plants (Table 1). On the other hand, 'Crosca' has the characteristic purple pod of the landrace and some slightly larger leaves that protect the flower in the hottest periods (Table 1). Although a few 'Crosca' plants showed the classic symptoms of natural virus infection, no tests were performed to verify the presence of the virus.



**Figure 1.** Croscat seeds (a) and immature pods (b). Note the color of the immature pods that gives name to the landrace Tavella Brisa, origin of the new cultivar.

'Croscat's' upright architecture facilitates mechanized harvesting and prevents the losses that occur in the landrace due to lodging. The yields presented here correspond to manual harvesting in microplots (each plot consisted of five 5-meter-long rows separated from one another by 0.75m; only the three central rows were harvested) to ensure the entire crop was harvested. Dry seed yield of 'Croscat' and T9905 surveyed in mechanically harvested field trials was 25% higher than that of the original landrace (landrace control) as a result of the reduced losses during harvesting. Finally, 'Croscat' has a slightly shorter growth cycle than both controls. This is an advantage because there is a risk of frost at harvesting time.

**Table 1.** Agronomic traits of 'Croscat', the landrace and T9905.

Cultivar	Yield <sup>a</sup>	Weight (g)/ 100 seeds	Days to flowering	Days to maturity	Growth habit <sup>b</sup>	Plant architecture <sup>c</sup>	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Plant height (cm)	Virus <sup>d</sup>	Pod color <sup>e</sup>
Croscat	1527a*	25.0a	43.1a	97.3a	Ia	2.50a	12.2a	8.5a	44.5a	1.66a	1.94a
Landrace <sup>f</sup>	1321b	24.7a	46.9b	104.7b	I, II	1.58b	10.9b	7.4b	45.2a	2.12b	2.19a
T9905	1667a	25.5a	47.2b	109.1c	II	2.79a	10.6b	7.1b	53.0b	0.75c	0.00b

\*Values for the same trait followed by the same letter were not significant at  $p \leq 0.05$  in Duncan's multiple range test.

<sup>a</sup>Expressed in  $\text{kg ha}^{-1}$ .

<sup>b</sup>According to Singh (1982).

<sup>c</sup>Evaluation of the plant's architecture according to the phenotype that facilitates mechanized harvesting on a scale from 0 (prostrate) to 3 (completely upright).

<sup>d</sup>Evaluation of bean common mosaic virus symptoms on a scale from 0 (no plants with symptoms) to 3 (many plants with symptoms).

<sup>e</sup>Intensity of the purple color of the pod on a scale from 0 to 3.

<sup>f</sup>Represented by a sample of the initial selection pool.

No differences were observed between 'Croscat' and the initial landrace in seed-coat perceptibility, mealiness, or flavor (Table 2). Compared to 'Croscat', the commercial control T9905 was mealier and had a more intense flavor (Table 2). 'Croscat' cooks faster than the landrace and the commercial control and has the same low percentage of unbroken seeds after cooking as the landrace (Table 2).



**Table 2.** Sensory traits of ‘Croscat’, the landrace and T9905, quantified on a 10-cm semistructured scale with the extremes and the center of the line labeled with corresponding descriptions and culinary traits.

Cultivar	Sensory traits			Culinary traits	
	Seed-coat perceptibility <sup>a</sup>	Mealiness <sup>b</sup>	Flavor <sup>c</sup>	Cooking time (min)	Percent unbroken seeds after cooking
Croscat	4.84 a*	3.93a	3.00a	79a	10a
Landrace <sup>d</sup>	4.72 a	4.48ab	3.71ab	99b	12a
T9905	4.02 a	5.24b	4.05b	93b	30b

\*Values for the same trait followed by the same letter were not significant at  $p \leq 0.05$  in Duncan’s multiple range test.

<sup>a</sup>0 stood for extremely low perceptibility, like the Ganxet Montcau bean boiled with distilled water, and 10 stood for very high perceptibility, like the Ganxet Montcau bean boiled in water containing 200 ppm of Ca (Romero del Castillo *et al.*, 2008).

<sup>b</sup>0 meant high creaminess like the Ganxet Montcau bean boiled in distilled water and 10 meant high mealiness like the Tolosa bean cooked in distilled water (Romero del Castillo *et al.*, 2008).

<sup>c</sup>0 meant mild bean flavor like Plancheta and 10 meant strong bean flavor like Tolosa (Romero del Castillo *et al.*, 2008).

<sup>d</sup>Represented by a sample of the initial selection pool.

In summary, the cultivar Croschat maintains the morphological and sensory traits that are typical of the landrace as well as its adaptations to the relatively hot and dry climate of Garrotxa County, protecting flowers with dense, large leaves; however, unlike the original landrace, ‘Croschat’s’ upright architecture facilitates mechanized harvesting. Furthermore, because it is an inbred line, ‘Croschat’ can ensure the homogeneity of the product that reaches the market.

### Availability

‘Croschat’ is an inbred line and a plant patent under the name of ‘Croschat’ is currently pending. Small samples of seed for research purposes are available through the Fundació Privada Miquel Agustí (info@fundacimiquelagusti.com).

### 6.3 LITERATURE CITED

- European Commission. 2006a. Regulation (CE) 510/2006, on the protection of geographical indications and designations of origin for agricultural products and foodstuffs.
- European Commission. 2006b. Regulation (CE) 509/2006, on the guaranteed traditional specialities for agricultural products and foodstuffs.
- IBPGR. 1982. *Phaseolus vulgaris* L. descriptors. Rome.
- Romero del Castillo, R., Valero, J., Casañas, F., Costell, E., 2008. Training, validation and maintenance of a panel to evaluate the texture of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Sens. Stud.* 23, 303–319.
- Sánchez, E., Sifres, A., Casañas, F., Nuez, F., 2007. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Catalonia, a Mesoamerican germoplasm hotspot to be preserved. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 82, 529–534.

- Singh, S., 1982. A key for identification of different growth habits of *Phaseolus vulgaris* L. Annu Rep Bean Improv Coop 25, 92–95.
- Voysest, O., 2000. Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Legado de variedades de América latina 1930-1999. CIAT, Cali, Colombia.



## Capítulo 7

### DISCUSIÓN GENERAL

# DISCUSIÓN GENERAL

---

El equipo actualmente integrado en el grupo de investigación Fundació Miquel Agustí inició en 1992 la colecta de variedades tradicionales de judías en Cataluña. Desde entonces, hasta la actualidad, se ha prospectado todo el territorio catalán en diferentes campañas obteniendo más de 500 entradas. El objetivo final de estas colectas es asegurar la conservación *ex situ* de las entradas, pero a la vez evaluar su potencial, racionalizar su conservación y promocionar su utilización. Así mismo, mediante la promoción de su uso se pretende implicar a los productores en los procesos de conservación.

Después de la recolección y cumplimentación de los datos de pasaporte, el primer paso es conocer las características del material que se conserva. Para ello, se utilizan las herramientas convencionales en la agronomía y la genética, tales como las listas de descriptores de caracteres agronómicos y morfológicos o el análisis de fondo genético mediante marcadores moleculares. Dado que se trata de un equipo que trabaja en la mejora genética enfocada hacia las características organolépticas, la descripción de los caracteres sensoriales y culinarios se encuentra entre sus prioridades. En los últimos años este equipo ha desarrollado nuevas metodologías para poder realizar una descripción instrumental exhaustiva de dichos caracteres en los materiales que conserva (Romero del Castillo, 2011; Plans, 2014). Como se ha indicado, el objetivo de esta tesis es documentar la variabilidad recogida para racionalizar la conservación y fomentar el uso de los recursos fitogenéticos de judía.

## **7.1 RACIONALIZACIÓN DE LA COLECCIÓN DE ENTRADAS PROCEDENTES DE CATALUÑA Y CONSERVADAS EN EL BANCO DE LA FMA-ESAB Y DEL CRF**

Cataluña, como el resto de la Península Ibérica, constituye un centro secundario de diversificación de las judías (Santalla *et al.*, 2002; Sánchez *et al.*, 2007), cuenta además con una larga tradición en el cultivo y consumo de este producto. Estos hechos son la razón por la cual, aún hoy en día, encontramos un número tan elevado de entradas presuntamente diferentes en un territorio relativamente pequeño, donde además la agricultura tiende a utilizar de manera casi exclusiva variedades mejoradas genéticamente.

La racionalización de los materiales en los bancos de germoplasma es uno de los procesos que se han indicado para fomentar su caracterización y utilización. Además permite detectar duplicados así como priorizar la conservación de ciertas entradas (Rao y Hodgkin, 2002; Engels y Visser, 2007). En grandes grupos de muestras, la racionalización se puede llevar a cabo mediante la creación de

colecciones nucleares como es el caso de la colección nuclear de judías española (De la Rosa *et al.*, 2000) o la colección de judías europea (Logozzo *et al.*, 2007). Agrupaciones similares pueden seguirse en grupos más reducidos de muestras como los que se describen en esta tesis.

