

NUTRITIONAL QUALITY OF PHASEOLIN TYPES AND MORPHOTYPES OF GREEN BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.)

CALIDAD NUTRICIONAL DE LOS TIPOS DE FASEOLINAS Y MORFOTIPOS DEL FRIJOL EJOTERO (*Phaseolus vulgaris* L.)

Klaudija **Carović-Stanko**^{1,2}, Mario **Maloić**¹, Jasna **Pintar**³, Zlatko **Liber**^{2,4}, Ivan **Radosavljević**^{2,4}, Dalibor **Bedeković**³, Sunčica **Guberac**⁵, Vesna **Očić**⁶, Boris **Lazarević**^{7*}

¹University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of Seed Science and Technology, Svetošimunska cesta 25, HR-10000 Zagreb, Croatia; (kcarovic@agr.hr). ²Centre of Excellence for Biodiversity and Molecular Plant Breeding, Svetošimunska 25, HR-10000 Zagreb, Croatia ³University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of Animal Nutrition, University of Zagreb, Svetošimunska cesta 25, HR-10000 Zagreb, Croatia; (jpintar@agr.hr); (dbedekovic@agr.hr). ⁴University of Zagreb, Faculty of Science, Department of Botany, Marulićev Trg 20/II, HR-10000 Zagreb, Croatia; (zliber@botanic.hr); (ivanrad@biol.pmf.hr). ⁵Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agriculture in Osijek, Kralja Petra Svačića 1d, HR-31000 Osijek, Croatia; (suncica.guberac@pfos.hr). ⁶University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of Management and Rural Entrepreneurship, Svetošimunska cesta 25, HR-10000 Zagreb, Croatia; (vovic@agr.hr). ⁷University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of Plant Nutrition, Svetošimunska cesta 25, HR-10000 Zagreb, Croatia. (blazarevic@agr.hr).

ABSTRACT

The long tradition of green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivation in Croatia has resulted in the development of a landraces adapted to specific areas and chosen to suit different dietary habits. The hypothesis of our study was that nutritional quality (content of proteins, sugars, fibres, calcium, potassium and phosphorus in fresh pods) of 14 widely grown Croatian green bean accessions is affected by origin and morphotype. The analysed accessions were grown in non-replicated field plots where morphotypes were classified. The gene pool of adscription (Andean vs. Mesoamerican) of each accession was determined with the phaseolin marker, whereas nutritional quality traits were analysed according to standard analytical methods. The relationships among nutritional quality traits of fresh pods were assessed by Pearson's correlation coefficient. The univariate ANOVA and a *post hoc* Tukey test ($p \leq 0.05$) were carried out for each trait to compare the values among accessions. Accessions were grouped according to phaseolin type (I, II or III) and morphological traits (growth habit, pod colour and width). Four accessions had phaseolin type I ("S") predominant in the Mesoamerican while the rest of

RESUMEN

La larga tradición del cultivo del frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris* L.) en Croacia ha tenido como resultado el desarrollo de variedades locales adaptadas a áreas específicas y elegidas para satisfacer diferentes hábitos alimenticios. La hipótesis de nuestro estudio fue que la calidad nutricional (contenido de proteínas, azúcares, fibras, calcio, potasio y fósforo en vainas frescas) de 14 muestras de frijol ejotero croata cultivadas ampliamente se vieron afectadas por el origen y el morfotipo. Las muestras analizadas se cultivaron en parcelas de campo no replicadas, donde se clasificaron los morfotipos. El conjunto de genes de adscripción (andino vs. mesoamericano) de cada muestra se determinó con el marcador de faseolina, mientras que los rasgos de calidad nutricional se analizaron de acuerdo con los métodos analíticos estándares. Las relaciones entre las características de calidad nutricional de las vainas frescas se evaluaron mediante el coeficiente de correlación de Pearson. El ANDEVA univariante y una prueba Tukey *post hoc* ($p \leq 0.05$) se llevaron a cabo para cada característica con el objeto de comparar los valores entre las muestras. Las muestras se agruparon según el tipo de faseolina (I, II ó III) y las características morfológicas (hábito de crecimiento, color y ancho de la vaina). Hubo cuatro muestras que tuvieron la faseolina tipo I ("S") predominante en Mesoamérica, mientras que las demás muestras pertenecen al conjunto de genes andinos caracterizado por la faseolina tipo II ("H" o "C") o

* Author for correspondence ♦ Autor responsable.

Received: March, 2017. Approved: January, 2018.

Published as ARTÍCULO in *Agrociencia* 52: 523-537. 2018.

accessions belong to the Andean gene pool characterized by the phaseolin type II (“H” or “C”) or III (“T”). Significant differences among accessions grouped by phaseolin type were found in all nutritional quality traits. The accessions of the Mesoamerican gene pool had higher dry matter content and crude protein content of fresh pods, while those of the Andean gene pool had higher total sugars content. Accessions of indeterminate growth habit had higher dry matter and crude protein content as well as phosphorus and potassium content than determinate ones, but display lower total sugar and calcium content. Outstanding accessions: S538, S541, S506 and S545 could be used as valuable sources of bioactive nutrients in future breeding programs.

Key words: crude protein, gene pool, growth habit, functional food, phosphorus, potassium.

INTRODUCTION

Consumers are increasingly interested in the health benefits of foods looking beyond the basic nutritional needs. The nutritional value of legumes is gaining interest in the developed countries because of increasing demand for functional food. Green beans (*Phaseolus vulgaris* L.) are cultivated and distributed throughout the world, and they are used in diets worldwide (Khatun *et al.*, 2007).

Green beans fall into two growth habits: indeterminate (climbing or pole) beans and determinate (dwarf or bush) beans. Pod colour is green, yellow or purple (Singh and Singh, 2015), while shape range from thin “fillet” to wide “romano”. Pods are rich in proteins, carbohydrates, dietary fibre, minerals, vitamins and antioxidant phytochemicals (Lim, 2012). Green beans can be prepared steamed, boiled, stir-fried or baked, and unlike most of the vegetables, they retain the antioxidant activity after most cooking treatments (Jimenez-Monreal *et al.*, 2009). Pods are harvested immature, usually 12 to 14 d after the first blossoms open (Lim, 2012). Immature pods are marketed as fresh, frozen or canned, whole or French cut (Duke, 1981).

Domestication of common bean occurred independently in Mesoamerica and Andean South America (Kaplan and Lynch, 1999) and gave rise to two major gene pools within the cultivated forms (Gepts, 1988); afterwards, both Mesoamerican and Andean cultivars were disseminated all over the world. The relative distribution of each major gene

III (“T”). Entre las muestras agrupadas por el tipo de faseolina se encontraron diferencias significativas en todas las características de calidad nutricional. Las muestras de la reserva genética mesoamericana tuvieron mayor contenido de materia seca y de proteína cruda de las vainas frescas, mientras que las del grupo de genes andinos tuvieron un contenido total de azúcares más alto. Las muestras de hábito de crecimiento indeterminado tuvieron mayor materia seca y contenido de proteína cruda, así como también contenido de fósforo y potasio que las determinadas, pero registraron un contenido total de azúcar y calcio más bajo. Las muestras excepcionales: S538, S541, S506 y S545 podrían utilizarse como valiosas fuentes de nutrientes bioactivos en futuros programas de mejoramiento.

Palabras clave: proteína cruda, grupo genético, hábito de crecimiento, alimento funcional, fósforo, potasio.

INTRODUCCIÓN

Los consumidores están cada vez más interesados en los beneficios para la salud de los alimentos que van más allá de las necesidades nutricionales básicas. El valor nutricional de las legumbres gana interés en los países desarrollados debido a la creciente demanda de alimentos funcionales. Los frijoles ejoteros (*Phaseolus vulgaris* L.) se cultivan, distribuyen y utilizan en dietas en todo el mundo (Khatun *et al.*, (et al con cursiva en todo el manuscrito) 2007).

Los frijoles ejoteros tienen dos hábitos de crecimiento: frijoles indeterminados (trepadores o de postes) y frijoles determinados (enanos o arbustos). El color de la vaina es verde, amarillo o morado (Singh and Singh, 2015), mientras que su forma varía desde el delgado “filete” hasta el ancho “romano”. Las vainas son ricas en proteínas, carbohidratos, fibra dietética, minerales, vitaminas y fitoquímicos antioxidantes (Lim, 2012). Los frijoles ejoteros se pueden preparar al vapor, hervidos, salteados u horneados, y a diferencia de la mayoría de los vegetales, retienen la actividad antioxidante después de pasar por casi todas las recetas de cocina (Jiménez-Monreal *et al.*, 2009). Las vainas se cosechan inmaduras, generalmente de 12 a 14 d después de que se abren las primeras flores (Lim, 2012). Las vainas inmaduras se comercializan frescas, congeladas o enlatadas, enteras o cortadas a la francesa (Duke, 1981).

