

**PROGRAMA COOPERATIVO REGIONAL DE FRIJOL PARA  
CENTROAMERICA, MEXICO V EL CARIBE**



**INFORME TÉCNICO ANUAL**

**POA 2002-2003**



**STEPHEN E. BEEBE**

**MATTHEW BLAIR**

**CESAR CARDONA**

**GEORGE MAHUKU**

**FRANCISCO MORALES**

**IDUPULAPATIRAO**

**CALI, VALLE, COLOMBIA, ABRIL 2003**

**PROGRAMA COOPERATIVO REGIONAL DE FRIJOL PARA  
CENTROAMERICA, MEXICO V EL CARIBE**



**INFORME TÉCNICO ANUAL**

**POA 2002-2008**



**STEPHEN E. BEEBE**

**MATTHEW BLAIR**

**CESAR CARDONA**

**GEORGE MAHUKU**

**FRANCISCO MORALES**

**IDUPULAPATI RAO**

**CALI, VALLE, COLOMBIA, ABRIL 2005**

## CONTENIDO

		Página
<b>PROYECTO 1. MEJORAMIENTO DE FRIJOL MESO AMERICANO</b>		
<b>SUBPROYECTO</b>	<b>1.1 MEJORAMIENTO DE FRIJOL GRANO NEGRO</b>	<b>1</b>
<b>RESPONSABLE:</b>	Stephen Beebe	
Actividad 1.1.1	Evaluación de padres donantes de genes necesarios (VIPADOGEN)	2
Actividad 1.1.2	Desarrollo de padres superiores en bajo P o sequía con 2 o más resistencias para BC, MA, ANT, VMD y/o Picudo	2
1.1.2.1	Obtención de cruzas con padres múltiples para caracteres específicos	2
1.1.2.2	Evaluar poblaciones, familias y/o líneas para factores específicos	2
	Identificación de padres con tolerancia a sequía y resistencia a enfermedades	2
	Evaluación de progenies interespecíficas para tolerancia a sequía	2
Actividad 1.1.3	Desarrollo de líneas de valor comercial con caracteres múltiples	4
1.1.3.1	Obtención de cruzas con padres múltiples y caracteres múltiples	4
	Cruzamientos F <sub>i</sub> con resistencias múltiples	4
1.1.3.2	Evaluación de poblaciones, familias y líneas para factores múltiples	5
	Evaluación de familias F <sub>2</sub>	5
	Evaluación de familias F <sub>4</sub>	5
	Evaluación de rendimiento de familias F <sub>3,5</sub> bajo estrés hídrico	7
<b>SUBPROYECTO</b>	<b>1.2 MEJORAMIENTO DE FRIJOL GRANO ROJO</b>	<b>9</b>
<b>RESPONSABLE:</b>	Stephen Beebe	
Actividad 1.2.1	Evaluación de padres	10
Actividad 1.2.2	Desarrollo de padres superiores para bajo P o sequía o con resistencias múltiples	10
1.2.2.1	Obtención de cruzas con padres múltiples para caracteres específicos	10
1.2.2.2	Evaluar poblaciones, familias y/o líneas para factores específicos	10
Actividad 1.2.3	Desarrollo de líneas de valor comercial con caracteres múltiples	10
1.2.3.1	Obtención de cruzas con padres múltiples y caracteres múltiples	10
1.2.3.2	Evaluación de poblaciones, familias y/o líneas para factores múltiples	12
	Evaluación de familias F <sub>2</sub>	12
	Evaluación de familias F <sub>4</sub>	12
	Evaluación de rendimiento de familias F <sub>3,5</sub> bajo estrés hídrico	15
<b>SUBPROYECTOS 1.1 y 1.2</b>	<b>MEJORAMIENTO DE FRIJOL GRANO NEGRO Y ROJO</b>	<b>17</b>
<b>RESPONSABLE:</b>	César Cardona	
Actividad 1.1.1	Evaluación de padres donantes de genes necesarios (VIPADOGEN)	18
1.1.1.1	Desarrollo de metodologías para evaluación de genotipos por resistencia a <i>Thrips palmi</i>	18
	Selección de fuentes de resistencia a los principales insectos plaga	18
1.1.1.2	Determinación de mecanismos de resistencia	18
	<i>Thrips palmi</i>	18
	Brúchidos	21
Actividad 1.1.2	Desarrollo de padres por piramidación de genes para BC, MA, ANT, VMD y Picudo separadamente	22
1.1.2.1	Evaluar poblaciones, familias y/o líneas para factores específicos	22
	Selección de híbridos interespecíficos	22
	Resistencia al saltahojas	25
	Resistencia a <i>Zabrotes</i>	25

Actividad 1.1.3 Desarrollo de líneas de valor comercial con caracteres múltiples	27
1.1.3.1 Evaluación de poblaciones, familias y líneas para factores múltiples	27
1.1.3.2 Evaluación de líneas para <i>Empoasca</i>	27
1.1.3.3 Desarrollo de un marcador molecular para arcelina	29
Actividades adicionales no financiadas por PROFRIJOL	30
Actividad 1.1.4 Desarrollo de componentes de Manejo Integrado de Plagas (MIP)	30
1.1.4.1 Validación de un umbral de acción para <i>Trialeurodes vaporariorum</i>	30
<b>SUBPROYECTO 1.3</b>	<b>TOLERANCIA A ESTRES ABIOTICO, NEGROS Y ROJOS</b>
<b>RESPONSABLE:</b>	Idupulapati Rao
Actividad 1.3.1 Estudio fisiológico de tolerancia a baja fertilidad	33
1.3.1.1 Identificación de caracteres asociados con la tolerancia de suelos ácidos	33
1.3.1.2 Selección de genotipos de frijol respecto a la resistencia a aluminio	42
1.3.1.3 Identificación de los caracteres asociados con la eficiencia de fósforo	51
Actividad 1.3.2 Estudio fisiológico de tolerancia a sequía	59
<b>RESULTADO R.1</b> Se han desarrollado variedades, líneas y poblaciones de frijol mesoamericano de valor comercial, con resistencia a mosaico común, mosaico dorado, bacteriosis común, más un factor adicional ( <i>Apion</i> , <i>Empoasca</i> , <i>Thrips palmi</i> , mancha angular, antracnosis, FBN, baja fertilidad, sequía o altas temperaturas)	
<b>PROYECTO 2. MEJORAMIENTO GENETICO DE FRIJOL ANDINO CARIBEÑO</b>	<b>69</b>
<b>SUBPROYECTO 2.1</b>	<b>DESARROLLO DE LINEAS Y VARIEDADES CON RESISTENCIA A LIMITANTES BIOTICAS</b>
<b>RESPONSABLE:</b>	Matthew Blair
Actividad 2.1.1 Desarrollo de líneas de valor comercial con resistencias múltiples	70
2.1.1.1 Selección de líneas con grano rojo moteado para factores múltiples, como <i>Empoasca</i> , Bacteriosis Común y Mancha Angular	70
Nuevas cruzas para incorporar la resistencia a <i>Empoasca</i> en líneas rojas moteadas	70
Evaluación de líneas nativas del Caribe respecto al potencial de rendimiento y la resistencia a BC	72
2.1.1.2 Selección asistida por marcadores para desarrollo de líneas élitos (bgm-lyCBB)	75
Desarrollo de frijol arbustivo rojo moteado con resistencia al VMDAF y a BC mediante la selección con ayuda de marcadores y la prueba de progenies	75
2.1.1.3 Uso de cruzas amplias para mejorar variedades andinas Caribeñas	80
Cruzas triples entre los genotipos andino y Durango para desarrollar tolerancia de la sequía para el Caribe	80
2.1.1.4 Selección de volubles con tolerancia al calor	81
2.1.1.5 Preparación de entradas para vivero del VICARIBE	81
<b>RESULTADO R.2</b> Se han desarrollado poblaciones segregantes, líneas y cultivares con genes de resistencias a enfermedades y plagas	