Debido al elevado número de entradas colectadas bajo el nombre Ganxet (388), el proceso de clasificación de las variedades tradicionales de judía catalanas se dividió en dos. Por un lado se abordaron las entradas tipo Ganxet y por otro lado las entradas pertenecientes al resto de variedades. En ambos casos, la racionalización se llevó a cabo a partir de la caracterización y evaluación de todas las entradas. Los procesos de evaluación en campo se realizaron en dos ambientes diferentes y por duplicado en cada uno de ellos, con objeto de disponer de buenas estimaciones del valor fenotípico medio y por tanto del valor genotípico.

### **7.1.1 Clasificación de las entradas tipo Ganxet**

Ganxet es una variedad de reconocido prestigio gastronómico, muy apreciada por los consumidores. A nivel sensorial se caracteriza por tener una textura con elevada cremosidad, baja percepción de la piel y sabor suave (Casañas *et al.*, 1999; Casañas *et al.*, 2002; Casañas *et al.*, 2006). Podemos considerar que, hoy en día, Ganxet es la variedad de judía seca más cultivada en Cataluña y una de las más consumidas. Estos hechos evidencian los motivos por los cuales en las campañas de colecta se recogió un número tan elevado de entradas de esta variedad. Sus semillas se caracterizan por una pronunciada forma curvada que la diferencia claramente del resto de variedades. Esta característica se utilizó como un marcador morfológico para identificar las entradas tipo Ganxet. La curvatura se valoró de forma visual con la ayuda de una escala que oscila entre 0 y 3, donde 0 indica sin curvatura (variedad Faba) y 3 indica extremadamente curvado (Sánchez, 2003). Dentro del material colectado se observó gran variabilidad para dicho carácter, tanto entre entradas como dentro de entrada. Sánchez y colaboradores (2008) ya indicaron en un estudio previo la introgresión de materiales tipo *Great Northern* en la variedad Ganxet. Estas introgresiones vendrían dadas por el cruzamiento con materiales similares a Ganxet como la variedad Planxeta y otras, que se cultivan de forma frecuente en Cataluña. Cruzamientos entre ambas variedades dan lugar a germoplasma no muy diferente a Ganxet lo que le permite la persistencia en la población Ganxet sin ser rechazado (Sánchez, 2003). Por otro lado algunos de estos nuevos materiales procedentes de la introgresión de Planxeta u otras variedades similares, tendrían producciones más elevadas que Ganxet, con lo cual serían seleccionados de manera consciente o inconsciente por los agricultores.

Dada esta situación, se decidió efectuar una selección en las entradas conservándose únicamente aquellas semillas que tuviera un grado de curvatura igual o superior a 2. Este valor equivale a  $\geq 0.105$  cuando la curvatura se mide mediante un escáner y se analiza con el programa de análisis de imagen WinSeedle Pro v2005b (Regent Instruments, Inc. Quebec, Canadá). Al final del proceso se

contabilizó que únicamente un 66% de los materiales colectados tenía líneas que pudieran considerarse realmente Ganxet.

Una vez finalizado el filtrado se realizó un estudio de campo. Los caracteres peso de 100 semillas, longitud de la vaina, floración y curvatura de la semilla se seleccionaron para llevar a cabo la agrupación de las entradas, ya que estos fueron los que mostraron mayor variabilidad en el conjunto de todas las muestras evaluadas. El número de grupos establecido para crear la colección fue de 24, aproximadamente el 10% del total de las muestras, tal y como se ha recomendado en la creación de colecciones nucleares (Brown 1989). La variabilidad intragrupal para cada uno de los caracteres estudiados (medida mediante el coeficiente de variación, CV) fue baja pues en la mayoría de los casos el CV no superó el 10%. Esto nos garantiza que las entradas que integran un mismo grupo son similares y cualquiera de ellas recoge la variabilidad presente en el grupo. Aun así, dado que la característica más destacada de la variedad Ganxet es su forma curvada, se seleccionó como representante de grupo la entrada con mayor valor para este carácter. La variabilidad mostrada por el conjunto de las 24 entradas seleccionadas fue similar a la presentada por el conjunto de todas las entradas evaluadas (Tabla 1). Lo cual nos indica que estas 24 entradas constituyen una buena representación de la variabilidad intravarietal de Ganxet.

**Tabla 1.** Media, varianza y CV de todas las entradas evaluadas, y de las 24 entradas seleccionadas como representantes de la variabilidad presente en la variedad Ganxet.

		Peso 100 semillas (g)	Longitud vainas (cm)	Floración (días)	Curvatura
Todas entradas	Media	49,78	16,74	42,73	0,13
	Varianza	33,09	2,56	10,08	0,00
	CV (%)	11,55	9,56	7,43	15,34
24 entradas	Media	47,35	16,42	44,23	0,13
	Varianza	28,95	2,17	3,96	0,00
	CV (%)	11,36	8,97	4,50	11,49

Las entradas seleccionadas están conservadas en el banco de la FMA- ESAB y en el banco del CRF. El primero de estos centros conserva además todas las entradas evaluadas.

### 7.1.2 Clasificación de la colección catalana

El primer paso llevado a cabo para la racionalización de las entradas colectadas en Cataluña fue su agrupación en función de los nombres asignados por los agricultores. Este proceso permitió la formación de 34 grupos constituidos por diferente número de entradas. Los grupos con más entradas correspondieron a las variedades que gozan de mayor prestigio entre los consumidores como, Genoll de Crist, Sastre y Castellfollit del Boix. A pesar de que las variedades Ganxet y Tavella Brisa/Santa Pau, fueron abordadas en otros trabajos, representantes prototípicos de ambas

variedades fueron incluidas también en este estudio para disponer de un panorama completo del germoplasma tradicional cultivado en Cataluña.

Esta primera agrupación realizada parte de la premisa de que los agricultores asignan nombres diferentes a variedades diferentes. Sin embargo, sabemos que esto no siempre es cierto. En ocasiones una misma variedad puede recibir nombres diferentes en función de la zona o, por el contrario, el mismo nombre puede designar materiales diferentes (Veteläinen *et al.*, 2009). Por este motivo, algunos de los grupos formados mostraron similitudes entre sus semillas como es el caso de Genoll de Crist y Pilarica o Peron, Perona y Bermà.

Los 34 grupos se condensaron en función de la clase comercial y las características de las semillas, con lo que se obtuvieron 20 nuevos grupos. Estudios previos encontraron diferencias significativas para los caracteres sensoriales en función del tipo de crecimiento (Ferreira *et al.*, 2012), por lo que, en aquellos casos en que una misma clase comercial presentó tipos de crecimiento diferentes, las entradas no fueron agrupadas y se conservaron como muestras independientes como es el caso de Avellaneta y Confit o Fals Ganxet.

Las variedades tradicionales de especies autógamas acostumbran a ser mezclas de líneas puras provocadas por el intercambio de semillas que realizan los agricultores y la introgresión de otros materiales por cruzamientos espontáneos (el nivel de polinización cruzada en las judías puede superar el 10%, (Ibarra-Pérez *et al.*, 1997)). En los casos en que las semillas son de color o presentan una forma peculiar, es posible detectar fuera tipos y depurar las entradas, conservando de este modo, unas determinadas características morfológicas intravarietales. Sin embargo, en ocasiones, es muy difícil detectar las introgresiones y las entradas acaban siendo mezclas complejas de líneas. Este fenómeno se observó en algunas de las entradas cuyas semillas pertenecen a la clase comercial *Great Northern*.

El conjunto de los 20 grupos mostraron elevada variabilidad para los caracteres producción bruta (CV=70%), producción neta (CV=73%) y peso de 100 semillas (CV=19,15%). Sin embargo, la floración presentó un CV bajo (CV=9,73%) muy probablemente debido a que todas las variedades están adaptadas a un mismo ambiente (zona litoral y prelitoral de Cataluña), con características climáticas similares. Por otro lado la mayor parte de las variedades estudiadas presentaron un crecimiento indeterminado. Este predominio también ha sido reportado en otras colecciones (Pérez-Vega *et al.*, 2009; Piergiovanni y Lioi, 2010; Rana *et al.*, 2015). El cultivo de judías asociado al maíz, favoreció en el pasado la selección de variedades de crecimiento indeterminado frente a las de crecimiento determinado. Probablemente este es uno de los motivos por los cuales hoy en día existe mayor número de entradas con crecimiento indeterminado en las colecciones conservadas *ex situ*. Respecto al color y forma de las semillas, se encontró gran diversidad de combinaciones, sin embargo, al evaluar el total de entradas que integran este trabajo (161) la mayor parte de las

semillas resultaron ser de color blanco. Este hecho se corresponde con la preferencia de los consumidores españoles por las semillas de este color (Voysset y Dessert, 1991).