La domesticación del frijol común se produjo de forma independiente en Mesoamérica y la región

pool varies from region to region (Gepts, 1988). The long tradition of green bean cultivation in Croatia has resulted in the development of a large number of landraces adapted to specific areas, and chosen to suit different dietary habits (Čupić *et al.*, 2012). Traditional landraces are an important source of germplasm for plant breeders, have considerable genetic variation and show high adaptability to different environmental conditions (FAO Country report, 2008).

Nutrient composition varies among green beans and such variation is influenced by genotype, growing conditions, and maturity stage at harvest (Kelly and Scott, 1992; Jakopic *et al.*, 2013; Selan *et al.*, 2014). Therefore, the hypothesis of our study was that there are significant differences in nutritional quality among traditional green bean landraces in Croatia and that those differences could be related to gene pool and/or morphotype differences. In addition, the objective was to assess the nutrition value of most important Croatian green bean landraces and to evaluate the effect of origin and morphotype on content of proteins, sugars, fibres, calcium, potassium and phosphorus in fresh green bean pods.

MATERIALS AND METHODS

Plant material and morphotype determination

Research was carried out on 14 accessions of green bean landraces originating from diverse geographical regions of Croatia (Table 1). The accessions were grown in non-replicated field plots at the experiment field in Maksimir, Zagreb. Seeds were planted on May 6, 2014. Prior to planting 350 kg ha⁻¹ of N:P:K (7:20:30) was broadcasted. During vegetation, mechanical weed control was performed. The vegetation period was characterized by sufficient and proper distribution of rainfall (145 mm, 145.4 mm, 157.8 mm and 115.2 mm, during May, Jun, July, and August, respectively); thus, there was no need for irrigation. Mean monthly temperatures during the vegetation period, May, Jun, July, and August, were 16.2, 20.3, 22.4, and 19.2 °C, respectively.

The morphotypes of 14 accessions were classified based on three morphological traits (growth habit, pod colour and pod width), which required them to be scored based on the descriptor list for common bean used in the Phaseolus Database (<http://www.genbank.at/en/ecpgr-phaseolus.html>).

andina de América del Sur (Kaplan y Lynch, 1999) y dio lugar a dos grupos principales de genes dentro de las formas cultivadas (Gepts, 1988); luego, los cultivares mesoamericanos y andinos se difundieron en todo el mundo. La distribución relativa de cada grupo genético varía de una región a otra (Gepts, 1988). La larga tradición del cultivo del frijol ejotero en Croacia ha significado el desarrollo de un gran número de variedades locales adaptadas a áreas específicas, y elegidas para satisfacer diferentes hábitos alimenticios (Čupić *et al.*, 2012). Las variedades criollas tradicionales son una fuente importante de germoplasma para los fitomejoradores; tienen una variación genética considerable y muestran una gran adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales (Informe de la FAO, 2008).

La composición de nutrientes varía entre los frijoles ejoteros y se debe al genotipo, las condiciones de crecimiento y la etapa de madurez en la cosecha (Kelly y Scott, 1992; Jakopic *et al.*, 2013; Selan *et al.*, 2014). Por lo tanto, la hipótesis de nuestro estudio es que hay diferencias significativas en la calidad nutricional entre las variedades locales tradicionales de frijol ejotero en Croacia y esas diferencias podrían estar relacionadas con el conjunto de genes y/o las diferencias de los morfotipos. Además, el objetivo fue evaluar el valor nutricional de las variedades locales más importantes del frijol ejotero croata, como también el efecto del origen y el morfotipo en el contenido de proteínas, azúcares, fibras, calcio, potasio y fósforo en las vainas de frijoles ejoteros frescos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia vegetal y determinación del morfotipo

Nuestra investigación abarcó 14 muestras de variedades locales de frijol ejotero procedentes de diversas regiones geográficas de Croacia (Cuadro 1). Las muestras se cultivaron en parcelas de campo no replicadas, en un campo experimental en Maksimir, Zagreb. Las semillas se plantaron el 6 de mayo de 2014. Antes de la siembra se sembraron 350 kg ha⁻¹ de N:P:K (7:20:30). Durante el proceso de cultivo, hicimos desmalezamiento con máquinas. El período de cultivo se caracterizó por una distribución suficiente y adecuada de precipitaciones (145 mm, 145.4 mm, 157.8 mm y 115.2 mm en mayo, junio, julio y agosto, respectivamente); por lo tanto, no hubo necesidad de riego. Las temperaturas medias

Table 1. Accessions used in the study with their corresponding phaseolin type and morphotype.
Cuadro 1. Accesiones utilizadas en el estudio con su correspondiente tipo de faseolina y morfotipo.

Number	Accession	Origin (County)	Phaseolin type [†]	Habit	Morphotype Pod colour	Pod width
1	S501	Dubrovnik	I	Indeterminate	Green	Wide
2	S506	Varaždin	I	Indeterminate	Yellow	Thin
3	S507	Varaždin	II	Indeterminate	Green	Wide
4	S508	Dubrovnik	III	Determinate	Green	Wide
5	S509	Varaždin	II	Indeterminate	Yellow	Thin
6	S518	Krapina	I	Determinate	Yellow	Thin
7	S525	Krapina	II	Indeterminate	Yellow	Wide
8	S526	Gorski Kotar	III	Determinate	Yellow	Thin
9	S538	Koprivnica	I	Indeterminate	Green	Wide
10	S541	Zagreb	II	Indeterminate	Yellow	Wide
11	S542	Zagreb	III	Determinate	Yellow	Thin
12	S543	Karlovac	III	Determinate	Yellow	Wide
13	S544	Zadar	III	Determinate	Green	Thin
14	S545	Zadar	III	Indeterminate	Green	Thin

[†]Phaseolin types: I - Mesoamerican "S" type, II - Andean "H" or "C" type, III - Andean "T" type ♦ Tipos de Faseolina: I - Tipo "S" mesoamericano, II - tipo "H" o "C" andino, III - tipo "T" andino.

Phaseolin type

Total genomic DNAs were extracted from 25 mg of silica gel dried leaves from each accession using DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Valencia, California, USA). The PCR amplification of phaseolin sequence combined PCR primers developed by Kami *et al.* (1995) and a tailed PCR primer approach (Schuelke, 2000). The 20 μ L of the PCR mix contained reverse (5'-GCTCAGTTCCTCAATCTGTTC-3') and FAM labelled M13 primer (5'-TGTAACGACGGCCAGT-3'), each of 8 pmol, 2 pmol of the tailed forward primer GGCCAGTAGCATATTCTAGAGGCCTCC-3'), 1 x PCR buffer, 0.2 mM dNTPs, 1 U TaKaRa Taq™ Hot Start DNA Polymerase (Takara Bio Inc., Otsu, Japan) and 5 ng of template DNA. A two-step PCR protocol was utilized with an initial touchdown cycle (94 °C for 5 min; 5 cycles of 45 s at 94 °C, 30 s at 60 °C, which was lowered by 1 °C in each cycle, and 90 s at 72 °C; 25 cycles of 45 s at 94 °C, 30 s at 55 °C, and 90 s at 72 °C; and 8-min extension step at 72 °C) (Radosavljević *et al.*, 2011). The PCR products were detected on an ABI 3730xL DNA analyser (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) by the Macrogen DNA service (Seoul, South Korea) and analysed using GeneMapper 4.0 computer program (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Nutritional quality

Seven nutritional quality traits were determined on pod samples harvested before they were fully mature, from 12 to 14

mensuales durante el período de crecimiento, mayo, junio, julio y agosto, fueron de 16.2, 20.3, 22.4 y 19.2 °C, respectivamente.

Los morfotipos de 14 muestras se clasificaron según tres características morfológicas (hábito de crecimiento, color de la vaina y ancho de la vaina), lo que requirió que se puntuaran según la lista de descriptores del frijol común utilizada en la base de datos de Phaseolus (<http://www.genbank.at/en/ecpgr-phaseolus.html>).