<b>PROYECTO 3. AMPLIACION DE LA BASE GENETICA Y ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD PATOGENICA</b>	<b>82</b>
<b>SUBPROYECTO 3.2</b> <b>CARACTERIZACION DE LA DIVERSIDAD PATOGENICA</b>	<b>82</b>
<b>RESPONSABLE:</b> Francisco J. Morales	
Actividad 3.2.1 Evaluación de padres potenciales y materiales avanzados por su resistencia a virus	83
Actividad 3.2.2 Selección por resistencia a enfermedades virales (VMCF, MSFyVMDF)	83
3.2.2.1 Virus del mosaico dorado amarillo del frijol	83
3.2.2.2 Vims del mosaico común del frijol	84
Actividad 3.2.3 Apoyo a NARs en diagnóstico de viras	86
3.2.3.1 Identificación y manejo de viras emergentes que afectan al frijol	86
El Salvador	86
Región del Caribe	88
<b>SUBPROYECTO 3.3</b> <b>APOYO A LOS PROGRAMAS DE MEJORAMIENTO</b>	<b>89</b>
<b>RESPONSABLE:</b> George Mahuku	
Actividad 3.3.1 Análisis de diversidad de cepas mesoamericanas de mancha angular con diferenciadores	90
Actividad 3.3.2 Desarrollo y estandarización de marcadores moleculares específicos a <i>P. griseola</i>	90
3.3.2.1 Cebadores microsátélites específicos (Locus -specific microsatellite markers) para <i>Phaeoisariopsis griseola</i>	90
Actividad 3.3.3 Análisis de diversidad de cepas mesoamericanas de mancha angular usando loci específico marcadores moleculares tipo microsátélites	94
Actividad 3.3.4 Evaluar fuentes identificadas con resistencia a mancha angular y bacteriosis con otras cepas de Centroamérica	96
Actividad 3.3.5 Análisis de genes de resistencia a mancha angular en fuentes de resistencia	100
3.3.5.1 Naturaleza y herencia de la resistencia a la mancha angular en genotipos diferenciales respecto a la enfermedad y fuentes de resistencia identificadas	100
Actividad 3.3.6 Verificar fuentes de resistencia a las cepas mesoamericanas más virulentas de mancha angular y antracnosis	104
3.3.6.1 Identificación de genotipos de frijol con resistencia a la mancha angular	104
3.3.6.2 Fuentes de resistencia a las cepas mesoamericanas más virulentas de mancha angular y antracnosis en líneas interespecíficas	108
3.3.6.3 Identificación de genotipos de frijol con resistencia a <i>Macrophomina</i>	112
Actividades adicionales no financiadas por PROFRIJOL	116
Actividad 3.3.7 Caracterización y seguimiento de la diversidad de los agentes patógenos y los insectos	116
3.3.7.1 Caracterización molecular del agente patógeno de la bacteriosis común, <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> , de diferentes regiones productoras de frijol	116
<b>RESULTADO R.3</b> Se identificaron nuevas fuentes de resistencia a los principales factores bióticos y se caracterizó la diversidad de los patógenos del frijol	

<b>APOYO A PROFRIJOL POR PARTE DEL CI AT</b>	<b>134</b>
<b>Apoyo brindado a los programas de mejoramiento de los SNIA, las redes regionales y las asociaciones de agricultores, mediante el suministro de germoplasma y de conocimientos técnicos</b>	<b>134</b>
> Poblaciones desarrolladas, distribuidas y seleccionadas	134
> Ayuda a los programas nacionales en la selección y promoción de la liberación de nuevos cultivares de frijol con resistencia a enfermedades virales	138
> Distribución de semilla a los socios colaboradores	141
> Liberación de variedades	142
<b>Proyectos colaborativos desarrollados y ejecutados con los SNIA y las redes regionales. Fortalecimiento de capacidades en los SNIA y en las redes regionales</b>	<b>143</b>
Proyecto Regional de Frijol para América Central y el Caribe (PROFRIJOL)	143
> Colaboración conjunta y notas conceptuales	144
Propuestas aprobadas	144
Propuestas presentadas	144
Propuestas en preparación	145
Notas conceptuales preparadas	145
<b>Apoyo al desarrollo del recurso humano en los sistemas nacionales de investigación agrícola y en las redes regionales</b>	<b>146</b>
> Viajes y asistencia a reuniones	146
> Capacitación, estudiantes, cursos	147

CIAT

**PLAN OPERATIVO ANUAL 2002-2003**

**PROYECTO 1.** MEJORAMIENTO DE FRIJOL MES O AMERICANO  
**SUBPROYECTO 1.1.** Mejoramiento de Frijol Grano Negro  
**RESPONSABLE:** Stephen Beebe  
**RESULTADO R.L** Se han desarrollado variedades, líneas y poblaciones de frijol mesoamericano de valor comercial, con resistencia a mosaico común, mosaico dorado, bacteriosis común, mas un factor adicional (Apion, *Empoasca*, mancha angular, antracnosis, FBN, baja fertilidad, sequía o altas temperaturas)

ACTIVIDADES S.I.I	METAS	PRESUPUESTO
<b>1.1.1 Evaluación de padres donantes de genes necesarios (VIPADOGEN)</b>		
<b>1.1.2 Desarrollo de padres superiores en bajo P o sequía con 2 o más resistencias para BC, MA, ANT, VMD y/o Picudo</b>		
1.1.2.1 Obtención de cruzas con padres múltiples para caracteres específicos		
1.1.2.2 Evaluar poblaciones, familias y/o líneas para factores específicos	Unas 100 familias evaluadas y seleccionadas para factores abióticos	2.500
<b>1.1.3 Desarrollo de líneas de valor comercial con caracteres múltiples</b>		
1.1.3.1 Obtención de cruzas con padres múltiples y caracteres múltiples	Unas 15 poblaciones F <sub>2</sub> desarrolladas para factores múltiples	750
1.1.3.2 Evaluación de poblaciones, familias y líneas para factores múltiples	Mas de 30 poblaciones F <sub>2</sub> y 1500 familias F <sub>4</sub> . F <sub>5</sub> evaluadas y seleccionadas para factores múltiples	8.500
<b>PRESUPUESTO TOTAL S.I.I</b>		<b>11,750</b>

## **Actividad 1.1.1 Evaluación de padres donantes de genes necesarios (VIPADOGEN)**

### **Actividad 1.1.2 Desarrollo de padres superiores en bajo P o sequía con 2 o más resistencias para BC, MA, ANT, VMD y/o Picudo**

1.1.2.1 Obtención de cruzas con padres múltiples para caracteres específicos

1.1.2.2 Evaluar poblaciones, familias y/o líneas para factores específicos

#### **Identificación de padres con tolerancia a sequía y resistencia a enfermedades**

Casi 200 familias F3.5 de grano negro fueron evaluadas por su reacción a la sequía en la época de junio-agosto, 2002. Mayores detalles sobre rendimiento de las familias aparecen en la sección 1.1.3.2. Entre las mejores familias, se eligieron siete para ser utilizadas en otro ciclo de cruzamientos (Cuadro 1), teniendo como base su combinación de resistencia a sequía, mancha angular (MA), llenado de grano, y presencia de marcadores moleculares que están ligados a dos genes importantes para resistencia al mosaico dorado (BGYMV).