La agrupación realizada mediante marcadores moleculares microsatélites mostró resultados similares a los encontrados en la agrupación previa realizada mediante caracteres morfológicos de semilla. Ello sugiere que, en ocasiones, entradas con nombres diferentes corresponden a la misma variedad. Asimismo el análisis mediante marcadores moleculares microsatélites indicó que el 56% de las variedades estudiadas eran de origen andino, mientras que el 44% restante eran de origen mesoamericano. Otros autores también reportaron mayor porcentaje de judías de origen andino en Europa (Gepts y Bliss, 1988; Logozzo *et al.*, 2007; Angioi *et al.*, 2010) y en la Península Ibérica (Rodiño, 2000; Rodiño *et al.*, 2001) aunque con valores superiores a los encontrados en este trabajo. Nuestros resultados se suman a los ya mostrados por Sánchez y colaboradores (2007), que indicaron que tan solo el 60% de las variedades tradicionales de judía catalanas eran de origen andino. No sabemos a ciencia cierta a que se debe esta diferencia, aunque Sánchez y colaboradores (2007) sugirieron la implicación de causas históricas. Probablemente el hecho de que Cataluña tardara en mantener contacto comercial con América y que cuando lo hizo fuera principalmente con los países del Caribe, explica la alta proporción de judías tradicionales catalanas de origen mesoamericano con respecto al resto de la Península Ibérica y Europa. No está claro si las judías de origen andino que encontramos en Cataluña vinieron directamente desde América, o llegaron por tierra desde otras zonas de la Península ya que algunas judías catalanas se parecen mucho a las del resto de la península.

Representantes de todas las variedades estudiadas (referente a la primera agrupación) están almacenadas en el banco de germoplasmas de la FMA-ESAB y del CRF para asegurar su conservación *ex situ*. En los casos en que una variedad contaba con más de dos entradas, se seleccionó un número proporcional de estas para su conservación. Se ha descrito una fuerte asociación entre las características de las poblaciones y las condiciones del medio ambiente donde se han desarrollado (Rao y Hodgkin, 2002). En base a ello, la selección de las entradas dentro de cada variedad se realizó atendiendo a factores ecogeográficos que combinan aspectos climáticos, ecológicos y geográficos de la zona de colecta (Parra-Quijano *et al.*, 2011).

## **7.2 CARACTERIZACIÓN SENSORIAL Y CULINARIA DE LAS VARIEDADES TRADICIONALES ESPAÑOLAS DE JÚDIA**

La importancia de la caracterización y la evaluación radica en dos aspectos: por un lado permiten la racionalización de la conservación y por el otro amplían el conocimiento sobre las entradas conservadas promoviendo su uso (FAO, 1996). Ambas, caracterización y evaluación proporcionan una fuente importante de información para estudios de diversidad genética, permitiendo estudiar los



patrones de variación de las especies e identificar los grupos de entradas con alta diversidad o características comunes (Rao y Hodgkin, 2002). A su vez, proporcionan la información básica sobre la que se sustentan los programas de mejora.

El aumento de la sensibilización por parte de los consumidores sobre las propiedades beneficiosas de las leguminosas, así como la aparición de nuevos hábitos de alimentación y nuevas tendencias de consumo, han propiciado la inclusión de aspectos de calidad en los programas de mejora, tales como los nutricionales, sensoriales y culinarios. Conocer la variabilidad presente en las colecciones para estos caracteres resulta fundamental para fomentar su utilidad. Sin embargo, tal y como se ha puesto de manifiesto en la introducción de esta tesis, la evaluación para caracteres de calidad de las colecciones conservadas *ex situ* en los bancos de germoplasma es escasa (Romero del Castillo *et al.*, 2010).

La apariencia externa de las semillas es uno de los principales criterios considerados por consumidores a la hora de definir sus preferencias (Jahns *et al.*, 2001; Mkanda *et al.*, 2007; Costa *et al.*, 2011). A pesar de que a menudo, cuando nos referimos a las características sensoriales de los alimentos pensamos en la textura, el aroma o el sabor, los caracteres referentes al tamaño, la forma y el color también son considerados caracteres sensoriales (Meilgaard *et al.*, 1999) por lo que se incluyen en esta tesis como parte importante de la descripción sensorial de las variedades.

### **7.2.1 Variedades tradicionales de judía catalanas**

El estudio de variabilidad abordado en el punto anterior, permitió reducir el número de muestras que representan el material colectado en Cataluña, y de este modo, crear un grupo manejable lo que permitió a su vez el análisis sensorial mediante un panel de cata entrenado. Los resultados obtenidos mostraron elevada variabilidad para los caracteres sensoriales con coeficientes de variación comprendidos entre 50,94% y 69,41%. El tiempo de cocción y el % de semillas enteras tras la cocción también presentaron coeficientes de variación elevados (33,25% y 46,63%, respectivamente). Se detectaron diferencias significativas para los valores medios entre muchas de las variedades, e incluso en algunos casos, entre variedades clasificadas en el mismo grupo como es el caso de Bermà y Perona, que mostraron diferencias significativas para todos los caracteres excepto para la percepción de la piel y el tiempo de cocción o Planxeta y Vilanoví que presentaron diferencias significativas en todos los caracteres excepto en el *flavor*. Parece pues que las similitudes morfológicas de las semillas no tienen porque corresponder a similitudes en los caracteres sensoriales y culinarios.

### 7.2.2 La colección nuclear de judías española

La colección nuclear de judías española es una muestra representativa de las variedades de judía presentes en España. Dado que está constituida por un gran número de entradas, su evaluación a través de un panel de cata es inviable. Por este motivo, el análisis sensorial de esta colección se abordó mediante métodos indirectos basados en la espectroscopia del infrarrojo cercano (Plans *et al.*, 2014). Los resultados obtenidos mostraron una elevada variabilidad para los caracteres sensoriales internos: brillo, percepción y rugosidad de la piel, harinosidad, *flavor* y aroma, con CV comprendidos entre 24,5% y 76,4%. Los caracteres culinarios por su parte también mostraron elevada variabilidad (CV comprendidos entre 12,9% y 80,6%). En general, la variabilidad reportada para estos caracteres fue superior a la que presentaron los caracteres sensoriales externos que intervinieron en la creación de la CN: peso de 100 semillas, longitud, anchura y grosor de la semilla, (el CV para estos caracteres fue de entre 11,4% y 26,4%). Por tanto podemos concluir que los criterios elegidos para elaborar la colección nuclear han arrastrado una considerable variabilidad para los caracteres sensoriales internos y culinarios.

Toda la información obtenida acerca de la caracterización sensorial y culinaria de la CN, está publicada en la web del INIA. Esta web ofrece también datos de pasaporte, agronómicos, morfológicos, tipo de faseolina, resistencia a *Sclerotinia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, Mosaico común y Mosaico necrótico. Permite además, hacer búsquedas dirigidas y seleccionar entradas en base a todos estos parámetros. La información publicada en esta web constituye una herramienta muy valiosa para los fitomejoradores y usuarios en general.

Los datos reportados a partir de la evaluación sensorial de la colección de judías catalanas y la colección nuclear española constituyen la primera fuente de información sobre el análisis sensorial en colecciones de judía con un número elevado de entradas. En ninguno de los trabajos realizados hasta la fecha se evaluaron más de 10 entradas (Arvanitoyannis *et al.*, 2007; Mkanda *et al.*, 2007; Mavromatis *et al.*, 2012).

### 7.3 LA MEJORA GENÉTICA PARA CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y CULINARIAS

La información no solo se consigue con la expresión del rasgo y de las características específicas, sino también en las asociaciones y correlaciones entre los rasgos (Hodgkin *et al.*, 2003). Explorar las relaciones que existen entre los diferentes caracteres permite a los mejoradores conocer de antemano el potencial de sus decisiones en los programas de mejora y de este modo hacer un diseño más efectivo de los mismos.

Los datos sensoriales y culinarios presentados en esta tesis son el resultado de la evaluación de dos colecciones diferentes, tanto desde el punto de vista del número de entradas evaluadas como del

origen de estas. Además, la caracterización sensorial se ha realizado mediante técnicas de análisis diferentes. Por todo ello, el estudio conjunto de las variedades tradicionales colectadas en Cataluña (VTC) y la CN de judías española proporciona gran cantidad de información que nos permite entrever el potencial sensorial y culinario que tienen las entradas conservadas en las colecciones *ex situ*.

A lo largo de esta tesis se ha puesto de manifiesto la gran variabilidad genética que existe para todos los caracteres sensoriales y culinarios. Ello permite abordar programas destinados a alcanzar todo tipo de idiotipos para satisfacer las demandas de diferentes grupos de consumidores. Sin embargo, queda por dilucidar si todas las combinaciones imaginables entre los diferentes caracteres son factibles o por el contrario existen idiotipos “imposibles” debido a fenómenos de ligamiento o, peor, pleiotropía. Estos fenómenos pueden darse entre caracteres sensoriales y culinarios, pero también con caracteres agronómicos o morfológicos.