Tipos de faseolina

Se extrajeron los ADN genómicos totales de 25 mg de hojas secas de gel de sílice de cada muestra utilizando el mini kit DNeasy Plant (Qiagen, Valencia, California, EE.UU.). La amplificación de faseolina por PCR combinó los iniciadores de PCR desarrollados por Kami *et al.* (1995) y un enfoque de cebador PCR de cola (Schuelke, 2000). Los 20 μ L de la mezcla de PCR contenían el cebador M13 inverso (5'-GCTCAGTTCCTCAATCTGTTC-3') y FAM etiquetado como iniciador M13 (5'-TGTAACGACGGCCAGT-3'), cada uno de 8 pmol, 2 pmol del iniciador directo de cola (5'-TGTAACGACGGCCAGTAGCATATTCTAGAGGCCTCC-3'), 1 x amortiguador de PCR, dNTP 0.2 mM, 1 U ADN polimerasa Hot Start TaKaRa Taq™ (Takara Bio Inc., Otsu, Japón) y 5 ng de ADN de molde. Un protocolo de PCR de dos pasos se utilizó con un ciclo de toma de contacto inicial (94 °C durante 5 min, 5 ciclos de 45 s a 94 °C, 30 s a 60 °C, que se redujo en 1 °C en cada ciclo, y 90 s a 72 °C, 25 ciclos de 45 s a 94 °C, 30 s a 55 °C, y 90 s a 72 °C, y el siguiente paso de 8 min a 72 °C) (Radosavljević *et al.*, 2011). Los productos de PCR se detectaron en un analizador de ADN

d after the blossoms opened depending on genotype and weather conditions (Lim, 2012). Dry matter content was determined by drying the pod samples in an air-forced oven at 70 °C until a constant mass. Dried samples were then ground and homogenized using a sample grinder (IKA® Werke M 20). The total N content was determined using the Kjeldahl procedure following plant material decomposition at 420 °C in the presence of sulphuric acid (AOAC, 1995). Crude protein content was estimated by multiplying the value of total N content with conversion factor of 6.25 (Merrill and Watt, 1973).

After digestion of the plant material in a microwave oven with nitric and perchloric acid (6:1), phosphorus (P_2O_5) content was determined using a spectrophotometer, potassium (K_2O) content was determined using flame photometer (AOAC, 1995), and calcium content was determined titrimetrically (AOAC, 1995). The content of total sugars (reducing + non-reducing) was quantified according to Nelson-Somogyi method (Somogyi, 1945; Maness, 2010). Crude fibre content was determined using the method with intermediate filtration (HRN EN ISO 6865, 2001). The sample was treated with boiling diluted sulfuric acid, the residue was separated by filtration, washed and then treated with boiling potassium hydroxide solution. The residue was separated by filtration, washed, dried, weighed and turned into ash. The loss in mass resulting from this process corresponds to crude fibre mass in the sample. Dry matter content was expressed as percentage of fresh weight, and all other traits as percentage of dry matter.

Data analysis

The relationships among seven quantitative traits describing chemical composition of fresh pods were assessed by Pearson's correlation coefficient using PROC CORR (SAS Institute Inc., 2011). The univariate ANOVA using PROC GLM (SAS) and a *post hoc* Tukey test ($p \leq 0.05$) were carried out for each trait in order to compare the values among accessions. Subsequently, the accessions were grouped according to phaseolin type (I, II or III) and to the three morphological traits: growth habit (determinate vs. indeterminate), pod colour (green vs. yellow), and pod width (thin vs. wide), and the group means were compared as described above.

In addition, a canonical correspondence analysis (CCA) was performed to elucidate the relationships between four qualitative traits (phaseolin type and three morphological traits) and seven quantitative traits describing chemical composition of fresh pods. The analysis was carried out using PAST ver. 3.07 (Hammer *et al.*, 2001).

ABI 3730xL (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) por el servicio MacroGen DNA (Seúl, Corea del Sur) y se analizaron utilizando el programa informático GeneMapper 4.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA)

Calidad nutricional

Siete características de calidad nutricional se determinaron en muestras de vainas cosechadas antes de que estuvieran completamente maduras, de 12 a 14 d después de que las flores se abrieran según el genotipo y las condiciones climáticas (Lim, 2012). El contenido de materia seca se determinó secando las muestras de la vaina en un horno con aire a 70 °C hasta obtener una masa constante. Las muestras secas se trituraron y homogeneizaron usando un molinillo de muestra (IKA® Werke M 20). El contenido total de N se determinó usando el procedimiento de Kjeldahl después de la descomposición del material vegetal a 420 °C en presencia de ácido sulfúrico (AOAC, 1995). El contenido de proteína cruda se estimó multiplicando el valor del contenido total de N por un factor de conversión de 6.25 (Merrill y Watt, 1973).

Después de la digestión del material vegetal en un horno de microondas con ácido nítrico y perclórico (6:1), el contenido de fósforo (P_2O_5) se determinó usando un espectrofotómetro; el contenido de potasio (K_2O) se determinó utilizando un fotómetro de llama (AOAC, 1995) y el de calcio se detectó por medio de la titrimetría (AOAC, 1995). El contenido de azúcares totales (reductores + no reductores) se cuantificó según el método de Nelson-Somogyi (Somogyi, 1945; Maness, 2010). El contenido de fibra cruda se determinó usando el método con filtración intermedia (HRN EN ISO 6865, 2001).

La muestra se trató con ácido sulfúrico diluido hirviendo, el residuo se separó por filtración, se lavó y luego se trató con una solución de hidróxido de potasio hirviendo. El residuo se separó por filtración, se lavó, se secó, se pesó y se convirtió en cenizas. La pérdida de masa resultante de este proceso corresponde a la masa de fibra cruda en la muestra. El contenido de materia seca se expresó como porcentaje del peso fresco y todas las demás características como porcentaje de materia seca.

Análisis de datos

Las relaciones entre las siete características cuantitativas que describen la composición química de las vainas frescas se evaluaron mediante el coeficiente de correlación de Pearson utilizando PROC CORR (SAS Institute Inc., 2011). El ANOVA univariado usando PROC GLM (SAS) y una prueba Tukey *post*

RESULTS AND DISCUSSION

Crude protein content was strongly positively correlated with phosphorus ($r=0.85$) and potassium ($r=0.78$) content, but it was strongly negatively correlated with total sugars content ($r=-0.74$). Furthermore, a strong positive correlation was determined between phosphorus and potassium content ($r=0.82$) (Table 2). Ferreira *et al.* (2006) studied correlations among pod quality traits during different pod developmental stages and found correlations among pod dry matter, alcohol-insoluble solids, and fibre content which were also strongly affected by pod maturation process. In addition, mineral composition, colour and lipid content were stable for all studied cultivars during different pod developmental stages.

There is indirect evidence that protein synthesis requires potassium (Hawkesford *et al.*, 2012) and its probable function is polypeptide synthesis in the ribosomes, which requires a high potassium concentration (Wyn Jones and Pollard, 1983). Moreover, potassium has favourable effect on the transport of assimilates to growing plant organs (Engels *et al.*, 2012); whereas, phosphates have an irreplaceable role in energy-transfer processes, it serves as important linkage in groups, and provides essential ligands in enzymatic processes (Taiz and Zeiger, 2002). All these facts, along with the high mobility of potassium and phosphorus in plants and the crude protein content of fresh pods, explain the positive correlation between crude protein, phosphorus and potassium content in fresh pods.

hoc ($p \leq 0.05$) se realizaron para cada característica con el fin de comparar los valores entre las muestras. Después, las muestras se agruparon según el tipo de faseolina (I, II ó III) y las tres características morfológicas: hábito de crecimiento (determinado versus indeterminado), color de la vaina (verde *vs.* amarillo) y ancho de la vaina (delgado *vs.* ancho), y las medias del grupo se compararon, como ya se describió.

Además, se hizo un análisis de correspondencia canónica (CCA) para dilucidar las relaciones entre cuatro características cualitativas (tipo de faseolina y tres morfológicas) y siete características cuantitativas que describen la composición química de las vainas frescas. El análisis se realizó utilizando PAST ver. 3.07 (Hammer *et al.*, 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de proteína cruda tuvo correlación positiva con el contenido de fósforo ($r=0.85$) y potasio ($r=0.78$), pero la correlación fue negativa con el contenido total de azúcares ($r=-0.74$). Además, se determinó una correlación positiva entre el contenido de fósforo y de potasio ($r=0.82$) (Cuadro 2). Ferreira *et al.* (2006) estudiaron las correlaciones entre las características de calidad de la vaina durante las diferentes etapas de su desarrollo y encontraron correlaciones entre la materia seca (de la vaina), los sólidos insolubles en alcohol y el contenido de fibra, que también se vieron fuertemente afectados por el proceso de maduración. Además, la composición mineral, el color y el contenido de lípidos fueron estables para todos los cultivares estudiados durante las diferentes etapas de desarrollo de la vaina.