#### **Evaluación de progenies interespecíficas para tolerancia a sequía**

El frijol tepary (*P. acutifolius*) tiene excelente tolerancia a la sequía. A través de cruzas interespecíficas es posible introgresar caracteres entre *P. acutifolius* y el frijol común. Se evaluaron 64 líneas derivadas de cruzas entre *P. acutifolius* y *P. vulgaris* más testigos. El ensayo fue sembrado en junio, 2002, y no gozó de ninguna lluvia ni riego después de los 37 días de haber sido sembrado. Muchas de las líneas combinaron *P. acutifolius* con ICA Pijao como padre de *P. vulgaris*, y otras tuvieron una gama más amplia de padres de *P. vulgaris*, incluyendo Bayo Madero, un frijol mexicano con tolerancia moderada a la sequía.

El testigo tolerante SEA 5 rindió 738 kg ha<sup>-1</sup>, significativamente más que ICA Pijao (468 kg ha<sup>-1</sup>) (Cuadro 2). Las Progenies de Pijao rindieron hasta 798 kg ha<sup>-1</sup>, o sea, más que Pijao. Esto sugiere que se logró introgresar genes para tolerancia a sequía desde tepary a frijol común. Las mejores progenies combinaron Bayo Madero con *P. acutifolius*. Estas líneas ofrecen nuevas fuentes de tolerancia a sequía para mejorar esta característica en el frijol común.

**Cuadro 1.** Familias F3.5 seleccionadas para caracteres múltiples con potencial uso como padres donantes de genes.

Identificación	Pedigri	MA	bgm 1-W12 <sup>1</sup>
457	(RIB 68 21212) x Ligero	3	-+
467	(RIB 68 x 21212) x Ligero	5	H+
489	(15 x Ostua) x (TC x (FEB192 x 2212))	4	-+
443	(SEA 18 x (FEB192 x 21212)) x EAP 9020-14	4	H-
512	Lore 24 x ((VAX1 x A774) x Ostua)	-	+-
518	Lore 24 x ((VAX 1 x A774) x Ostua)	-	+-
386	(FEB 192 x 21212) x DOR 500	2	H-

<sup>1</sup>Presencia (+), ausencia (-) o estado heterocigoto (H) de marcadores para *bgm-1* o el QTL W-12, respectivamente.

**Cuadro 2.** Rendimiento (kg ha<sup>-1</sup>) de híbridos interespecíficos entre el frijol común y *P. acutifolius*.

Entrada	Código de cruce	Rendimiento kg ha <sup>-1</sup>	Días a madurez (DAM)	Pedigri
27	BKI 11	1065	77	Bayo Madero x [CBC5(CBC3X CBC3)*]
28	BKI 11	1038	74	Bayo Madero x [CBC5(CBC3X CBC3)*]
6	4V3A1-002	798	69	(((Pv x Pa) x Pv) x Pa) x Pv x Pa) x Pv
54	MMNNI 14	751	73	{(CBC5 x CBC5)x (CBC5 x CBC3) } x {(G40065 x NI576) x [(CBC5 x CBC5) x (CBC5 x (CBC3 x CBC3))]**
64	INB39	737	72	(((Pv x Pa) x Pv) x Pa) x Pv x Pa) x Pv
30	BKI 11	731	72	Bayo Madero x [CBC5(CBC3 x CBC3)*]
29	BKI 11	728	77	Bayo Madero x [CBC5(CBC3 x CBC3)*]
60	SEA 5 (T)	715	71	
	ICA Pijao (T)	468	72	
	LSD (0.05)	184	2.3	

\* Cruza entre híbridos del esquema retrocruza congruente involucrando los genotipos G 40020 y G 40001 del frijol tepary, e ICA Pijao, A 775, MAM 38 y A 800 del frijol común.

\*\* Híbridos de retrocruza congruente doble involucrando los genotipos NI 576, G 40065, G 40020 y G 40001 del frijol tepary, e ICA Pijao, A 775, MAR 1, MAM 38 y A 800 del frijol común.

## Actividad 1.1.3 Desarrollo de líneas de valor comercial con caracteres múltiples

### 1.1.3.1 Obtención de cruzas con padres múltiples y caracteres múltiples

#### Cruzamientos con resistencias múltiples

Se están realizando cruzas para combinar resistencia a BGYMV, mancha angular (MA), sequía y alto contenido de hierro, a través de cruzas dobles. Las cruzas simples de la combinación de BGYMV con MA en sí pueden tener potencial para responder a una necesidad en el corto plazo. Estas líneas resistentes a la raza 63-63 de MA que se está utilizando (Cuadro 3) incluyen fuentes que no se han incorporado en cruzas con potencial de segregar un fenotipo comercial, tales como G 10474 y G 10613. Además, las líneas ya portan el gene *bgm-1*. Por tanto, las cruzas ofrecen buenas posibilidades de combinar genes de resistencia para estas dos enfermedades.

**Cuadro 3.** Cruzas para combinar resistencia a BGYMV con resistencia a mancha angular

Pedigrí	bgml	63-63	Tipo de grano	9653-16b	9020-14	TCx TCx 14519	Seda-bc3	Dor 677	Dor 605	
MDx ((4691x10474) x (RS x 9824-56))	WLB Mab 87	+	R	Rj Nací	X	X		X	X	
MDx ((4691x10474) x (RS x 9824-56))	90	+	R	Rj op (vol)				X		
(FEB 212 x (4691x10613)) x 390	93	+	R	Ne-(p)					X	
(FEB 212 x (4691x10613)) x 390	94	+	R	Ne-(p)			X			
(FEB 212 x (4691x10613)) x 390	95	+	R	P	X					
(FEB 212 x (4691x10613)) x 390	96	+	R	P		X				
(FEB 212 x (4691x10613)) x 390	97	+	R	P			X			
(FEB 212 x (4691x10613)) x 390	98	+	R	P	X					
(FEB 212 x (4691x10613)) x 390	99	+	R	P		X				
(FEB 212 x (4691x10613)) x 390	100	+	R	P			X			
(FEB 212 x (4691x10613)) x 390	105		R	Ne-Exc grano	X	X	X	X		
<b>TOTAL</b>					4	4	3	2	3	2 18

### 1.1.3.2. Evaluación de poblaciones, familias y líneas para factores múltiples

#### Evaluación de familias F<sub>2</sub>

En el ciclo de 2001, se pudo identificar en el vivero de sequía, los padres que estaban combinando mejor para una tolerancia superior a condiciones de estrés hídrico. Inmediatamente se volvió a crear más cruzas utilizando estos padres, para aprovechar sus genes en un mayor número de combinaciones híbridas. Así, en el vivero de sequía en 2002, un gran número de poblaciones F<sub>2</sub> fueron evaluadas nuevamente, manejadas según el esquema de selección gamética (poblaciones F<sub>2</sub> derivadas de plantas individuales Fj). Estas fueron seleccionados visualmente por carga (Cuadro 4), dando como resultado una proporción mayor de familias seleccionadas que en el año anterior. La selección de estas familias está avanzando, y actualmente se encuentran en la generación F4.