### 7.3.1 Relación entre características sensoriales y culinarias

El análisis de correlaciones realizado en cada una de las dos colecciones a partir de las medias genotípicas de los caracteres estudiados mostró todo tipo de combinaciones entre los caracteres sensoriales externos, internos y culinarios. Ambos trabajos, coinciden en indicar que las judías más harinosas tienen la piel menos rugosa (VTC  $r=-0,42$   $p<0,05$ ; CN  $r=-0,60$   $p<0,001$ ) y presentan mayor *flavor* (VTC  $r=0,68$   $p<0,001$ ; CN  $r=0,54$   $p<0,001$ ). Plans y colaboradores (2014) encontraron correlaciones similares entre la harinosidad y la rugosidad de la piel ( $r=-0,69$   $p<0,001$ ) y la harinosidad y el *flavor* ( $r=0,68$   $p<0,001$ ). Por otro lado ambos trabajos encontraron también una correlación positiva entre el peso de 100 semillas y la percepción de la piel (VTC  $r=0,39$   $p<0,05$ ; CN  $r=0,49$   $p<0,001$ ). Si estas relaciones vienen dadas por efectos pleiotrópicos, no resultará fácil obtener determinados idiotipos como por ejemplo judías con textura harinosa y sabor suave.

### 7.3.2 Relación entre caracteres sensoriales, culinarios y otras características de interés

Se han descrito algunas características morfológicas y agronómicas asociadas a la zona de domesticación de las judías (Gepts y Debouck, 1991; Singh *et al.*, 1991a). Así, las judías de origen mesoamericano presentan semillas pequeñas o medianas y tienen faseolinas de tipo S o B, mientras que las de origen andino tienen semillas más grandes y presentan las faseolinas T, C, H y A (Gepts *et al.*, 1986; Singh *et al.*, 1991b). En el conjunto de la colección nuclear estudiada, el 75% de las entradas son de origen andino y el 25% de origen mesoamericano. Esta diversidad, permitió explorar la relación que existe entre la zona de domesticación y las características sensoriales y culinarias en las judías. Para ello, se realizó un análisis de la varianza en cada carácter a partir de las medias constituidas por las entradas de cada uno de los dos orígenes. Los resultados mostraron diferencias significativas en función de la zona de domesticación para todos los caracteres

sensoriales externos, excepto para la curvatura y el % de color blanco de la semilla. Estos resultados también indicaron que las semillas de origen andino son más grandes que las de origen mesoamericano. Todos los caracteres sensoriales de la judía cocida mostraron diferencias significativas en el análisis de la varianza en función de la zona de domesticación. Sin embargo, ninguna diferencia fue observada en el caso de los caracteres culinarios.

La colección catalana también presenta diversidad en cuanto al origen de domesticación (el 56% de las entradas son de origen andino, frente al 44% de origen mesoamericano). Estos datos permitieron realizar el mismo análisis que en la CN para los caracteres sensoriales internos y culinarios. Los resultados obtenidos coinciden con los hallados en la CN, excepto para el carácter rugosidad de la piel. Los caracteres percepción de la piel, harinosidad y *flavor* mostraron diferencias significativas en función del origen de domesticación (nivel de significación,  $p < 0,05$ ).

A partir de los resultados obtenidos en el conjunto de las dos colecciones, podemos concluir por tanto, que las variedades de origen andino presentes en España tienen la piel más perceptible, son más harinosas y tienen mayor *flavor* que las variedades de origen mesoamericano.

Del mismo modo que en el caso anterior, la variabilidad encontrada en ambas colecciones para el color de la semilla, permitió explorar en qué medida los caracteres sensoriales y culinarios están relacionados con esta característica. En la CN los resultados mostraron pocas diferencias significativas para los caracteres sensoriales internos y culinarios en función del color de la semilla distribuido en 13 categorías (amarillo, blanco, crema, marrón-gris verdoso, marrón, marrón vinoso, negro, ocre, púrpura, rosa, gris, bicolor y tricolor). Sin embargo el mismo análisis realizado tan solo con 2 categorías (blanco y otros colores), mostró diferencias significativas muy claras para todos los caracteres (Tabla 2). Resultados similares fueron encontrados en las VTC, excepto para los caracteres percepción de la piel y tiempo de cocción (Tabla 2).

**Tabla 2.** Análisis de la varianza de las entradas de la CN y de la colección de VTC para los caracteres sensoriales internos y culinarios en función del color (blanco y otros colores).

	Percepción de la piel	Rugosidad de la piel	Harinosidad	Flavor	Brillo	Aroma	Tiempo de cocción (min)	% de judías enteras	Ritmo de absorción	Absorción en la cocción (%)
CN	0,003	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,009	0,006	<0,001	<0,001
VTC	0.418	0,024	<0,001	<0,001	-	-	0,515	0,034	-	-

Ambas evaluaciones coinciden en que las semillas de color blanco tienen la piel más rugosa, son menos harinosas y tienen menor *flavor*. Además presentan menor número de judías enteras tras la cocción.

En España, la mayor parte de variedades tradicionales de judía de prestigio gastronómico son de crecimiento indeterminado (IGP Judías de El Barco de Ávila, IGP Alubia de la Bañeza-León; IGP Faba Asturiana, IGP Faba de Lourenzà, y DOP Mongeta del Ganxet) (Casquero, 2012). Con el

objetivo de explorar si este fenómeno está relacionado con las características sensoriales, se realizó un análisis de la varianza en función del tipo de crecimiento en las entradas de la CN. Los resultados tan solo mostraron diferencias significativas para los caracteres percepción de la piel y *flavor*. Ninguna de estas diferencias se encontró en el conjunto de la colección catalana, que sin embargo, sí mostró diferencias significativas para el carácter rugosidad de la piel. Parece ser que las características sensoriales no son las responsables del predominio de judías de crecimiento indeterminado entre las variedades gastronómicas más prestigiosas en España. Muy probablemente las causas sean debidas a cuestiones históricas y culturales.

#### **7.4 LA CURVATURA DE LA SEMILLA COMO MARCADOR SENCILLO PARA MODIFICAR CARACTERÍSTICAS DE LA JUDÍA DE GRANO**

Las cualidades de la variedad Ganxet ya se han puesto de manifiesto en la primera parte de la discusión de esta tesis. Estas características suscitaron el interés de nuestro equipo que desde su creación ha desarrollado una buena parte de sus trabajos alrededor de esta variedad (Casañas *et al.*, 1997; Bosch *et al.*, 1998; Casañas *et al.*, 1998; Casañas *et al.*, 1999; Casañas *et al.*, 2002; Sánchez, 2003; Sánchez *et al.*, 2007; Romero del Castillo *et al.*, 2008; Sánchez *et al.*, 2008). Algunos de estos estudios mostraron indicios sobre la relación entre el grado de curvatura y otros caracteres de interés como el contenido en proteínas (Casañas *et al.*, 1998) y entre el contenido en proteínas y la cremosidad de las semillas (Pujolà *et al.*, 2004). De corroborarse estas relaciones se podría barajar la posibilidad de utilizar el carácter curvatura para incrementar el contenido en proteína y la cremosidad en otras variedades de judía, en caso de que su control genético fuera sencillo.

El control genético de los caracteres relacionados con la forma y el tamaño de la semilla ha sido estudiado por diversos autores (Motto *et al.*, 1978; Nienhuis y Singh, 1988; Vallejos y Chase, 1991; Dalla Corte *et al.*, 2010; Yuste-Lisbona *et al.*, 2014), sin embargo nada se sabe acerca del carácter curvatura. Para obtener más información sobre la herencia de este carácter y su relación con las características morfológicas, químicas y sensoriales, se empleó el modelo ADAA (*Additive, Dominance and Additive x Additive*), metodología que ha sido ampliamente utilizada para estudiar la expresión genética de caracteres de calidad, agronómicos y morfológicos en diversos cultivos (Yan *et al.*, 1998; McCarty *et al.*, 2004; McCarty *et al.*, 2008; Adalid *et al.*, 2012).

Los resultados obtenidos a partir del estudio de una línea no curvada (Xana), una extremadamente curvada (Montcau), la F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> y retrocruces de la F<sub>1</sub> con los dos parentales (BC<sub>1</sub>P<sub>1</sub> y BC<sub>1</sub>P<sub>2</sub>), mostraron que el carácter curvatura se ajusta a un modelo de aditividad entre loci y dominancia intralocus hacia la forma no curvada. La heredabilidad en sentido estricto estimada fue elevada ( $h^2=0.72$ ). Por otro lado el estimador de Castle-Wright mostró que el carácter está controlado por un máximo de 3 loci.

Los resultados también mostraron que la curvatura presenta correlaciones genéticas aditivas positivas con los caracteres longitud de la vaina, nº de semillas por vaina, anchura de la semilla, contenido en magnesio y proteína y rugosidad de la piel. Y correlaciones aditivas pero de signo negativo con el peso de 100 semillas, la longitud y área de la semilla, y la harinosidad.

Ya sea por ligamiento o pleiotropía podemos corroborar que la curvatura está relacionada con una mayor concentración de proteína y mayor cremosidad de las semillas. Por otro lado este carácter presenta un control genético aparentemente sencillo (está controlado únicamente por 3 loci, tiene una elevada componente aditiva y una baja influencia ambiental). Por todo esto la variedad Ganxet podría convertirse en un material excelente desde el punto de vista de la mejora genética como donante para aumentar el contenido en proteína y la cremosidad de las judías, mediante su incorporación por retrocruce en cualquier genoma de judía.