Table 2. Pearson's correlation coefficients (r ; below diagonal) and their significance (above the diagonal) between seven nutritional quality traits of green bea fresh pods.

Cuadro 2. Coeficientes de correlación de Pearson (r ; debajo de la diagonal) y su importancia (arriba de la diagonal) entre siete características de calidad nutricional de las vainas frescas de frijol ejotero.

No.	Trait	1	2	3	Trait 4	5	6	7
1	Dry matter		*	ns	***	ns	ns	ns
2	Crude protein	0.38		ns	***	ns	***	***
3	Crude fibre	-0.10	0.26		ns	ns	ns	ns
4	Total sugars	-0.60	-0.74	-0.29		ns	***	**
5	Calcium	-0.25	-0.31	0.21	0.16		**	**
6	Phosphorus	0.29	0.85	0.05	-0.53	-0.44		***
7	Potassium	0.15	0.78	-0.07	-0.47	-0.44	0.82	

*** $p \leq 0.001$; ** $0.001 < p < 0.01$; * $0.01 < p < 0.05$; ns $p > 0.05$.

Contents of crude fibres in fresh pods varied between 7.7 % and 11.1 % (data not shown) and non-significant differences were observed among green bean accessions. Dry matter content of fresh pods varied from 72.3 % (S544) to 98 % (S501) and significant differences were found only between accession S501 and accessions S544, S543, S518, S507, S542, S509, S526, S545, and S508 (Figure 1A).

Crude protein content in fresh pods varied from 18.2 % (S526) to 31.7 % (S538) and the content of superior accession S538 was similar to that of accessions S501 (26.5 %) and S541 (28.2 %) (Figure 1b). These results agree with those reported by Salinas *et al.* (2012) who recorded 22.3 % protein content in pods of indeterminate bred cv. 'Hav-14'. In addition, Kazydub *et al.* (2017) showed 17.8 - 23.6 % of crude protein content as average values in five Siberian green bean cultivars.

Total sugars content in green bean fresh pods varied from 11.3 % (S541) to 28.6 % (S507); however significant differences were only found between accession S507 and accessions S518, S509, S543, S507 (Figure 1C). These results are similar to those reported by Sánchez-Mata *et al.* (2002) of 21.1-21.5 % of total soluble sugars in pods of cv. 'Perona'. Calcium content in fresh pods varied between 4.9 g kg⁻¹ (S541) and 8.1 g kg⁻¹ (S545); however, significant differences were only found when comparing accessions S545 (8.1 g kg⁻¹) and S506 (7.4 g kg⁻¹) with accessions S501 (5.3 g kg⁻¹), S509 (5.1 g kg⁻¹), S525 (5.3 g kg⁻¹), and S541 (4.9 g kg⁻¹) (Figure 1D). Potassium content in fresh pods varied between 24.3 g kg⁻¹ and 34.6 g kg⁻¹ (Figure 1E), and phosphorus content varied from 4.4 to 6.4 g kg⁻¹. High contents of both nutrients were found in fresh pods of accessions S525, S538 and S541, with 34.6, 32.4, and 33.3 g kg⁻¹ for potassium and 6.1, 6.4, and 6.4 g kg⁻¹ for phosphorus, respectively. In addition, low contents of these nutrients were found in fresh pods of accessions S518, S526, and S542, 25.2, 24.4 and 24.3 g kg⁻¹ potassium and 4.4, 4.4, and 4.4 g kg⁻¹ of phosphorus, respectively (Figures 1E and 1F). Results of mineral nutrients content are comparable to those obtained in pods of five Portuguese green bean cultivars by Ferreira *et al.* (2012), who reported 6.3, 30.6, and 5.9 g kg⁻¹ as average values of phosphorus, potassium, and calcium content, respectively.

Existe evidencia indirecta de que la síntesis de proteínas requiere potasio (Hawkesford *et al.*, 2012) y su función probable es la síntesis de polipéptidos en los ribosomas, la cual requiere una alta concentración de potasio (Wyn Jones y Pollard, 1983). Además, el potasio tiene un efecto favorable en el transporte de asimilados a órganos de plantas en crecimiento (Engels *et al.*, 2012); mientras que los fosfatos tienen una función irremplazable en los procesos de transferencia de energía, sirven de enlace importante en los grupos y proporcionan ligandos esenciales en los procesos enzimáticos (Taiz y Zeiger, 2002). Todos estos hechos, junto con la alta movilidad del potasio y el fósforo en las plantas y el contenido de proteína cruda de las vainas frescas, explican la correlación positiva entre dichos contenidos.

El contenido de fibras crudas en las vainas frescas varió entre 7.7 % y 11.1 % (datos no mostrados) y se observaron diferencias no significativas entre las muestras de frijol ejotero. El contenido de materia seca de las vainas frescas varió de 72.3 % (S544) a 98 % (S501) y solo se encontraron diferencias significativas entre la muestra S501 y las muestras S544, S543, S518, S507, S542, S509, S526, S545 y S508 (Figura 1A).

El contenido de proteína cruda en las vainas frescas varió de 18.2 % (S526) a 31.7 % (S538) y el contenido de la muestra superior S538 fue similar al de las muestras S501 (26.5 %) y S541 (28.2 %) (Figura 1b). Estos resultados concuerdan con los reportados por Salinas *et al.* (2012) que registraron 22.3 % de contenido de proteína en las vainas de cv 'Hav-14' de raza indeterminada. Además, Kazydub *et al.* (2017) mostraron un contenido de proteína cruda de 17.8 - 23.6 % como valores promedio en cinco cultivares de frijol ejotero en Siberia.

El contenido total de azúcares en las vainas frescas de frijol ejotero varió de 11.3 % (S541) a 28.6 % (S507); sin embargo, sólo se encontraron diferencias significativas entre la muestra S507 y las muestras S518, S509, S543, S507 (Figura 1C). Estos resultados son similares a los reportados por Sánchez-Mata *et al.* (2002) de 21.1-21.5 % del total de azúcares solubles en las vainas de cv. 'Perona'. El contenido de calcio en las vainas frescas varió entre 4.9 g kg⁻¹ (S541) y 8.1 g kg⁻¹ (S545); sin embargo, se encontraron diferencias significativas sólo al comparar las muestras S545 (8.1 g kg⁻¹) y S506 (7.4 g kg⁻¹) con muestras S501 (5.3 g kg⁻¹), S509 (5.1 g kg⁻¹), S525