**Cuadro 4.** Poblaciones para combinar tolerancia a sequía con resistencia a BGYMV con buen potencial para segregar grano negro.

Identificación	Pedigrí	# familias	# seleccionadas
SX 14439	(SEA 21 x RAB 609) x (SEA 15 xG 18479RC)	70	39
SX 14440	(SEA 21 x RAB 609) x (G 21212 x DOR 390RC)	55	18
SX 14441	(SEA 15 x MD 23-24) x ( G 21212 x DOR 500RC)	47	31
SX 14442	(SEA 15 x (RAB 655 x G 21212)) x (9824-56-2 x G 21212)	43	23
SX 14444	(SEA 15 x (RAB 655 x G 21212)) x (RAB 623 x MD 23-24)	23	13
SX 14445	(SEA 15 x G 18479RC) x ( G 21212 x DOR 500RC)	31	17
SX 14446	(SEA 15 x G 18479RC) x (RIB 68 x G 21212)	25	10
SX 14453	SEA 23 x (SEA 15 x DOR 364 RC)	10	6
SX 14454	SEA 23 x (RAB 623 x MD 23-24)	12	8
SX 13981	(RAB 655 x G 21212) x SEA 21	16	8
SX 14404	(RIB 66 x G 21212) x (SEA 15 x MD 23-24)	110	57
SX 14421	EAP 9510-77 x (RIB 66 x G 21212)	70	22
SX 14443	(SEA 15 x (RAB 655 x G 21212))x (RIB 66 x G 21212)	30	7
SX 14447	(A686xG 21212) x (SEA 18x(FEB 192 xG 21212)	51	11
SX 14451	SAM 7 x (SEA 15 x G 18479RC)	62	27
SX 14452	SAM 7 x (Tío Canela x G 21212)	55	26

#### Evaluación de familias F<sub>4</sub>

Del ciclo anterior de cruzas orientadas a combinar tolerancia a sequía con resistencia a BGYMV, se evaluaron casi 2,700 familias F<sub>4</sub> en Santander de Quilichao en la siembra de marzo de 2002, la mayoría de éstas con grano negro o rojo. En el Cuadro 5 aparecen las poblaciones creadas para grano negro que fueron seleccionadas, aunque algunas poblaciones creadas para grano rojo también segregaron negros. Las familias seleccionadas fueron cosechadas y la calidad de grano fue revisada para formar varios ensayos de rendimiento (Ver Cuadros 6 y 7).

**Cuadro 5.** Familias F3.4 (total y seleccionadas) de las cruzas superiores para grano negro sembradas en Santander de Quilichao, bajo inoculación con mancha angular y con fertilidad media.

<b>Código</b>	<b>Identificación</b>	<b># familias</b>	<b># seleccionadas</b>
MN 14059	(FEB 192 x G 21212)F, x ICTA LIGERO	35	15
MN 13934	(FEB 192 x G 21212)F, x (DOR 500 x (DOR 390 x (DOR 390 x SAM 1)F,)F <sub>2</sub> )F <sub>3</sub>	49	14
MN 13935	(FEB 192 x G 21212)F] x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x SAM 1)F,)F <sub>2</sub> )F <sub>3</sub>	25	5
MN 13942	(TLP 35 x G 21212)F, x ICTA LIGERO	98	17
MN 13946	(ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x SAM 1)F,)F <sub>2</sub> )F <sub>3</sub> x(VAX2xG21212)F,	132	15
MN 13948	(A 774 x G 21212)F, x (DOR 390 x (DOR 390 x (DOR 390 x SAM 1)F,)F <sub>2</sub> )F <sub>3</sub>	14	2
MN 13949	(A 774 x G 21212)F, x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x SAM 1)F,)F <sub>2</sub> )F <sub>3</sub>	24	3
MN 13993	MUS 131 x (G 21212 x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x SAM ^FOF^FOF,	7	1
MN 13994	NEB 31 x (G 21212 x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x SAM liFOF^FÓF,	16	3
MN 13997	TLP 39 x (G 21212 x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x SAM l^OF^FOF,	16	3
MN 14001	MUS 131 x (G 21212 x (DOR 390 x (DOR 390 x (DOR 390 x SAM 1)F,)F <sub>2</sub> )F <sub>3</sub> )F,	5	1
MN 13740	G 21212 x (DOR 390 x (DOR 390 x (DOR 390 x SAM 1) F,)F <sub>2</sub> )F <sub>3</sub>	16	2
MN 14154	(RIB 68 x G 21212)F! x ICTA LIGERO	134	18
MN 14214	(SEA 15 x (A 774xG21212)F,)F,x(NEB31 x (G 21212 x (OSTUA x (OSTUA x (OSTUA x SAM 1)F,) F <sub>2</sub> ) F,) F <sub>3</sub> ) F,	17	1
MN 14236	(TLP 39 x (DOR 500 x (DOR 390 x (DOR 390 x SAM 1) F,)F <sub>2</sub> )F <sub>3</sub> )F, x (NEB 31 x (G21212 x (OSTUA x (OSTUA x (OSTUA x SAM ÍJFOF^FÓFOF,	12	1
MN 14237	(NEB 31 x (G 21212 x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x SAM 1)F,)F <sub>2</sub> )F <sub>3</sub> )F, x (TLP 36 x BAT 477)F,	6	2
MR 14279	(RJB 11 x RAB 655)F, x (TIO CANELA 75 x (FEB 192 x G21212)F,)F <sub>1</sub>	5	1

## Evaluación de rendimiento de familias F3.5 bajo estrés hídrico

Tal como fue descrito en la sección 1.1.2.2, casi 200 familias F3.5 de grano negro fueron evaluadas por su reacción a la sequía en la época de junio-agosto, 2002. Se sembraron parcelas de 2 surcos con 2 repeticiones en varios ensayos en diseño de lárice. Durante el ciclo del cultivo las temperaturas diurnas variaban desde moderadas (28°C) en días nublados hasta altas (35°C) en días despejados. Las lecturas de la tensión de humedad en el suelo indicaron que en la novena semana del cultivo había más de 700 milibares de tensión en el suelo cuando normalmente se hacen riegos y se registran lecturas de 230 milibares, lo que indica que el estrés hídrico fue fuerte durante la última fase del cultivo.