Creemos que este es un buen ejemplo de las posibilidades que tiene el estudio más profundo de las entradas conservadas *ex situ* en bancos de germoplasma. Sin un conocimiento conjunto de todos los caracteres difícilmente sacaremos partido del enorme esfuerzo que se ha hecho hasta ahora en la prospección y conservación.

## **7.5 LA MEJORA DE LAS VARIEDADES TRADICIONALES: OBTENCIÓN DE UNA VARIEDAD DE TAVELLA BRISA**

La variedad Tavella Brisa es originaria de Santa Pau. Esta localidad está situada al noreste de Cataluña y cuenta con un clima mediterráneo pero continentalizado, dado que se encuentra en una zona rodeada de montañas. Las precipitaciones anuales rondan los 1.000l/m<sup>2</sup>, se distribuyen de forma irregular y se concentran principalmente en la primavera y el otoño. Estas circunstancias permiten el cultivo de las judías en seco. A nivel edáfico, los suelos de Santa Pau son de origen volcánico y se caracterizan por un alto contenido en potasio, elevada capacidad de intercambio catiónico y gran capacidad para retener el agua. Ambos factores, climáticos y edáficos confieren a las judías de Santa Pau unas características sensoriales extraordinarias (baja percepción de la piel, media o baja harinosidad y un sabor suave y agradable) por ello, son muy apreciadas y reconocidas por los consumidores. Tal es así que estas características han permitido la obtención de la DOP *Fesols de Santa Pau*, a título provisional en espera del registro definitivo en el registro comunitario de marcas geográficas.

La variedad de judía más cultivada en la zona es Tavella Brisa de semillas blancas redondeadas y pequeñas, tipo *Navy*. Se caracteriza porque la vaina (*tavella* en catalán) cuando madura adquiere un color que recuerda la brisa del vino (de aquí le viene el nombre). Las poblaciones Tavella Brisa combinan plantas con crecimiento de tipos I y II (Singh, 1982), aunque en los últimos años han sufrido una fuerte presión de selección hacia plantas de crecimiento determinado, dado que ya no se

cultiva asociada al maíz como se hacía antiguamente. Esta variedad se siembra a finales de mayo o principios de junio dependiendo de las lluvias y se recoge desde principios de septiembre hasta finales de octubre, en función de la fecha de siembra.

En las últimas décadas, Tavella Brisa había sufrido introgresiones de otros materiales similares (Sánchez *et al.*, 2007), con lo que las poblaciones se modificaron y perdieron las características de la población típica de la zona. Para corregir esta situación y bajo la solicitud de los agricultores de Santa Pau, se inició un proceso de selección y mejora. En primer lugar se consensuó un idiotipo que recogía las características propias de la variedad tradicional Tavella Brisa respecto a la forma de la semilla y la vaina, pero añadiendo la característica de crecimiento determinado y porte erecto de las plantas para facilitar el manejo mecanizado durante el cultivo y la cosecha.

El estudio de los materiales colectados mostro gran variabilidad tanto entre entradas como dentro de entrada (Sánchez *et al.*, 2007) para los caracteres agronómicos y morfológicos y en menor medida para los caracteres sensoriales. Después de efectuar un proceso de selección individual a partir de 10.000 plantas, se decidió generar nueva variabilidad mediante el cruzamiento de líneas puras complementarias con características próximas al idiotipo diseñado, detectadas en esta primera fase. A partir de la F<sub>2</sub> se inició un proceso de selección genealógica que culminó con la obtención de una nueva variedad denominada Croscat.

Croscat es una línea pura que conserva las características morfológicas y sensoriales de la población Tavella Brisa original con algunas modificaciones desde el punto de vista agronómico. La nueva variedad a diferencia de la población Tavella Brisa, tiene un ciclo de cultivo más corto y una producción más elevada. A nivel estructural presenta crecimiento determinado y tiene las hojas más grandes, lo que confiere a las flores una mayor protección frente a los vientos cálidos de julio.

En la actualidad Croscat se cultiva en la zona de Santa Pau con muy buenos resultados. Es el punto de partida para la incorporación de genes de resistencia frente a antracnosis y BCMV, pero también para mejorar algunas características culinarias como la rotura de las semillas durante la cocción. A su vez, cruzamientos entre esta variedad y otras variedades históricas de la zona (Setsetmanera y Gra Petit) han permitido obtener nuevas variantes del tipo Tavella Brisa. Tres procesos de selección genealógica independientes, han conducido a la obtención de tres nuevas variedades denominadas Colltort, Puigdemar y Roca Negra, que en la actualidad se encuentran en fase final de experimentación. Estas, presentan características sensoriales similares a la población original y a la variedad Croscat, sin embargo difieren en las características agronómicas, principalmente en lo que respecta a la duración del ciclo pero también en la arquitectura de la planta y en la adaptación a condiciones menos extremas (lo que permite aumentar la producción en los campos con mayor retención de agua) (Rivera *et al.*, 2015a; Rivera *et al.*, 2015b).

La utilización de variedades tradicionales en la agricultura profesional actual ha fracasado por la errónea creencia de que todas las variedades antiguas son excelentes. Los propios agricultores fueron los que históricamente cambiaron sus variedades de manera constante ya que en ningún momento dejaron de hacer selección. Los avances conseguidos en la obtención de Croscat son una buena prueba del potencial que presentan algunas variedades tradicionales cuando empleamos en su mejora todos los conocimientos de la genética, siguiendo de manera más eficiente la paciente labor que los agricultores han realizado desde el neolítico.

## 7.6 BIBLIOGRAFÍA

- Adalid, A.M., Roselló, S., Valcárcel, M., Nuez, F., 2012. Analysis of the genetic control of  $\beta$ -carotene and L-ascorbic acid accumulation in an orange-brownish wild cherry tomato accession. *Euphytica* 184, 251–263.
- Angioi, S.A., Rau, D., Attene, G., Nanni, L., Bellucci, E., Logozzo, G., Negri, V., Zeuli, P.L.S., Papa, R., 2010. Beans in Europe: Origin and structure of the European landraces of *Phaseolus vulgaris* L. *Theor. Appl. Genet.* 121, 829–843.
- Arvanitoyannis, I.S., Mavromatis, A., Rodiatis, A., Goulas, C., 2007. Physicochemical and sensory analysis of dry bean landraces in conjunction with multivariate analysis: An exploratory approach. *Int. J. Food Sci. Technol.* 42, 819–826.
- Bosch, L., Casañas, F., Sánchez, E., Pujolà, M., Nuez, F., 1998. Selection L67, a pure line with true seed type of the Ganxet common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 33, 905–906.
- Brown, A.H.D., 1989. The case for core collections, in: Brown, A.H.D., Frankel, O.H., Marshall, D.R., Williams, J.T. (Eds.), *The Use of Plant Genetic Resources*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 136–156.
- Casañas, F., Bosch, L., Pujolà, M., Sánchez, E., Sorribas, X., Baldi, M., Nuez, F., 1999. Characteristics of a common bean landrace (*Phaseolus vulgaris* L.) of great culinary value and selection of a commercial inbred line. *J. Sci. Food Agric.* 79, 693–698.
- Casañas, F., Bosch, L., Sánchez, E., Romero del Castillo, R., Valero, J., Baldi, M., Mestres, J., Nuez, F., 1997. Collecting, conservation and variability of the ganxet common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Genet. Resour. Newsl.* 112, 105–106.
- Casañas, F., Bosch, L., Sanchez, E., Romero, R., Valero, J., 1998. Características de la alubia Ganxet (*Phaseolus vulgaris* L.) y acciones para su conservación. *Investig. Agrar. Prod. y Protección Veg.* 13, 43–56.
- Casañas, F., Pujola, M., Bosch, L., Sánchez, E., Nuez, F., 2002. Chemical basis for the low sensory perception of the Ganxet bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed coat. *J. Sci. Food Agric.* 82, 1282–1286.