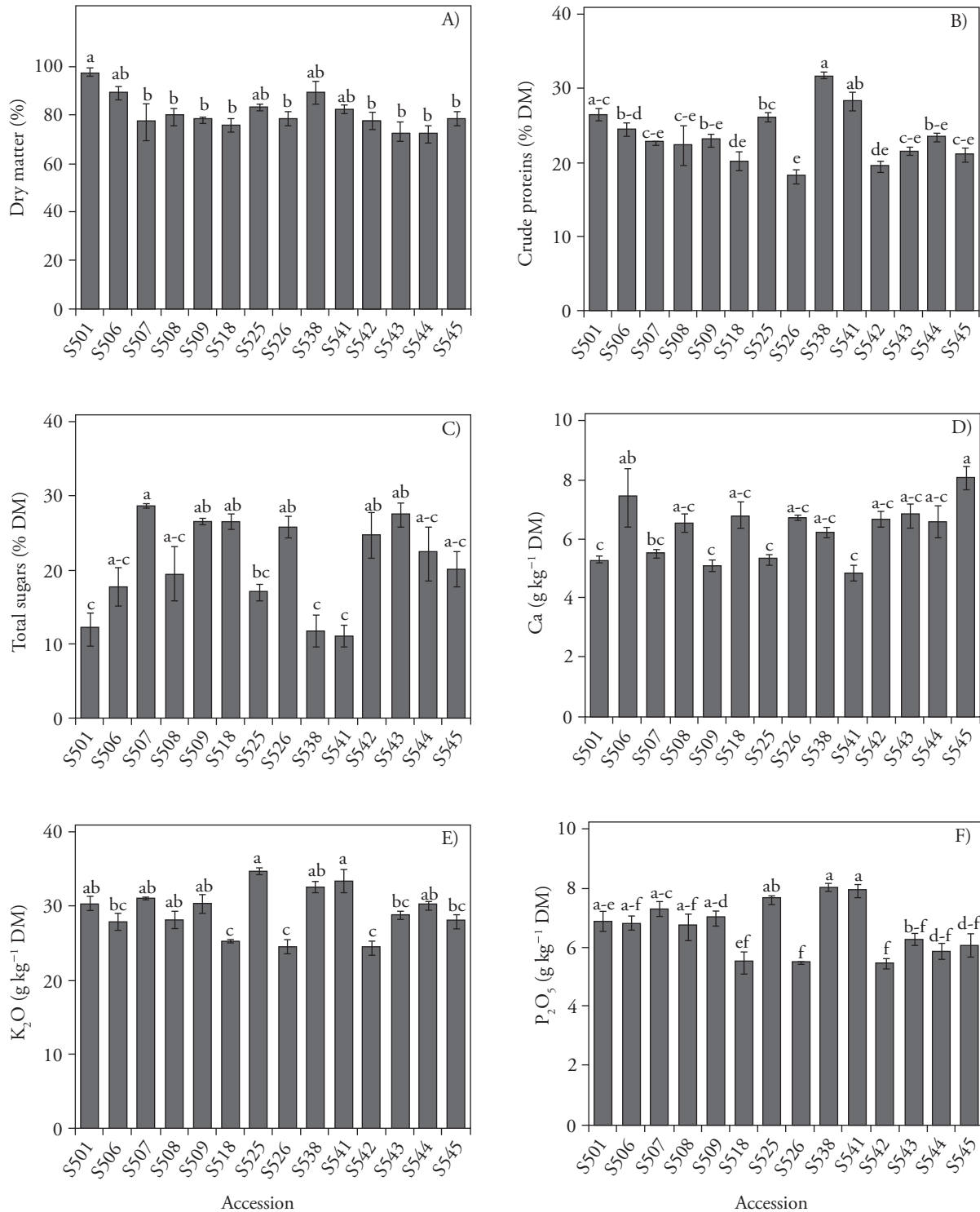


Figure 1. Dry matter (A), crude proteins (B), total sugars (C), calcium (D), potassium (E), and phosphorus (F) content in dry matter of pods from 14 field grown green bean accessions.

Vertical bars represent the means ± standard errors of the mean (SEM) (n=3); *** p ≤ 0.001 ANOVA; means (bars) with different letters are statistically significant (Tukey; p ≤ 0.05).

Figure 1. Contenido de materia seca (A), proteínas crudas (B), azúcares totales (C), calcio (D), potasio (E) y fósforo (F) en la materia seca de las vainas de 14 muestras de frijol ejotero cultivadas en el campo.

Las barras verticales representan los medios ± errores estándar de la media (SEM) (n=3); *** p ≤ 0.001 ANDEVA; las medias (barras) con letras diferentes son estadísticamente significativas (Tukey; p ≤ 0.05).

The accessions were grouped according to phaseolin type (I, II or III) as well as according to each of the three morphological traits [growth habit (determinate vs. indeterminate), pod colour (green vs. yellow), pod width (thin vs. wide)]. Regarding phaseolin analysis, four accessions had phaseolin type I (“S”), which is predominant in Mesoamerican gene pool, whereas the other accessions belong to Andean gene pool characterized by the phaseolin types II (“H” or “C”) and III (“T”) (Table 1).

Analysis of variance revealed significant differences among phaseolin types in all nutritional quality traits (Table 3). The accessions of the Mesoamerican gene pool (phaseolin type I) had significantly higher dry matter and crude protein contents of fresh pods, as compared to accessions of the Andean gene pool (phaseolin types II and III); on the contrary Andean accessions had significantly higher total sugars content than the Mesoamerican and those with phaseolin type II had the highest phosphorus and potassium contents. Islam *et al.* (2002) also found differences in pod quality traits between Mesoamerican and Andean gen pool. These authors reported higher calcium, phosphorus, sulphur and zinc content, and lower iron and phaseolin content in Mesoamerican compared to Andean gen pool.

Significant differences in almost all nutritional quality traits were also found among different morphotypes. The content of crude fibres was similar

(5.3 g kg⁻¹) y S541 (4.9 g kg⁻¹) (Figura 1D). El contenido de potasio en las vainas frescas varió entre 24.3 g kg⁻¹ y 34.6 g kg⁻¹ (Figura 1E), y el contenido de fósforo varió de 4.4 a 6.4 g kg⁻¹. Se encontraron Los contenidos de potasio y fósforo fueron altos en las vainas frescas de las muestras S525, S538 y S541, con 34.6, 32.4 y 33.3 g kg⁻¹ de potasio, y 6.1, 6.4 y 6.4 g kg⁻¹ de fósforo, respectivamente. Además, hubo contenidos bajos de estos nutrientes en las vainas frescas de las muestras S518, S526 y S542, 25.2, 24.4 y 24.3 g kg⁻¹ de potasio y 4.4, 4.4 y 4.4 g kg⁻¹ de fósforo, respectivamente (Figuras 1E y 1F). Los resultados del contenido de nutrientes minerales son comparables a los obtenidos en las vainas de cinco cultivares portugueses de frijol ejotero por Ferreira *et al.* (2012), quienes reportaron 6.3, 30.6 y 5.9 g kg⁻¹ como valores promedio de contenidos de fósforo, potasio y calcio, respectivamente.

Las muestras se agruparon según el tipo de faseolina (I, II ó III) y de acuerdo con cada una de las tres características morfológicas [hábito de crecimiento (determinado versus indeterminado), color de la vaina (verde vs. amarillo), ancho de la vaina (delgado vs. amplio)]. En cuanto al análisis de la faseolina, cuatro muestras tenían faseolina tipo I (“S”), que es predominante en el conjunto de genes mesoamericanos, mientras que las otras muestras pertenecen al conjunto de genes andinos caracterizado por los tipos II de faseolina (“H” o “C”) y III (“T”) (Cuadro 1).

Table 3. Effect of phaseolin type, growth habit, pod colour and pod width on seven nutritional quality traits of green bean fresh pods.

Cuadro 3. Efecto del tipo de faseolina, hábito de crecimiento, color de la vaina y ancho de la vaina en siete características de calidad nutricional de las vainas frescas de frijol ejotero.

Trait	Phaseolin type [†]			Growth habit [‡]		Pod colour		Pod width	
	I	II	III	D	I	Green	Yellow	Thin	Wide
Dry matter (%)	88.6a	80.2b	76.6b	76.7b	84.7a	82.8a	79.8a	78.6b	83.5a
Crude protein (%)	25.7a	25.0b	21.0c	20.9b	25.5a	24.6a	22.7b	21.5b	25.6a
Crude fibre (%)	9.4ab	8.3b	9.8a	9.6a	9.0a	10.0a	8.8b	9.1a	9.4a
Total sugars (%)	17.1b	20.9a	23.4a	24.4a	18.2b	19.2b	22.2a	23.4a	18.3b
Calcium (g kg ⁻¹)	6.4a	5.2b	6.9a	6.7a	6.0b	6.4a	6.2a	6.8a	5.8b
Phosphorus (g kg ⁻¹)	5.4b	6.0a	4.8c	4.7b	5.8a	5.4a	5.2b	4.8b	5.8a
Potassium (g kg ⁻¹)	28.9b	32.3a	27.3c	26.8b	31.0a	30.0a	28.6b	27.2b	31.2a

[†]Phaseolin types: I - Mesoamerican “S” type, II - Andean “H” or “C” type, III - Andean “T” type ♦ [‡]Tipos de Faseolina: I - Tipo “S” Mesoamericano, II - tipo “H” o “C” andino, tipo III - “T” andino.

[‡]Growth habit: D - determinate, I - indeterminate; means with different letters are statistically significant (Tukey test: $p \leq 0.05$) ♦ [§]Hábito de crecimiento: D - determinado, I - indeterminado; las medias con letras diferentes son estadísticamente significativas (prueba de Tukey: $p \leq 0.05$).

regardless of growth habit and pod width. Accessions of indeterminate growth habit had higher dry matter and crude protein content as well as phosphorus and potassium content as compared to determinate ones, but showed lower total sugar and calcium contents. Accessions of yellow pod colour had higher total sugar content, but lower phosphorus and potassium content as compared to accessions having green pods. Accessions with green pods had higher content of crude protein, crude fibres, phosphorus and potassium and lower content of total sugars, as compared to morphotypes with yellow pods. Accessions with wide pods had higher dry matter content, crude protein, phosphorus, and potassium content and lower total sugars and calcium content, than accessions having thin pods.