Los Cuadros 6 y 7 presentan los resultados de dos ensayos de grano negro. Estos dos ensayos presentaron resultados parecidos en cuanto a los rendimientos de los testigos. Tío Canela fue uno de los mejores testigos y rindió más que el DOR 390. Varias líneas rindieron más que el testigo de grano negro, e inclusive más que SEA 5, el testigo tolerante. Una accesión de cowpea fue incluida para comparación y unas líneas de frijol común produjeron rendimientos parecidos al cowpea, lo cual representa un buen logro. Se están purificando estas familias para una prueba adicional de sequía en el 2003.

**Cuadro 6.** Mejores líneas de grano negro en ensayo de rendimiento bajo estrés hídrico, en junio-agosto 2002.

Trt.	Familia	bgm-1	W12	MA	Rend	DAM	Pedigrí
457	MN14154-31	-	+	3	1353	72	(RIB 68 x G 21212) x ICTA Ligero
443	MR14144-31	H	.	4	1176	74	(SEA 18 x (FEB192 x G21212)) x EAP9020-14
458	MN14154-31	+	+	5	1157	70	(RIB 68 x G21212) x ICTA Ligero
346	MR13937-15	.	.	2	1142	74	MD 23-24 x (RAB 655 x G 21212)
371	MN14059-8	+	.	7	1130	73	(FEB 192 x G 21212) x ICTA Ligero
402	MN13942-33	H	.	5	1107	73	(TLP 35 x G 21212) x ICTA Ligero
451	MN14154-10	H	.	8	1096	69	(RIB 68 x G 21212) x ICTA Ligero
386	MN13934-63	H	"	2	1093	78	(FEB 192 x G 21212) x (DOR 500 x (DOR 390RC)
350	MR14000-37	.	+	3	1072	74	RAB 651 x (MD 23-24 x G 21212)
454	MN14154-22	.	+	6	1070	67	(RIB 68 x G 21212) x ICTA Ligero
394	MN13942-18	.	.	6	1067	71	(TLP 35 x G 21212) x ICTA Ligero
360	MR13944-32	.	.	2	1061	70	MD 23-24 x (VAX 2 x G 21212)
374	MN14059-10	.	.	5	1045	69	(FEB 192 x G 21212) x ICTA Ligero
	Tío Canela				914	74	
	SEA5				767	73	
	Cowpea				654	80	
	DOR390				619	81	
	LSD (0.05)				492	5.2	

**Cuadro 7.** Mejores líneas de grano negro en un ensayo de rendimiento bajo estrés hídrico, en junio-agosto 2002.

Trt.	Familia	bgm-1	W12	MA	Rend	DAM	Pedigrí
474	MR14191-26	+	-	7	1364	71	(DOR 364RC x RAB 609) x (SEA 15 x (RAB 655 xG 21212))
467	MN14154-36	H	+	5	1229	68	(RIB 68 x G 21212) x ICTA Ligero
493	MR14212-12	+	.	7	1198	74	(SEA 15 x Ostua RC) x (Tío Canela x (FEB 192 xG 21212))
489	MR14212-4	-	+	4	1185	74	(SEA 15 x Ostua RC) x (Tío Canela x (FEB 192 x G21212))
494	MN14214-11	+	"	6	1132	73	(SEA 15 x (A 774 x G 21212)) x (NEB 31 x (G 21212 x OstuaRC))
495	MR14215-5	+	-	7	1131	71	(SEA 15 x MD 23-24) x (Tío Canela x G 21212)
492	MR14212-12		-	7	1116	74	(SEA 15 x Ostua RC) x (Tío Canela x (FEB 192 xG 21212))
465	MN14154-36		.	4	lili	67	(RIB 68 x G 21212) x ICTA Ligero
490	MR14212-6	+	"	3	1055	72	(SEA 15 x Ostua RC) x (Tío Canela x (FEB 192 xG 21212))
497	MN14237-12	+	-	5	1034	71	(NEB 31 x (G 21212 x Ostua RC)) x (TLP 36 x BAT 477)
	Cowpea				1503	79	
	Tío Canela				1008	77	
	SEA5				815	75	
	DOR390				366	79	
	LSD (0.05)				371	5.2	

CIAT

PLAN OPERATIVO ANUAL 2002-2003

**PROYECTO 1.** MEJORAMIENTO DE FRIJOL MESOAMERICANO  
**SUBPROYECTO 1.2.** Mejoramiento de Frijol Grano Rojo  
**RESPONSABLE:** Stephen Beebe  
**RESULTADO R.1.** Se han desarrollado variedades, líneas y poblaciones de frijol mesoamericano de valor comercial, con resistencia a mosaico común, mosaico dorado, bacteriosis común, mas un factor adicional (*Apion*, *Empoasca*, mancha angular, antracnosis, FBN, baja fertilidad, sequía o altas temperaturas)

ACTIVIDADES S.1.2	METAS	PRESUPUESTO
1.2.1 Evaluación de padres		
<b>1.2.2 Desarrollo de padres superiores para bajo P o sequía o con resistencias múltiples.</b>		
1.2.2.1 Obtención de cruzas con padres múltiples para caracteres específicos		
1.2.2.2 Evaluar poblaciones, familias y/o líneas para factores específicos	Unas 80 familias evaluadas y seleccionadas para factores abióticos	2.500
<b>1.2.3 Desarrollo de líneas de valor comercial con caracteres múltiples</b>		
1.2.3.1 Obtención de cruzas con padres múltiples y caracteres múltiples	Unas 15 poblaciones F <sub>2</sub> con padres múltiples	750
1.2.3.2 Evaluación de poblaciones, familias y/o líneas para factores múltiples	Mas de 30 poblaciones F <sub>2</sub> y 1500 familias F <sub>4</sub> . F <sub>5</sub> evaluadas y seleccionadas para factores múltiples	8.500
<b>PRESUPUESTO TOTAL S.1.2</b>		<b>11.750</b>

### Actividad 1.2.1 Evaluación de padres

### Actividad 1.2.2 Desarrollo de padres superiores para bajo P o sequía o con resistencias múltiples

1.2.2.1 Obtención de cruzas con padres múltiples para caracteres específicos

1.2.2.2 Evaluar poblaciones, familias y/o líneas para factores específicos

Siguiendo el esquema de trabajo anteriormente descrito para grano negro, familias de grano rojo también se identificaron para servir como padres en otro ciclo de cruzas (Cuadro 8).

**Cuadro 8.** Familias F3.5 seleccionadas para caracteres múltiples con potencial para uso como padres.

Identificación	Pedigri	MA	bgm 1-W12
7	(655 x 21212)x 609	4*	H-
69	(651 xTC)x(608x 15)	4*	+-
73	(21 x 623 ) x 9653-16B-1	7	H+
79	(21 x 623 ) x 9653-16B-1	7	++
156	(21 x 609) x 582	5	H+
113	(623 x MD) x (15 x (655 x 2122))	3	H-
29	(MDx (655 x21212))	1	+-
140	(15 xMD)x(TC x 21212)	5	++
141	(15 x 364) x (651 x (MD x 21212))	5	++

### Actividad 1.2.3 Desarrollo de líneas de valor comercial con caracteres múltiples

1.2.3.1 Obtención de cruzas con padres múltiples y caracteres múltiples

Igual al caso de los granos negros, hemos iniciado un ciclo de cruzas para combinar tolerancia a sequía, resistencia a mancha angular y BGYMV, y alto contenido de hierro en el grano. Las combinaciones de interés a corto plazo que reúnen resistencia a MA y BGYMV aparecen en el Cuadro 9.