- Casañas, F., Pujolà, M., Romero del Castillo, R., Almirall, A., Sánchez, E., Fernando, N., 2006. Variability in some texture characteristics and chemical composition of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Sci. Food Agriculture* 86, 2445–2449.
- Casquero, P., 2012. Las marcas de calidad en el desarrollo de las leguminosas en España, in: I Seminario de Judía de La Península Iberica. V Actas de la Asociación Española de Leguminosas, Pontevedra, España. pp:145-150.
- Costa, C., Antonucci, F., Pallottino, F., Aguzzi, J., Sun, D.-W., Menesatti, P., 2011. Shape analysis of agricultural products: a review of recent research advances and potential application to computer vision. *Food Bioprocess Technol.* 4, 673–692.
- Dalla Corte, A., Moda-Cirino, V., Arias, C.A.A., Ferraz de Toledo, JF., Destro, D., 2010. Genetic analysis of seed morphological traits and its correlations with Grain yield in common bean. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* 53, 27–34.
- De la Rosa, L., Lázaro, A., Varela, F., 2000. Racionalización de la Colección de *Phaseolus vulgaris* L., in: II Seminario de Judía de La Península Iberica. Actas Asociación Española de Leguminosas, Villaviciosa, España, pp. 55–62.
- Engels, J.M.M., Visser, L. (Eds.), 2007. Guía para el manejo eficaz de un banco de germoplasma. Manuales para bancos de Germoplasma. N° 6. Bioversity International, Roma, Italia.
- FAO, 1996. Informe sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos en el Mundo. Disponible en: <http://www.fao.org/agriculture/crops/mapa-tematica-del-sitio/theme/seeds-pgr/sow/es/>.
- Ferreira, J.J., Romero del Castillo, R., Pérez-Vega, E., Plans, M., Simó, J., Casañas, F., 2012. Sensory changes related to breeding for plant architecture and resistance to viruses and anthracnose in bean market class Fabada (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica* 186, 687–696.
- Gepts, P., Bliss, F.A., 1988. Dissemination pathways of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae) deduced from phaseolin electrophoretic Vvariability. II Europe and Africa. *Econ. Bot.* 42, 86–104.
- Gepts, P., Debouck, D., 1991. Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), in: van Schoonhoven, A., Voysest, O. (Eds.), *Common Beans: Research for Crop Improvement*. CAB International-CIAT, Wallingford, UK, pp. 7–54.
- Gepts, P., Osborn, T., Rashka, K., Bliss, F., 1986. Phaseolin-protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): evidence for multiple centers of domestication. *Econ. Bot.* 40, 451–468.
- Hodgkin, T., Ramanatha Rao, V., Cibrian-Jaramillo, A., Gaiji, S., 2003. The use of ex situ conserved plant genetic resources. *Plant Genet. Resour.* 1, 19–29.
- Ibarra-Pérez, F.J., Ehdaie, B., Waines, J.G., 1997. Estimation of outcrossing rate in common bean. *Crop Sci.* 37, 60–65.
- Jahns, G., Møller Nielsen, H., Paul, W., 2001. Measuring image analysis attributes and modelling fuzzy consumer aspects for tomato quality grading. *Comput. Electron. Agric.* 31, 17–29.

- Logozzo, G., Donnoli, R., Macaluso, L., Papa, R., Knüpffer, H., Zeuli, P.S., 2007. Analysis of the contribution of Mesoamerican and Andean gene pools to European common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm and strategies to establish a core collection. *Genet. Resour. Crop Evol.* 54, 1763–1779.
- Mavromatis, A.G., Arvanitoyannis, I.S., Chatzitheodorou, V., Kaltsa, A., Patsiaoura, I., Nakas, C.T., 2012. A comparative study among landraces of *Phaseolus vulgaris* L. and *P. coccineus* L. based on molecular, physicochemical and sensory analysis for authenticity purposes. *Sci. Hortic.* 144, 10–18.
- McCarty, J.C., Jenkins, J.N., Wu, J., 2004. Primitive accession derived germplasm by cultivar crosses as sources for cotton improvement: I. Phenotypic values and variance components. *Crop Sci.* 44, 1226–1230.
- McCarty, J.C., Wu, J., Jenkins, J.N., 2008. Genetic association of cotton yield with its component traits in derived primitive accessions crossed by elite upland cultivars using the conditional ADA genetic model. *Euphytica* 161, 337–352.
- Meilgaard, M., Civille, G.V., Carr, B.T., 1999. *Sensory Evaluation Techniques*, 3rd. ed. CRC Press, Boca Raton.
- Mkanda, A.V., Minnaar, A., L de Kock, H., 2007. Relating consumer preferences to sensory and physicochemical properties of dry beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Sci. Food Agric.* 87, 2868–2879.
- Motto, M., Soressi, G.P., Salamini, F., 1978. Seed size inheritance in a cross between wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Genetica* 49, 31–36.
- Nienhuis, J., Singh, S.P., 1988. Genetics of seed yield and its components in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) of Middle-American origin. I. General combining ability. *Plant Breed.* 101, 155–163.
- Parra-Quijano, M., Iriando, J.M., Torres, E., de la Rosa, L., 2011. Evaluation and validation of ecogeographical core collections using phenotypic data. *Crop Sci.* 51, 694–703.
- Pérez-Vega, E., Campa, A., De la Rosa, L., Giraldez, R., Ferreira, J.J., 2009. Genetic diversity in a core collection established from the main bean genebank in Spain. *Crop Sci.* 49, 1377–1386.
- Piergiovanni, A.R., Lioi, L., 2010. Italian common bean landraces: History, genetic diversity and seed quality. *Diversity* 2, 837–862.
- Plans, M., 2014. Utilització de l'espectroscòpia d'infraroig com a eina per a la selecció i millora de la mongeta seca (*Phaseolus vulgaris* L.). Universitat Politècnica de Catalunya.
- Plans, M., Simó, J., Casañas, F., Romero del Castillo, R., Rodríguez-Saona, L.E., Sabaté, J., 2014. Estimating sensory properties of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by near infrared spectroscopy. *Food Res. Int.* 56, 55–62.
- Pujolà, M., Casañas, F., Bosch, L., Almirall, A., Sánchez, E., Nuez, F., 2004. Creaminess and chemical composition in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) the roles of protein and starch, in:

- Proceeding of the 5th European Conference on Grain Legumes: For the Benefit of Agriculture Nutrition and Environment. Conference Handbook. Dijon, France. p. 424.
- Rana, J.C., Sharma, T.R., Tyagi, R.K., Chahota, R.K., Gautam, N.K., Singh, M., Sharma, P.N., Ojha, S.N., 2015. Characterisation of 4274 accessions of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm conserved in the Indian gene bank for phenological, morphological and agricultural traits. *Euphytica* 205, 441–457.
- Rao, V.R., Hodgkin, T., 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell. Tissue Organ Cult.* 68, 1–19.
- Rivera, A., Busquets, N., Rull, A., Fenero, D., Simó, J., Casals, J., Casañas, F., 2015a. Puigdemar, Colltort i Roca Negre, noves varietats de Tavella Brisa per a la DOP Fesols de Santa Pau: I Característiques agromorfològiques i producció. Jornades PATT. Assajos Experimentals. Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca, Alimentació i Medi Natural.
- Rivera, A., Romero del Castillo, R., Rull, A., Fenero, D., Simó, J., Casals, J., Casañas, F., 2015b. Puigdemar, Colltort i Roca Negre, noves varietats de Tavella Brisa per a la DOP Fesols de Santa Pau: II. Característiques sensorials, culinàries i químiques. Diputació de Girona.
- Rodiño, A.P., 2000. Caracterización morfoagronómica y bioquímica de germoplasma de judía común (*Phaseolus vulgaris* L.) de España. Universidad de Santiago de Compostela.
- Rodiño, A.P., Santalla, M., Montero, I., Casquero, P.A., De Ron, A.M., 2001. Diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm from Portugal. *Genet. Resour. Crop Evol.* 48, 409–417.
- Romero del Castillo, R., 2011. Análisis sensorial de judías secas. Universitat Politècnica de Catalunya.
- Romero del Castillo, R., Almirall, A., Valero, J., Casañas, F., 2008. Protected designation of origin in beans (*Phaseolus vulgaris* L.): towards an objective approach based on sensory and agromorphological properties. *J. Sci. Food Agriculture* 88, 1954–1962.
- Romero del Castillo, R., Sabaté, J., Plans, M., Casañas, F., 2010. Evaluación para características de calidad, in: Carrillo, J.M., Díez, M.J., Pérez de la Vega, M., Nuez, F. (Eds.), *Mejora Genética y Recursos Fitogenéticos: “Nuevos Avances en la Conservación y Utilización de los Recursos Fitogenéticos.”* Madrid, España. pp. 385–420.
- Sánchez, E., 2003. Variabilitat de la mongeta Ganxet (*Phaseolus vulgaris* L.): determinació de tipologies i selecció de línies comercials. Universitat de Barcelona.
- Sánchez, E., Sifres, A., Casañas, F., Nuez, F., 2007. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces in Catalonia, a Mesoamerican germoplasm hotspot to be preserved. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 82, 529–534.
- Sánchez, E., Sifres, A., Casañas, F., Nuez, F., 2008. The endangered future of organoleptically prestigious European landraces: Ganxet bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as an example of a crop originating in the Americas. *Genet. Resour. Crop Evol.* 55, 45–52.