Results of our research indicate a considerable variation in nutritional traits of fresh pods among green bean accessions. In addition, although measured pod traits represent quantitative traits affected by environmental conditions, favourable climatic conditions during our experiment, along with comparable results reported by other authors indicate the existence of different patterns of nutrient accumulation, in relation to different green bean morphotypes and different phaseolin types.

The relationships between pairs of four qualitative traits (phaseolin type, and three morphological traits) and seven quantitative traits describing chemical composition of fresh pods (shown as vectors) are shown as a biplot constructed by the first two axes of canonical correspondence analysis (CCA) (Figure 2). The first axis explained more than 60 % of the total variation showing that the increased levels of phosphorus, potassium and crude proteins in the pods are related to indeterminate growth habit (Hab_I), wide pod morphotype (PW_W) and phaseolin type II (Ph_II). Similarly, the accessions having phaseolin type III (Ph_III), determinate growth habit (Hab_D) and thin pods (PW_T) tend to show higher values of total sugars and calcium. However, it is more likely that growth habit type and pod width rather than phaseolin type have more profound effect on nutritional traits of fresh pods due to limited number of different morphotypes within each phaseolin type. Namely, most of the accessions within phaseolin type III had determinate habit type (four out of five accessions), whereas accessions within types I and II had indeterminate habit type (eight out

El análisis de varianza reveló diferencias significativas entre los tipos de faseolina en todas las características de calidad nutricional (Cuadro 3). Las muestras del grupo de genes mesoamericano (faseolina tipo I) tuvieron significativamente mayor contenido de materia seca y proteína cruda en las vainas frescas en comparación con las muestras del conjunto de genes andinos (faseolina tipos II y III). Por el contrario, las muestras andinas tenían un contenido total de azúcares significativamente mayor que las de Mesoamérica y las que tenían faseolina tipo II tenían los contenidos más altos de fósforo y potasio. Islam *et al.* (2002) también encontraron diferencias en las características de calidad de la vaina entre el grupo genético mesoamericano y el andino. Estos autores informaron de mayores contenidos de calcio, fósforo, azufre y zinc, y menor contenido de hierro y faseolina en Mesoamérica en comparación con el grupo de gen andino.

También se encontraron diferencias significativas en casi todas las características de calidad nutricional en los diferentes morfotipos. El contenido de fibras crudas fue similar, independiente del hábito de crecimiento y el ancho de la vaina. Las muestras de hábito de crecimiento indeterminado tuvieron mayores contenidos de materia seca y proteína cruda, como también contenido de fósforo y potasio en comparación con los determinados, pero mostraron menores contenidos totales de azúcar y calcio. Las muestras de vainas de color amarillo tenían un contenido de azúcar total más alto, pero menor contenido de fósforo y potasio en comparación con las muestras de vainas verdes.

Las muestras con vainas verdes tuvieron mayor contenido de proteína cruda, fibra cruda, fósforo y potasio y menor contenido de azúcares totales en comparación con los morfotipos con vainas amarillas. Las muestras con vainas anchas tenían un mayor contenido de materia seca, proteína cruda, contenidos de fósforo y potasio y menos azúcares totales y contenido de calcio, que las muestras de vainas delgadas.

Los resultados de nuestra investigación indican una variación considerable en las características nutricionales de las vainas frescas en las muestras de frijol ejotero. Además, aunque nuestro estudio de las vainas señala características cuantitativas afectadas por las condiciones ambientales, las condiciones climáticas favorables durante nuestro experimento,

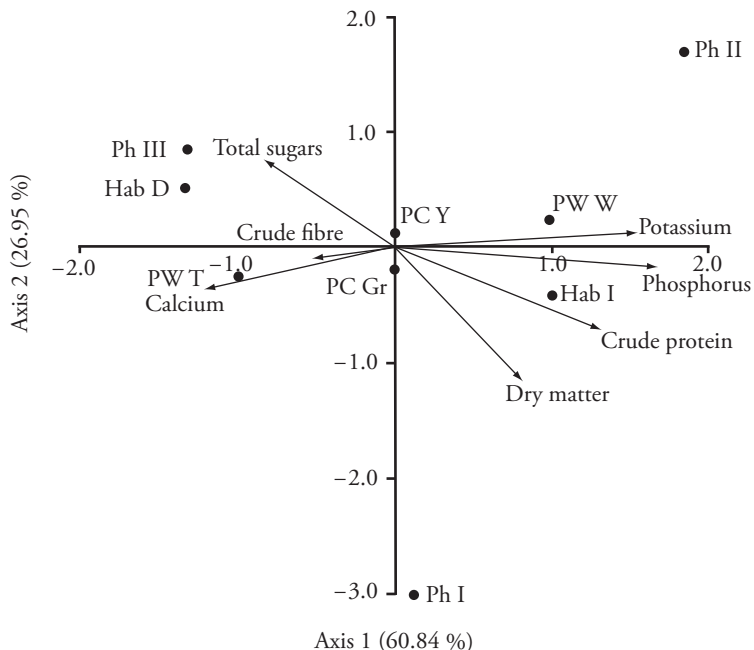


Figure 2. Biplot of the canonical correspondence analysis (CCA) showing the relationships between four qualitative traits (phaseolin type, and three morphological traits) and seven quantitative traits describing chemical composition of fresh pods (shown as vectors).

Ph_I - phaseolin type I; Ph_II - phaseolin type II; Ph_III - phaseolin type III; Hab_D - determinate habit; Hab_I - indeterminate habit, PC_Gr - green pod colour; PC_Y - yellow pod colour; PW_T - thin pod width; PW_W - wide pod width.

Figure 2. Biplot del análisis de correspondencia canónica (CCA) que muestra las relaciones entre cuatro características cualitativas (tipo de faseolina y tres características morfológicas) y siete características cuantitativas que describen la composición química de las vainas frescas (mostradas como vectores).

Ph_I - faseolina tipo I; Ph_II - faseolina tipo II; Ph_III - faseolina tipo III; Hab_D - hábito determinado; Hab_I - hábito indeterminado, PC_Gr - color verde de la vaina; PC_Y - color amarillo de la vaina; PW_T: ancho de vaina delgada; PW_W: ancho de vaina amplio.

of nine accessions) (Table 1). Furthermore, Singh *et al.* (1991) reported that determinate growth habit in common bean is controlled by the *fin* locus and that most varieties of the Nueva Granada race from the Andean gen pool (phaseolin type III) possess this locus. Thus, it seems that plants with different growth habit type tend to have different biochemical and metabolic patterns of nutrient remobilization and accumulation in pods. Such results agree with those reported by Koinange *et al.* (1996) and Rosales-Serna *et al.* (2004), who detected differences in common bean plants with different growth habits. Besides, Singh and Singh (2015) stated that growth habit is responsible for canopy geometry, and traits such as leaf number, leaf size, internode number, and internode length have significant impact on pod yield and quality.

junto con resultados comparables reportados por otros autores, indican la existencia de diferentes patrones de acumulación de nutrientes en relación con diferentes morfotipos de frijol ejotero y diferentes tipos de faseolina.

Las relaciones entre pares de cuatro características cualitativas (tipos de faseolina y tres características morfológicas) y siete características cuantitativas que describen la composición química de vainas frescas (mostradas como vectores) se muestran como un biplot construido por los dos primeros ejes de análisis de correspondencia canónica (CCA) (Figura 2). El primer eje explicó más de 60 % de la variación total que muestra que los mayores niveles de fósforo, potasio y proteínas crudas en las vainas están relacionados con el hábito de crecimiento indeterminado (Hab_I), el amplio morfotipo de las vainas (PW_W)

Determinate cultivars generally exhibit less biomass accumulation due to the compact growth habit and rapid flowering and maturation period, whereas cultivars of indeterminate growth habit exhibit sequential senescence of leaves that occurs simultaneously with flowering. In addition, growing tissues in indeterminate plants are sinks for compounds transported in the phloem, and thus mobile nutrients such as potassium and phosphorus could be remobilized from the senescing leaves to growing tissues (Thomas, 2013). Our results are in line with these statements. Namely, higher contents of mobile nutrients, i.e. nutrients that are remobilized via phloem (P_2O_5 and K_2O) (Hawkesford *et al.*, 2012) were found in pods of plants with indeterminate growth habit, whereas calcium as an immobile nutrient mainly transported by transpiration stream in the xylem (Hawkesford *et al.*, 2012), was found in pods of plants of determinate growth habit.