**Cuadro 9.** Cruzas para combinar resistencia a BGYMV con resistencia a mancha angular en grano rojo.

Surco	Pedigrí		bgm-1	63-63	Tipo de grano	9653-16b	9020-14	TCx TCx 14519	Seda-bc3
	VAX 6 x MAR 1	85		R/I	7 op bueno		X		
7493	MDx ((4691x10474) x (RS x 9824-56))	WLB Mab 87	+	R	Rj Nací	X	X	X	
7501	MDx ((4691x10474) x (RS x 9824-56))	106	+	R	Seda		X		X
7503	MDx ((4691x10474) x (RS x 9824-56))	88	+	R	TC	X	X	X	
7515	MDx ((4691x10474) x (RS x 9824-56))	107	+	R	Seda	X			X
7621	TC x (4691 x 10613)	89	+	R	Buena calidad- FEA	X			
7653	TC x (4691 x 10613)	90	+	R	Rj op (vol)				
7842	(FEB 212 x (4691 x 10613)) x 390	93	+	R	Ne-(p)				
	(FEB 212 x (4691 x 10613)) x 390	94	+	R	Ne-(p)				X
	(FEB 212 x (4691 x 10613)) x 390	95	+	R	P	X			
	(FEB 212 x (4691 x 10613)) x 390	96	+	R	P		X		
	(FEB 212 x (4691 x 10613)) x 390	97	+	R	P			X	
	(FEB 212 x (4691 x 10613)) x 390	98	+	R	P	X			
	(FEB 212 x (4691 x 10613)) x 390	99	+	R	P		X		
	(FEB 212 x (4691 x 10613)) x 390	100	+	R	P			X	
7955	(FEB 212 x (4691 x 10613)) x 390	105	-	R	Ne-Exc grano	X	X	X	X
	DOR 364 xG 19833	RIC 58		I		X			
	DOR 364 xG 19833	RIC 62		R			X		
						8	7	7	4
	<b>TOTAL</b>								<b>26</b>

### 1.2.3.2 Evaluación de poblaciones, familias y/o líneas para factores múltiples

#### Evaluación de familias F<sub>2</sub>

Siguiendo el esquema descrito para grano negro, en el Cuadro 10 aparecen las cruzas que segregaron grano rojo en la evaluación del segundo grupo de poblaciones F<sub>2</sub> que fueron sujetas a estrés hídrico en junio-agosto 2002. Prácticamente son las mismas poblaciones que dieron grano negro, pues las cruzas combinaron padres de grano negro con otros de grano rojo.

**Cuadro 10.** Poblaciones para combinar tolerancia a sequía con resistencia a BGYMV con buen potencial para segregar grano rojo.

Código	Pedigrí	# familias	# seleccionadas
SX14437	(SEA21 x RAB 609) x (SEA 15 x DOR 364RC)	45	33
SX 14438	(SEA21 x RAB 609) x (SEA15 x MD23-24)	45	38
SX 14439	(SEA21 x RAB 609) x (SEA 15 x G18479RC)	70	39
SX 14440	(SEA21 x RAB 609) x (G21212 x DOR390RC)	55	18
SX 14442	(SEA15 x (RAB655 x G21212)) x (9824-56-2 x G21212)	43	23
SX 14444	(SEA 15 x (RAB655 x G21212)) x(RAB623 x MD23-24)	23	13
SX 14454	SEA 23 x (RAB 623 x MD23-24)	12	8
SX 13981	(RAB655 x G21212) x SEA21	16	8
SX 14404	(RIB66 x G21212) x (SEA 15 x MD23-24)	110	57
SX14421	EAP9510-77 x (RIB66 x G21212)	70	22
SX 14422	EAP9510-77 x (SEA 15 x MD23-24)	65	49
SX 14423	EAP9510-77 x (Tío Canela x SEA21)	120	66
SX 14443	(SEA 15 x (RAB655 x G21212))x (RIB66 x G21212)	30	7
SX 14448	SAM 7 x (SEA21 x RAB609)	33	22
SX 14449	SAM 7 x (Tío Canela x SEA21)	57	25
SX 14450	SAM 7 x (SEA15 x MD23-24)	42	23
SX 14452	SAM 7 x (Tío Canela x G21212)	55	26
SX 14437	SAM 6 x (Tío Canela x SEA21)	83	49
SX14437	SAM 6 x (SEA 15 x DOR 364RC)	51	22

#### Evaluación de familias F<sub>4</sub>

Igual al progreso con las poblaciones para grano negro, las poblaciones para grano rojo fueron evaluadas en Santander de Quilichao en marzo, 2002, bajo inoculación con MA y con fertilidad media. El Cuadro 11 contiene el número de familias seleccionadas en las respectivas familias.

**Cuadro 11.** Familias  $F_{3,4}$  (total y seleccionadas) de las cruzas superiores para grano rojo sembradas en Santander de Quilichao, bajo inoculación con mancha angular y fertilidad media.