- Santalla, M., Rodiño, A.P., De Ron, A.M., 2002. Allozyme evidence supporting southwestern Europe as a secondary center of genetic diversity for the common bean. *Theor. Appl. Genet.* 104,934–944.
- Singh, S., 1982. A key for identification of different growth habits of *Phaseolus vulgaris* L. *Annu Rep Bean Improv Coop* 25, 92–95.
- Singh, S.P., Gutiérrez, J.A., Molina, A., Urrea, C., Gepts, P., 1991a. Genetic diversity in cultivated common bean: II. Marker-based analysis of morphological and agronomic traits. *Crop Sci.* 31, 23–29.
- Singh, S.P., Nodari, R., Gepts, P., 1991b. Genetic diversity in cultivated common bean: I. Allozymes. *Crop Sci.* 31, 19–23.
- Vallejos, C.E., Chase, C.D., 1991. Linkage between isozyme markers and a locus affecting seed size in *Phaseolus vulgaris* L. *Theor. Appl. Genet.* 81, 413–419.
- Veteläinen, M., Negri, V., Maxted, N., 2009. European landraces: on-farm conservation, management and use, Bioversity Technical Bulletin No15. Biodiversity International, Rome, Italy.
- Voyses, O., Dessert, M., 1991. Bean cultivars: classes and commercial seed types, in: van Schoonhoven, A., Voyses, O. (Eds.), *Common Beans: Research for Crop Improvement*. CAB International-CIAT, Wallingford, UK, pp. 119–160.
- Yan, X.F., Xu, S.Y., Xu, Y.H., Zhu, J., 1998. Genetic investigation of contributions of embryo and endosperm genes to malt Kolbach index, alpha-amylase activity and wort nitrogen content in barley. *Theor. Appl. Genet.* 96, 709–715.
- Yuste-Lisbona, F.J., González, A.M., Capel, C., García-Alcázar, M., Capel, J., De Ron, A.M., Lozano, R., Santalla, M., 2014. Genetic analysis of single-locus and epistatic QTLs for seed traits in an adapted × nuña RIL population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genet.* 127, 897–912.



## Capítulo 8

---

CONCLUSIONES

## CONCLUSIONES

---

1. El estudio morfológico de las entradas tipo Ganxet ha mostrado una gran variabilidad intravarietal para la forma de la semilla así como un elevado porcentaje de introgresiones procedentes de otras variedades. La racionalización de estos materiales ha permitido seleccionar 24 entradas representativas que recogen la variabilidad del tipo varietal Ganxet.
2. El conjunto de las entradas de judía colectadas en Cataluña ha mostrado elevada variabilidad para los caracteres agronómicos y morfológicos. La agrupación de las entradas mediante estos caracteres coincide con la agrupación realizada mediante marcadores moleculares, lo que ha permitido crear 20 grupos principales.
3. La evaluación sensorial y culinaria de la colección de judías catalana ha mostrado una gran variabilidad para los caracteres estudiados. Se ha podido comprobar que similitudes morfológicas entre las semillas no están relacionadas con similitudes sensoriales y culinarias.
4. La evaluación sensorial y culinaria de la colección nuclear de judías española ha mostrado elevada variabilidad para los caracteres sensoriales internos y culinarios y en menor medida para los caracteres sensoriales externos. Los criterios elegidos para elaborar la colección nuclear han arrastrado una considerable variabilidad para los caracteres sensoriales y culinarios. Esta información está disponible en la página web del INIA.
5. El estudio conjunto de la colección de judías catalana y la colección nuclear de judías española muestra que:
  - a. Las variedades de origen andino tienen la piel más perceptible, son más harinosas y tienen mayor *flavor* que las variedades mesoamericanas.
  - b. Las semillas de color blanco tienen la piel más rugosa, son menos harinosas y tienen menor *flavor*. Además presentan menor número de judías enteras tras la cocción.

6. El estudio del control genético del grado de curvatura en la variedad Ganxet ha permitido demostrar que este carácter se ajusta a un modelo de aditividad entre loci y dominancia intralocus hacia la forma no curvada, estando controlado por un máximo de tres loci.
7. El carácter curvatura presenta correlaciones aditivas positivas con la proteína y la cremosidad. Dado que se trata de un carácter con un control genético sencillo, la variedad Ganxet se propone como donante para aumentar el contenido en proteína y la cremosidad de las judías, mediante su incorporación por retrocruce en otros genotipos de judía.
8. Como resultado de un programa de mejora genética se ha obtenido una nueva variedad del tipo Tavella Brisa denominada Crosca que mantiene las características favorables de esta variedad tradicional, corrigiendo algunos defectos agronómicos.

## ABREVIATURAS

---

ACP	Análisis de Componentes Principales
ADAA	<i>Additive, Dominance and Additive x Additive</i>
AFLP	<i>Amplified Fragment Length Polymorphism</i>
AVRDC	<i>World Vegetable Center</i>
BCA	<i>Bunda College of Agriculture</i>
BCMV	<i>Bean Common Mosaic Virus</i>
BCTV	<i>Beet Curly Top Virus</i>
BGMV	<i>Bean Golden Mosaic Virus</i>
BGYMV	<i>Bean Golden Yellow Mosaic Virus</i>
CCBAT	Centro de Conservación de la Biodiversidad Agrícola de Tenerife
CGIAR	Grupo Consultivo para la Investigación Agrícola Internacional
CIAT	Centro Internacional de Agricultura Tropical
CIMMYT	Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo
CIP	Centro Internacional de la Papa
CITA	Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón
CN	Colección Nuclear de Judías Española
CNPAF	<i>Embrapa Arroz e Feijão</i>
COGENT	<i>International Coconut Genetic Resources Network</i>
COMAV - UPV	Centro de Conservación y Mejora de la Agrobiodiversidad Valenciana - Universidad Politécnica de Valencia
cpSSR	<i>Chloroplast Simple Sequence Repeats</i>
CRF	Centro de Recursos Fitogenéticos
CV	Coefficiente de Variación
DAAM	<i>Departament d'Agricultura Ramaderia i Pesca, Alimentació i Medi Natural de la Generalitat de Catalunya</i>
DENAREF	Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos y Biotecnología
DOP	Denominación de Origen Protegida
EMVCO	Equipo de Mejora Vegetal para Características Organolépticas
ESAB	Escuela Superior de Agricultura de Barcelona
EUA	Estados Unidos de América
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura



FMA	Fundación Miquel Agustí
GRIN	<i>The Germplasm Resources Information Network</i>
IBGRI	<i>International Board for Plant Genetic Resources</i>
ICGR-CAAS	<i>Institute of Crop Germplasm Resources, Chinese Academy of agricultural Sciences</i>
IGP	Indicación Geográfica Protegida
INIA	Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias
INIFAP	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
IPGR	<i>Institute for Plant Genetic Resources “K. Malkov”</i>
IPK	<i>Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung</i>
IRRI	<i>International Rice Research Institute</i>
ISAR	<i>Institut des Sciences Agronomiques du Rwanda</i>
ITACyL	Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León
KARI-NGBK	<i>National Genebank of Kenya, Crop Plant Genetic Resources Centre, Muguga</i>
LBN	<i>National Biological Institute</i>
LSD	<i>Least Significant Difference</i>
MAGRAMA	Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente
MAPA	Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación
MSG-CSIC	Misión Biológica de Galicia - Consejo Superior de Investigaciones Científicas
NEIKER	Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario
NIR	<i>Near InfraRed</i>
NIT	<i>Near Infrared Transmittance</i>
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
NPGS	<i>National Plant Germplasm System</i>
nuSSR	<i>Nuclear Simple Sequence Repeats</i>
PAC	Política Agraria Comunitaria
PAM	Plan de Acción Mundial
PIC	<i>Polymorphic Information Content</i>
RADP	<i>Random Amplified Polymorphic DNA</i>
RCA	<i>Institute for Agrobotany</i>
RF	Recursos Fitogenéticos
RFAA	Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura
RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>

SA	<i>Surface Area</i>
SERIDA	Servicio Regional de Investigaciones y Desarrollo Agroalimentario
SGSV	<i>Svalbard Global Seed Vault</i>
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphisms</i>
SSR	<i>Simple Sequence Repeats</i>
TIRFAA	Tratado Internacional sobre los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura
ULE	Escuela Superior y Técnica de Ingeniería Agraria, Universidad de León
UPC	Universidad Politécnica de Cataluña
UPOV	Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales
V	<i>Volume</i>
VIR	<i>N.I. Vavilov Research Institute of Plant Industry</i>
VTC	Variedades Tradicionales Catalanas
W6	<i>Western Regional Plant Introduction Station, Pullman</i>
WIEWS	<i>World Information and Early Warning System</i>

# LISTA DE TABLAS

---

## Capítulo 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

---

<b>Tabla 1.</b> Principales características de las semillas ortodoxas y recalitrantes.	10
<b>Tabla 2.</b> Composición de los principales nutrientes en las judías secas. Expresado en g kg <sup>-1</sup> de materia seca.	23
<b>Tabla 3.</b> Composición de los elementos minoritarios en las judías secas. Expresado en g kg <sup>-1</sup> de materia seca.	23
<b>Tabla 4.</b> Clasificación de los atributos sensoriales en función de cómo son percibidos por los catadores.	28
<b>Tabla 5.</b> Instituciones que componen la Red Española de Colecciones de Judía, tipo de colección que conservan, ámbito geográfico en el que actúan y marco de actuación además de la conservación.	36

## Capítulo 2. CLASIFICACIÓN DE LAS ENTRADAS DEL TIPO VARIETAL GANXET RECOLECTADAS EN CATALUÑA

---

<b>Tabla 1.</b> Valores promedio de los caracteres diferenciales para las entradas más curvadas dentro de cada grupo y grupo al que pertenecen.	58
---	----

## Capítulo 3. VARIABILITY IN SENSORY ATTRIBUTES IN COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.) A FIRST SURVEY IN THE IBERIAN SECONDARY DIVERSITY CENTER

---

<b>Table 1.</b> Some qualitative characteristics of the distinct landraces considered, together with the number of entries assigned to each landrace and market class assignment for each landrace.	71-72
<b>Table 2.</b> Mean $\pm$ standard error for some agronomic and morphological traits in the twenty groups of landraces established in the first classification.	73
<b>Table 3.</b> Mean $\pm$ standard error of texture, flavor, and the culinary traits for the representatives of each group and for the two checks.	77
<b>Table 4.</b> Genotypic correlations (calculated from the mean phenotypic values) among all the traits with continuous variability.	79
<b>Table 5.</b> Coefficients of the multiple linear regression model for estimating texture and flavor traits. The independent variables were selected with a stepwise algorithm. The coefficients for qualitative independent variables must be included in the equation only if the statement is true.	81

#### Capítulo 4. VARIABILITY IN CULINARY AND SENSORY TRAITS IN THE SPANISH CORE COLLECTION OF COMMON BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.)