A feasible explanation for high total sugar and calcium content in morphotypes with thin pods, when compared to morphotypes with wide pods, lies in their tendency to accumulate high fibre content (Figure 2). The lack of significant differences in fibre content between morphotypes with thin and wide pods (Table 3) may be the result of early harvest that prevented the accumulation of fibres in pods, as well as the fact that green bean is characterised by low fibre content (Singh and Singh, 2015). Fibres are long cells with secondary cell walls which serve as supporting elements in plant parts that are no longer elongating (Evert and Esau, 2006); therefore, the quantity of the secondary cell wall increases with ageing of pods. The main difference in composition of primary and secondary cell walls is that cellulose is more abundant in secondary walls, whereas pectic substances are primary binding site for calcium ions (Willats *et al.*, 2001) and they lack secondary walls (Evert and Esau, 2006). Thus, during the early period of growth, pods contain a higher content of calcium and sugars and less fibre; whereas as, later on, the content of sugars and calcium decrease and those of fibres increase.

Green beans, also known as French beans, string beans or snap beans, are significant component of a well-balanced diet. Moreover, among European countries, higher legume consumption is observed around the Mediterranean (Bouchenak and Lamri-Senhadj, 2013). The Mediterranean Diet is

y la faseolina tipo II (Ph_II). Igualmente, las muestras que tienen faseolina tipo III (Ph_III), hábito de crecimiento determinado (Hab_D) y vainas delgadas (PW_T) tienden a mostrar valores más altos de azúcares totales y calcio.

Sin embargo, es más probable que el tipo de hábito de crecimiento y el ancho de la vaina, más que el tipo de faseolina, tengan un mayor efecto en las características nutricionales de las vainas frescas debido al número limitado de morfotipos diferentes dentro de cada tipo de faseolina. A saber, la mayoría de las muestras dentro del tipo III de faseolina tenía un tipo de hábito determinado (cuatro de cinco muestras), mientras que las muestras de los tipos I y II tenían un tipo de hábito indeterminado (ocho de nueve muestras) (Cuadro 1). Además, Singh *et al.* (1991) informaron que el hábito de crecimiento determinado en el frijol común está controlado por el locus de aleta y que la mayoría de las variedades de la raza Nueva Granada del grupo genético andino (faseolina tipo III) poseen este locus. Por lo tanto, parece que las plantas con un hábito de crecimiento diferente tienden a tener diferentes patrones bioquímicos y metabólicos de removilización y acumulación de nutrientes en las vainas.

Estos resultados concuerdan con los reportados por Koinange *et al.* (1996) y Rosales-Serna *et al.* (2004), quienes detectaron diferencias en las plantas de frijol común con diferentes hábitos de crecimiento. Además, Singh y Singh (2015) afirmaron que el hábito de crecimiento es responsable de la geometría de dosel, y características como el número de hojas, el tamaño de la hoja, el número de entrenudos y la longitud del entrenudo tienen un impacto significativo en el rendimiento y calidad de la vaina.

Los cultivares determinados exhiben menos acumulación de biomasa debido al hábito de crecimiento compacto y al rápido período de floración y maduración, mientras que los cultivares de hábito de crecimiento indeterminado exhiben senescencia secuencial de hojas, que ocurre simultáneamente con la floración. Además, los tejidos en crecimiento en plantas indeterminadas son sumideros de compuestos transportados en el floema, y así los nutrientes móviles como el potasio y el fósforo podrían volver de las hojas en senescencia a los tejidos en crecimiento (Thomas, 2013). Nuestros resultados están en línea con estas afirmaciones. A saber, se encontraron mayores contenidos de nutrientes móviles, es decir,

considered as a healthy dietary pattern that protects against some chronic diseases and green beans consumption has received a rising interest from researchers. Green beans also play an important role in meeting the requirements of daily protein, fibre and minerals. According to Shanmugacelue (1989), 100 g of edible portion of pods contain on an average 1.7 g protein, 4.5 g carbohydrate, 1.8 g fibre, 50 mg Ca, 29 mg Mg, 28 mg P, and 1.7 mg Fe. Nonetheless, the appearance of vegetables, taste, and nutritional value have a growing influence on consumer food choice. According to Očić *et al.* (2015), consumers in Croatia prefer thin/yellow and thin/green pods; besides, the quality traits of green bean pods are more important than the yield itself (Singh and Singh, 2015)).

CONCLUSIONS

There are different patterns of nutrient accumulation in green bean due to morphotype and gene pool of accessions. Analysed accessions could be used as valuable sources of bioactive nutrients in future breeding programs. Additionally, outstanding accessions S538 and S541 had significantly higher crude proteins, phosphorus and potassium content, while accessions S506 and S545 had the highest calcium content.

LITERATURE CITED

- AOAC (Association of Official Analytical Chemistry International). 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International (16th ed.) Volume 1. Association of Analytical Communities, Arlington, USA.
- Bouchenak, M., and M. Lamri-Senhadj. 2013. Nutritional quality of legumes, and their role in cardio metabolic risk prevention: a review. *J. Med. Food.* 16: 185-198.
- Čupić, T., R. Gantner, S. Popović, M. Tucak, R. Sudar, and M. Stjepanović. 2012. "Rasprostranjenost jednogodišnjih mahunarki u Hrvatskoj". *In: Proceedings & abstracts of the 5th international scientific/professional conference Agriculture in nature and environment protection*, Stipešević, B., and R. Sorić (eds). Glas Slavonije d.d., Osijek (Pub.). pp: 220-225.
- Duke, J. A. 1981. Handbook of Legumes of World Economic Importance. Plenum Press, New York. 345 p.
- Engels, C., E. Kirkby, and P. White. 2012. Mineral nutrition, yield and source-sink relationships. *In: Marschner, P. (ed). Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition)* Academic Press; London, UK. pp: 85-133.
- Evert, R. F. and K. Esau. 2006. Esau's Plant Anatomy: Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body - Their Structure,

nutrientes que se movilizaron mediante floema (P_2O_5 and K_2O) (Hawkesford *et al.*, 2012) en las vainas de las plantas con hábito de crecimiento indeterminado, mientras que el calcio como un nutriente inmóvil, transportado principalmente por la corriente de transpiración en el xilema (Hawkesford *et al.*, 2012), se encontró en vainas de plantas de hábito de crecimiento determinado.

Una explicación viable para el alto contenido total de azúcar y calcio en los morfotipos con vainas delgadas, en comparación con los morfotipos con vainas anchas, está en su tendencia a acumular un alto contenido de fibra (Figura 2). La ausencia de diferencias significativas en el contenido de fibra entre morfotipos con vainas delgadas y anchas (Cuadro 3) puede ser el resultado de una cosecha temprana que evitó la acumulación de fibras en las vainas, así como el hecho de que el frijol ejotero se caracteriza por un bajo contenido de fibra (Singh y Singh, 2015). Las fibras son células largas con paredes celulares secundarias que sirven como elementos de soporte en partes de la planta que ya no se alargan (Evert y Esau, 2006); por lo tanto, la cantidad de la pared celular secundaria aumenta con el envejecimiento de las vainas. La principal diferencia en la composición de las paredes celulares primarias y secundarias es que la celulosa es más abundante en las secundarias, mientras que las sustancias pécticas son el principal sitio de unión de los iones de calcio (Willats *et al.*, 2001) y carecen de paredes secundarias (Evert y Esau, 2006). Por lo tanto, durante el período inicial de crecimiento, las vainas contienen un mayor contenido de calcio y azúcares y menos fibra; mientras que, posteriormente, el contenido de azúcares y calcio disminuye y el de las fibras aumenta.