Código	Identificación	# familias	# seleccionadas
MR 13905	(RAB 655 x G 21212)F, x RAB 609	29	15
MR 13910	RAB 612x(TLP 35xG21212)F,	5	2
MR 13981	(RAB 655 x G 21212)F, x SEA 21	11	6
MR 13939	MD 23-24 x (TLP 35xG 21212)F,	14	3
MR 13943	TIO CANELA 75 x (TLP 35xG 21212)F,	12	1
MR 13936	TIO CANELA 75 x (FEB 192xG 21212)F,	5	2
MR 13937	MD 23-24 x (RAB 655 x G 21212)F <sub>i</sub>	60	20
MR 14000	RAB 651 x (MD 23-24xG 21212)F,	33	8
MR 14061	RAB 609 x (FEB 192 x G 21212)F <sub>t</sub>	15	2
MR 14058	RAB 630 x (FEB 192 x G 21212)F,	10	5
MR 13938	(DOR 364x(DOR 364x(DOR 364xSAM 1)F,)F <sub>2</sub> )F <sub>3</sub> x (RAB 655 x G 21212)F,	21	3
MR 13944	MD 23-24 x (VAX 2 x G 21212)F,	89	23
MR 13912	RAB 612 x (A 774 x G 21212)F,	6	1
MR 13996	RAB 612 x(G 21212 x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x SAM 1)F,)F <sub>2</sub> )F,)F, RAB 630 x (G 21212 x (DOR 390 x (DOR 390 x	8	1
MR 14003	(DOR 390 x SAM 1)F,)F <sub>2</sub> )F,)F <sub>1</sub>	12	7
MR 14140	(RAB 619 x TIO CANELA 75)F, x ((RAB 655 x G 21212)F] x SEA 21)F <sub>1</sub>	55	14
MR 14141	(RAB 619 x TIO CANELA 75)F, x (RIB 68 x G21212)F,	10	5
MR 14143	(RAB 651 x TIO CANELA 75)F, x (RAB 608 x SEA 15)F	33	2
MR 14144	(SEA 18 x (FEB 192 x G 21212)F,)F, x EAP 9020-14	43	5
MR 14145	(TAR 4 x SEA 18)F, x TIO CANELA 75	47	5
MR 14146	(SEA 20 x (FEB 192 x G 21212)F,)F, x EAP 9510-77	60	1
MR 14148	(SEA 21 x RAB 623)F, x 9653-16 B-1 ((RAB 655 x G 21212)F, x SEA 21)F, x (RIB 66 x	78	11
MR 14149	G 4090)F[	10	2
MR 14150	(SEA 21 x RAB 608)F, x 9653-16 B-3	67	5
MR 14152	(SEA 22 x (TLP 35 x G 21212)F,)F, x EAP 9504-30 B (SEA 22 x (A 774 x G 21212)F,)F, x (RAB 619 x TIO	46	18
MR 14153	CANELA 75)F,	5	2
MR 14160	(9824-47-1/F-, x G 21212)F, x TIO CANELA 75	10	2
MR 14161	(9824-56-2/F, x G 21212)F, x RAB 630 (RAB 608 x (MD 23-24 x G 21212)F,)F <sub>1</sub> x (RIB 68 x	3	2
MR 14189	G 21212)F j ((DOR 364 x (DOR 364 x (DOR 364 x SAM 1)F,)F <sub>2</sub> ) F <sub>3</sub> x RAB 609)F, x (SEA 15 x (RAB 655 x G	11	5
MR 14191	21212)F,)F <sub>1</sub>	45	6
MR 14192	((DOR 364 x (DOR 364 x (DOR 364 x SAM 1)F,)F <sub>2</sub> ) F <sub>3</sub> x RAB 609)F, x (RIB 68 x G 21212)F,	15	2
MR 14195	(RAB 612 x (RAB 655 x TLP 30)F!)F, x (SEA 16 x MD 23-24)F,	5	1

Continúa ...

**Cuadro 11.** Continuación...

<b>Código</b>	<b>Identificación</b>	<b># familias</b>	<b># seleccionadas</b>
MR 14198	(RAB 618x (DOR 364 x (DOR 364 x (DOR 364 x SAM 1)F,)F <sub>2</sub> )F <sub>3</sub> )F <sub>1</sub> x ((RAB 655 x G 21212)F, x SEA 21)F,	13	3
MR 14202	(RAB 623 x MD 23-24)F, x (SEA 15 x (RAB 655 x G21212)F,)F,	16	5
MR 14203	(RAB 623 x MD 23-24)F, x (RIB 68 x G 21212)Fi ((RAB 655 x TLP 30)F, x RJB 7)F, x (MD 23-24 x SEA 21)F	4	1
MR 14204	(RAB 651 x (VAX 1 x RAB 655)F,)Fi x (SEA 18 x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x (ICTA OSTUA x SAM 1)F,)F <sub>2</sub> )F <sub>3</sub> )F <sub>1</sub>	37	12
MR 14209	(MD 23-24 x (RAB 655 x G 21212)F,)F, x (SEA 21 x RAB 609)F,	4	1
MR 14210	(MD 23-24 x (TLP 35 x G 21212)F,)F, x (SEA 21 x RAB 612)Fi	26	6
MR 14211	(SEA 15 x MD 23-24)F, x (TIO CANELA 75 x G 21212)F,	22	3
MR 14215	(SEA 15 x (DOR 364 x (DOR 364 x (DOR 364 x SAM 1)F,)F <sub>2</sub> )F <sub>3</sub> )F, x (RAB 651 x (MD 23-24 x G 21212)F,)F <sub>1</sub>	97	24
MR 14216	(SEA 15 x RAB 612)F, x (RIB 66 x G 21212^	22	3
MR 14217	(SEA 21 x RAB 609)F, x DOR 582	26	4
MR 14232	(SEA 21 x RAB 609)F, x (RIB 66 x G 21212)F,	265	42
MR 14233	(SEA 21 x RAB 608)F, x(RIB 66xG21212)F,	21	2
MR 14234	(A 686 x RAB 608)F, x (SEA 22 x (DOR 364 x (DOR 364 x (DOR 364 x SAM 1)F <sub>1</sub> )F <sub>2</sub> )F <sub>3</sub> )F <sub>1</sub>	27	9
MR 14256	(DICTA 122 x (DICTA 122 x (DICTA' 122 x SAM 1) F,)F <sub>3</sub> -1)F, x (MD 23-24 x (RAB 655 x G 21212)F,)F!	5	2
MR 14258	(RAB 608 x DICTA 17)F,x(SEA 15xRAB612)F,	17	3
MR 14265	(RAB 608 x (RAB 655 x TLP 30)F,)F, x (TIO CANELA 75 x SEA 21)F,	87	7
MR 14267	(RAB 609 x DICTA 17)F, x (SEA 20 x TIO CANELA 75)F,	27	11
MR 14268	(RAB 623 x DICTA 17)F, x (RAB 630 x SEA 21)F,	16	4
MR 14273	(RJB 10 x DICTA 17)F, x (TIO CANELA 75 x (TLP35xG21212)F <sub>1</sub> )F <sub>1</sub>	17	3
MR 14277	(RJB 11 x RAB 655)F, x (TIO CANELA 75 x (FEB 192 x G 21212)F,)F,	21	2
MR 14279	(DICTA 122 x (DICTA 122 x (DICTA 122 x SAM 1) F,)F <sub>3</sub> -1)F, x (RAB 651 x (VAX 1 x RAB 655)F,)F,	5	1
MR 14292		67	10

## Evaluación de rendimiento de familias F3.5 bajo estrés hídrico

Siguiendo el esquema presentado para grano negro, se realizaron dos ensayos de rendimiento para estrés de sequía en junio-agosto 2002, evaluando más de 200 familias de grano rojo. El nivel de tolerancia en grano rojo fue superior al que se observó en grano negro hasta el punto en que se igualó o se superó el rendimiento del cowpea (Cuadros 12 y 13). Algunas de estas poblaciones han expresado buen comportamiento en Centroamérica, tal es el caso de la cruce (SEA 21 x RAJB 623) x 9653-16B.