---

<b>Table 1.</b> Sensory traits of the uncooked beans. Mean, coefficient of variation, and extreme values for the traits studied.	91
<b>Table 2.</b> Culinary and sensory traits of the cooked beans. Mean, coefficient of variation, and extreme values for the traits studied.	91
<b>Table 3.</b> Correlations among sensory and culinary traits.	92
<b>Table 4.</b> Comparisons of means for sensory traits of the uncooked and cooked beans, according to area of domestication.	93

#### Capítulo 5. SEED CURVATURE AS A USEFUL MARKER TO TRANSFER MORPHOLOGIC, AGRONOMIC, CHEMICAL AND SENSORY TRAITS FROM GANXET COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.)

---

<b>Table 1.</b> Mean ( $\pm$ standard error) values of the traits submitted to the ADAA analysis, in each of the generations and locations studied.	112
<b>Table 2.</b> Results from the ADAA analysis, together with heritability estimated for all traits and followed by their standard error.	113
<b>Table 3.</b> Significant genetic, additive and phenotypic correlations between seed curvature and the other traits studied followed by their standard error.	114

#### Capítulo 6. "CROSCAT" COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.), A PROTOTYPICAL CULTIVAR WITHIN THE "TAVELLA BRISA" TYPE

---

<b>Table 1.</b> Agronomic traits of 'Croscat', the landrace and T9905.	127
<b>Table 2.</b> Sensory traits of 'Croscat', the landrace and T9905, quantified on a 10-cm semistructured scale with the extremes and the center of the line labeled with corresponding descriptions and culinary traits.	128

#### Capítulo 7. DISCUSIÓN GENERAL

---

<b>Tabla 1.</b> Media, varianza y CV de todas las entradas evaluadas, y de las 24 entradas seleccionadas como representantes de la variabilidad presente en la variedad Ganxet.	135
<b>Tabla 2.</b> Análisis de la varianza de las entradas de la CN y de la colección de VTC para los caracteres sensoriales internos y culinarios en función del color (blanco y otros colores).	141

# LISTA DE FIGURAS

---

## Capítulo 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

---

- Figura 1.** En amarillo se representa el lugar de colecta de las 109.662 entradas del género *Phaseolus* incluidas en la base de datos GENESYS. Fuente: Base de datos GENESYS (Consultado 28/06/2015). 16
- Figura 2.** La población de judía común silvestre presente en los Andes derivó de la población mesoamericana a través, como mínimo, de dos migraciones independientes (Bittochi et al., 2012 ). Estos hechos condujeron a dos eventos de domesticación paralelos en las zonas mesoamericana y andina. Reproducido con el permiso de Macmillan Publishers Ltd: [Nature Genetics, n° licencia 3700920661139], (Gaut, B.S., 2014. The complex domestication history of the common bean. *Nat. Genet.* 46, 663–4), copyright (2014). 20
- Figura 3.** Relación de la producción mundial de judías secas desglosada por continentes, entre los años 2004 y 2013. Fuente: Elaboración propia a partir de FAOSTAT (Consultado 24/04/2015). 24
- Figura 4.** Los 10 principales países productores de judía seca en el mundo en el año 2013. Fuente: Elaboración propia a partir de FAOSTAT (Consultado 24/04/2015). 25
- Figura 5.** Número de entradas del género *Phaseolus* conservadas en los 15 principales bancos de germoplasma a nivel mundial. CIAT, Centro Internacional de Agricultura Tropical (Colombia); W6, Western Regional Plant Introduction Station, Pullman (EUA); CNPAF, Embrapa Arroz e Feijão (Brasil); INIFAP, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (Méjico); IPK, Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (Alemania); ICGR-CAAS, Institute of Crop Germplasm Resources, Chinese Academy of agricultural Sciences (China); VIR, N.I. Vavilov Research Institute of Plant Industry (Rusia); BCA, Bunda College of Agriculture (Malawi); RCA, Institute for Agrobotany (Hungria); LBN, National Biological Institute (Indonesia); CRF, Centro de Recursos Fitogenéticos (España); KARI-NGBK, National Genebank of Kenya, Crop Plant Genetic Resources Centre, Muguga (Kenia); IPGR, Institute for Plant Genetic Resources “K. Malkov” (Bulgaria); DENAREF, Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos y Biotecnología (Ecuador); ISAR, Institut des Sciences Agronomiques du Rwanda (Ruanda). Fuente: Elaboración propia a partir de la información publicada en las webs los bancos identificados con un \* (Consultado 28/06/2015) y en el segundo informe del estado de los RFAA. 33
- Figura 6.** Distribución geográfica de las entradas de judía (*Phaseolus vulgaris* L.) conservadas en el banco de la FMA-ESAB. 37

Capítulo 2. CLASIFICACIÓN DE LAS ENTRADAS DEL TIPO VARIETAL GANXET RECOLECTADAS EN CATALUÑA

---

- Figura 1.** Distribución de las entradas colectadas y aceptadas como Ganxet. El radio de los círculos está correlacionado con el número de entradas en cada zona. En gris los municipios amparados por la DOP Mongeta del Ganxet. 57
- Figura 2.** Imagen de las semillas pertenecientes a la 24 entradas seleccionadas. 59
- Figura 3.** Representación gráfica del análisis de componentes principales empleando la media de cada grupo. Los ejes representados explican el 66,31% de la variación. 60

Capítulo 3. VARIABILITY IN SENSORY ATTRIBUTES IN COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.) A FIRST SURVEY IN THE IBERIAN SECONDARY DIVERSITY CENTER

---

- Figure 1.** Representatives of the 20 groups of landraces, together with the two checks, submitted to sensory analysis. 74
- Figure 2.** Dendrogram constructed using UPGMA clustering, based on Jaccard's distance analysis of a dataset of 17 molecular markers, performed with representatives of the groupings based on variety names and place collected. Tendergreen (Andean) and AB136 (Mesoamerican) were used as checks. 75
- Figure 3.** Principal component analysis using all the traits related to texture, flavor, and appearance of the beans. 78

Capítulo 4. CULINARY AND SENSORY TRAITS IN THE SPANISH CORE COLLECTION OF COMMON BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.)

---

- Figure 1.** Principal component analysis in the sensory traits recorded in uncooked beans, considering domestication origin. Entries with phaseolins of Mesoamerican origin are represented as black triangles and those with phaseolins of Andean origin are represented as gray circles. The dashed lines represent the 95% confidence ellipses. The percentages between parentheses refer to the variability explained by each principal component. 93
- Figure 2.** Principal component analysis in the sensory traits recorded in cooked beans, considering domestication origin. Entries with phaseolins of Mesoamerican origin are represented as black triangles and those with phaseolins of Andean origin are represented as gray circles. The dashed lines represent the 95% confidence ellipses. The percentages between parentheses refer to the variability explained by each principal component. 94
- Figure 3.** Principal component analysis in the sensory traits recorded in cooked beans (a) and in culinary traits (b), considering the color of the raw seed coat. Entries with white seed coats are represented as white circles and entries with seed coats of other colors are represented as black and gray icons. The dashed lines represent the 95% confidence ellipses. The percentages between parentheses refer to the variability explained by each principal component. 96

Capítulo 5. SEED CURVATURE AS A USEFUL MARKER TO TRANSFER MORPHOLOGIC, AGRONOMIC, CHEMICAL AND SENSORY TRAITS FROM GANXET COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.)

---

**Figure 1.** Ganxet seeds (left) are curved, Xana seeds (right) are not. Curvature trait defined as  $a/b$ , (a) is a perpendicular distance from the center of the object at the point of maximum straight width to the straight length and (b) is the straight length. 107

Capítulo 6. "CROSCAT" COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.), A PROTOTYPICAL CULTIVAR WITHIN THE "TAVELLA BRISA" TYPE

---

**Figure 1.** Croschat seeds (a) and immature pods (b). Note the color of the immature pods that gives name to the landrace Tavella Brisa, origin of the new cultivar. 127