Los frijoles ejoteros, también conocidos como judías verdes, son un componente importante de una dieta bien balanceada. Además, en los países europeos, se observa un mayor consumo de leguminosas en todo el Mediterráneo (Bouchenak y Lamri-Senhadj, 2013). La dieta mediterránea se considera un patrón dietético saludable que protege contra algunas enfermedades crónicas y el consumo de frijoles ejoteros ha sido objeto de un creciente interés por parte de los investigadores. Los frijoles ejoteros también juegan un papel importante en la dieta, pues implica cumplir con el requisito de consumir un producto que contiene proteína, fibra y minerales. Según Shanmugacelue (1989), 100 g de porción comestible de

- Function and Development., John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey. 601 p.
- FAO (Food and Agriculture Organisation). 2008. Country Report on the State of Plant Genetic Resources for Food and Agriculture, Croatia. <http://www.fao.org/docrep/013/i1500e/Croatia.pdf>
- Ferreira M. E., de Varennes A., de Melo-Abreu J. P., and Vieira M. I. 2006. Predicting pod quality of green beans for processing. *Sci. Hortic.* 109: 207-211.
- Gepts, P. 1988. Phaseolin as an evolutionary marker. *In: Gepts, P. (ed). Genetic Resources of Phaseolus Beans: Their Maintenance, Domestication, Evolution and Utilization.* Springer Netherlands, Dordrecht. pp: 215-241.
- Hammer Ø., D. A. T. Harper, and P. D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontol. Electron.* 4: 1-9.
- Hawkesford M., W. Horst, T. Kichey, H. Lambers, J. Schjoerring, I. Skrumsager Møller, and P. White. 2012. Functions of macronutrients. *In: Marschner, P. (ed). Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition).* Academic Press; London, UK. pp: 135-189.
- HRN EN ISO 6865:2001. Animal feeding stuffs - Determination of crude fibre content - Method with intermediate filtration (ISO 6865:2000; EN ISO 6865:2000).
- Islam F. M. A., K. E. Basford, C. Jara, R. L. Redden, and S. Beebe. 2002. Seed compositional and disease resistance differences among gene pools in cultivated common bean. *Genetic Resour. Crop Evol.* 49: 285-293.
- Jakopic J., A. Slatnar, M. Mikulic-Petkovsek, R. Veberic, F. Stampar, F. Bavec, and M. Bavec. 2013. Effect of different production systems on chemical profiles of dwarf French bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Top Crop) pods. *J. Agr. Food. Chem.* 61: 2392-2399.
- Jimenez-Monreal, A. M., L. Garcia-Diz, M. Martinez-Tome, M. Mariscal, and M. A. Murcia. 2009. Influence of cooking methods on antioxidant activity of vegetables. *J. Food. Sci.* 74: 97-103.
- Kami, J., V. B. Velasquez, D. G. Debouck, and P. Gepts. 1995. Identification of presumed ancestral DNA sequences of phaseolin in *Phaseolus vulgaris*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 92: 1101-1104.
- Kaplan, L., and T. F. Lynch. 1999. Phaseolus (Fabaceae) in archaeology: AMS radiocarbon dates and their significance for pre-Colombian agriculture. *Econ. Bot.* 53: 261-272.
- Kazydub, N., A. Pinkal, T. Marakayeva, S. Kuzmina, M. Korobeinikova, and Kotsybinskaya. 2017. Chemical composition of seeds and green beans of common bean varieties, breded in Omsk State Agrarian University under conditions of southern forest-steppe zone of Western Siberia. *Agron. Res.* 15: 1918-1927.
- Khatun, M. M., N. Sultana, M. H. Rahman, M. A. A Mamun, and M. M. Hossain. 2007. Effect of freezing on nutritional quality of Bush Bean at different pod age stages. *Int. J. Sustain. Crop Prod.* 2: 10-15
- Kelly, J. F., and M. K. Scott. 1992. The nutritional value of Snap Beans versus other Vegetables. *In: Henry G., and W. G. Janseen (ed). Snap Beans in the Developing World: Proceedings of an international conference.* Cali, Colombia. pp: 23-46.

las vainas contienen en promedio 1.7 g de proteína, 4.5 g de carbohidratos, 1.8 g de fibra, 50 mg de Ca, 29 mg de Mg, 28 mg de P, y 1.7 mg de Fe. Sin embargo, la apariencia de las verduras, el sabor y el valor nutricional tienen una influencia cada vez mayor en la elección de los alimentos que hace el consumidor. De acuerdo con Očić et al. (2015), los consumidores en Croacia prefieren las vainas delgadas/amarillas y delgadas/verdes; además, las características relacionadas con la calidad de las vainas de frijoles ejoteros son más importantes que el rendimiento en sí (Singh y Singh, 2015)).

CONCLUSIONES

Existen diferentes patrones de acumulación de nutrientes en el frijol ejotero debido al morfotipo y el conjunto de genes de las muestras. Las muestras analizadas podrían usarse como valiosas fuentes de nutrientes bioactivos en futuros programas de mejoramiento. Además, las muestras sobresalientes S538 y S541 tuvieron contenidos de proteínas crudas, fósforo y potasio significativamente mayores, mientras que las muestras S506 y S545 registraron un mayor contenido de calcio

—Fin de la versión en Español—



- Koinange, E. M. K., S. P. Singh, and P. Gepts. 1996. Genetic control of the domestication syndrome in common bean. *Crop Sci.* 36: 1037-1045.
- Lim, T. K. 2012. *Phaseolus vulgaris*. *In: Lim, T. K. (ed). Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 2, Fruits.* Springer Netherlands, Dordrecht. pp: 815-848.
- Maness, N. 2010. Extraction and analysis of soluble carbohydrates. *In: Sunkar, R. (ed). Plant Stress Tolerance: Methods and Protocols.* Humana Press, Totowa, NJ. pp: 341-370.
- Merrill, A. L., and B. K. Watt. 1973. Energy Value of Foods: Basis and Derivation. *Agriculture Handbook.* US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington DC.
- Očić, V., B. Šakić Bobić, Z. Grgić, K. Carović-Stanko, M. Grdiša, and Z. Šatović. 2015. Izbor tipa mahuna prema stavovima proizvođača o zahtjevima tržišta. *In: Pospíšil, M. (ed). Zbornik radova 50. Hrvatskog i 10. Međunarodnog Simpozija Agronoma.* Zagreb, Cro. pp: 159-163.
- Radosavljević, I., Z. Satovic, J. Jakse, B. Javornik, D. Greguraš, M. Jug-Dujaković, and Z. Liber. 2012. Development of new microsatellite markers for *Salvia officinalis* L. and its potential

- use in conservation-genetic studies of narrow endemic *Salvia brachyodon* Vandas. *Int. J. Mol. Sci.* 13: 12082-12093.
- Rosales-Serna, R., J. Kohashi-Shibata, J. A. Acosta-Gallegos, C. Trejo-López, J. Ortiz-Cereceres, and J. D. Kelly. 2004. Biomass distribution, maturity acceleration and yield in drought-stressed common bean cultivars. *Field Crop. Res.* 85: 203-211.
- Salinas, R. N., E. J. A. Escalante, G. M. T. Rodríguez, y M. E. Sosa. 2012. Rendimiento y calidad nutrimental de frijol ejotero en dos ambientes. *Rev. Fitotec. Mex.* 35: 317-323.
- Sánchez-Mata, M. C., M. Cámara-Hurtado, and C. Díez-Marqués. 2002. Identification and quantification of soluble sugars in green beans by HPLC. *Eur. Food. Res. Technol.* 214: 254-258.
- SAS Institute Inc. 2011. Base SAS[®] 9.3 Procedures Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Schuelke M. 2000. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nat. Biotechnol.* 18: 233-234.
- Selan, M., D. Kastelec, J. Jakopič, R. Veberič, M. Mikulič-Petkovšek, and N. Kacjan-Maršič. 2014. Hail net cover, cultivar and pod size influence the chemical composition of dwarf French bean. *Sci. Hortic-Amsterdam.* 175: 95-104.
- Shanmugacelue, K. G. 1989. *Production Technology of Vegetable Crops.* Oxford & IBH Publishing Co, New Delhi. pp: 446-461.
- Singh, S. P., P. Gepts, and D. G. Debouck. 1991. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Econ. Bot.* 45: 379-396.
- Singh, B. K., and B. Singh. 2015. Breeding perspectives of Snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Vegetable Sci.* 42: 1-17.
- Somogyi, M. 1945. A new reagent for the determination of sugars. *J. Biol. Chem.* 160: 61-68.
- Taiz, L., and E. Zeiger. 2002. *Plant Physiology* (3th ed). Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts. 623 p.
- Thomas, H. 2013. Senescence, ageing and death of the whole plant. *New Phytol.* 197: 696-711.
- Willats, W. G., C. Orfila, G. Limberg, H. C. Buchholt, G. J. van Alebeek, A. G. Voragen, S. E. Marcus, T. M. Christensen, J. D. Mikkelsen, B. S. Murray, and J. P. Knox. 2001. Modulation of the degree and pattern of methyl-esterification of pectic homogalacturonan in plant cell walls. Implications for pectin methyl esterase action, matrix properties, and cell adhesion. *J. Biol. Chem.* 276: 19404-19413.
- Wyn Jones, R. G., and A. Pollard. 1983. Proteins, enzymes and inorganic ions. *In: Läubli, A., and R. L. Bielecki (eds). Inorganic Plant Nutrition* Springer, New York. pp: 528- 562.