**Cuadro 12.** Mejores líneas de grano rojo en ensayo de rendimiento bajo estrés hídrico, en junio-agosto 2002.

Trt	Familia	bgm-1	W12	MA	Rend	DAM	Pedigrí
73	MR14148-54 Cowpea	H	+	7	1515 1515	71 75	(SEA 21 x RAB 623) x 9653-16B
70	MR14145-18	-	+	7	1353	74	(TAR 4 x SEA 18) x Tío Canela
69	MR14143-28	+	-	4	1312	70	(RAB 651 x Tío Canela) x (RAB 608 x SEA 15)
72	MR14148-54	-	+	5	1247	73	(SEA 21 x RAB 623) x 9653-16B
114	MR14202-4	-	-	8	1208	73	(RAB 623 x MD 23-24) x (SEA 15 x (RAB 655 xG 21212))
90	MR14152-14	-	-	5	1180	69	(SEA 22 x (TLP 35 x G 21212)) x EAP 9504-30B
113	MR14202-2	H	-	3	1175	75	(RAB 623 x MD 23-24) x (SEA 15 x (RAB 655 xG 21212))
103	MR14153-3	H	-	4	1130	72	(SEA 22 x (A 774 x G 21212)) x (RAB 619 x Tío Canela)
29	MR13937-15 SEA 5	-	-	1	1117 1055 ■	72 73	MD 23-24 x (RAB 655 x G 21212)
45	MR13912-3	+	-	6	1028	70	RAB 612 x (A 774 xG 2212)
40	MR14000-2	+	-	6	1019	74	RAB 651 x (MD 23-24 x G 21212)
	Tío Canela				450	74	
	DOR 390				229	78	
	LSD (0.05)				456	4.2	

**Cuadro 13.** Mejores líneas de grano rojo en ensayo de rendimiento bajo estrés hídrico, en junio-agosto 2002.

Trt	Familia	bgm-1	W12	MA	Rend	DAM	Pedigrí
140	MR14215-15	+	+	5	1161	74	(SEA 15 x MD 3-24) x (Tío Canela x G21212)
156	MR14232-27	H	+	5	1143	74	(SEA 21 x RAB 609) x DOR 582
212	MR14267-26	+	-	5	1132	73	(RAB 608 x (RAB 655 x TLP 30)) x (Tío Canela x SEA 21)
204	MR14265-58	“	“	4	1114	69	(RAB 608 x DICTA 17) x (SEA 15 x RAB 612)
	SEA 5				1104	72	
143	MR14216-3	+	-	5	1101	75	(SEA 15 x DOR 364) x (RAB 651 x (MD 23-24 xG 21212))
146	MR14217-12		“	2	1003	73	(SEA 15 x RAB 612) x (RIB 66 x G 21212)
227	MR14292-3	+	“	4	984	70	DICTA 122 x(RAB 651 x (VAX 1 x RAB 655))
229	MR14292-63	H	“	6	972	73	DICTA 122 x (RAB 651 x (VAX 1 x RAB 655))
144	MR14217-9	H	“	2	966	76	(SEA15 x RAB 612) x (RIB 66 x G 21212)
200	MR14258-7	H	~	6	948	72	DICTA 122 x (MD 23-24 x (RAB 655 xG 21212))
138	MR14215-9	H	-	6	945	71	(SEA 15 x MD 23-24) x (Tío Canela x G 21212)
	Cowpea				591	79	
	Tío Canela				173	74	
	DOR390				173	74	
	LSD (0.05)				472	3.7	

CIAT

PLAN OPERATIVO ANUAL 2002-2003

PROYECTO 1. MEJORAMIENTO DE FRIJOL MESO AMERICANO

SUBPROYECTOS 1.1 y 1.2. Mejoramiento de Frijol Grano Negro y Grano Rojo

RESPONSABLE: César Cardona

RESULTADO R.I. Se han desarrollado variedades, líneas y poblaciones de frijol mesoamericano de valor comercial, con resistencia a mosaico común, mosaico dorado, bacteriosis común, más un factor adicional (*Apion*, *Empoasca*, *Thrips palmi*, mancha angular, antracnosis, FBN baja fertilidad, sequía o altas temperaturas)

ACTIVIDADES S.II	METAS	PRESUPUESTO
<b>1.1.1 Evaluación de padres donantes de genes necesarios (VIPADOGEN)</b>	Aproximadamente 500 accesiones de germoplasma y líneas evaluadas para BCMV, antracnosis, mancha angular y <i>Empoasca</i> (1 semestre)	
1.1.1.1 Desarrollo de metodologías para evaluación de genotipos por resistencia a <i>Thrips palmi</i>	Aproximadamente 680 genotipos evaluados, (dos semestres)	1.500
1.1.1.2 Determinación de mecanismos de resistencia a <i>Thrips palmi</i>	Tolerancia, antixenosis y antibiosis	
<b>1.1.2 Desarrollo de padres por piramidación de genes para BC, MA, ANT, VMD y Picudo separadamente</b>		
1.1.2.1 Evaluar poblaciones, familias y/o líneas para factores específicos	Más de 1300 familias de más de 10 poblaciones evaluadas y seleccionadas (un semestre)	1.000
<b>1.1.3 Desarrollo de líneas de valor comercial con caracteres múltiples</b>		
1.1.3.1 Evaluación de poblaciones, familias y líneas para factores múltiples	Aproximadamente. 700 familias de unas 15 poblaciones evaluadas y seleccionadas para factores múltiples (dos semestres)	1.000
1.1.3.2 Evaluación de líneas para <i>Empoasca</i>	1000-1100 líneas evaluadas (dos semestres)	1.000
1.1.3.3. Desarrollo de un marcador molecular para arcelina		1.000
<b>PRESUPUESTO TOTAL S.II y 1.2</b>		<b>5.500</b>

## Actividad 1.1.1 Evaluación de padres donantes de genes necesarios (VIPADOGEN)

### Aspectos destacados:

- Se identificaron nuevas fuentes de resistencia a *Empoasca kraemeri*, *Zabrotes subfasciatus* y *Acanthoscelides obtectus*.
- Se lograron avances en la caracterización de la tolerancia y la antixenosis como mecanismos de resistencia a *Thrips palmi*.

#### 1.1.1.1 Desarrollo de metodologías para evaluación de genotipos por resistencia a *Thrips palmi*

### Selección de fuentes de resistencia a los principales insectos plaga

La identificación de fuentes de resistencia a las principales plagas del frijol es una actividad continua. Se realizan trabajos adicionales para tratar de conocer los mecanismos de resistencia a insectos plaga específicos. En 2002, se hizo más énfasis en los estudios sobre tolerancia y antixenosis como mecanismos de resistencia a *Thrips palmi*, una especie para la cual se han identificado fuentes de resistencia (ver Informe Anual del CIAT, 2001).

Los viveros para evaluar resistencia al saltahoja, *T. palmi* y el gorgojo de la vaina se siembran en el campo en condiciones de niveles altos de infestación natural, por lo general con 3-4 repeticiones por genotipo. Las evaluaciones de resistencia incluyen calificaciones de daño y de producción de frijol, recuentos de insectos, recuentos de daño y, en algunos casos, componentes del rendimiento y rendimiento. Los viveros de brúchidos se prueban en el laboratorio utilizando 3-5 repeticiones de 50 semillas por genotipo. Los niveles de infestación son 7 pares de *Z. subfasciatus* por 50 semillas o dos huevos por semilla, en el caso de *A. obtectus*.

#### 1.1.1.2 Determinación de mecanismos de resistencia

### *Thrips palmi*

En 2002, una vez identificadas las fuentes de resistencia a *T. palmi* en genotipos de frijol (ver Informe Anual del CIAT 2001 y Cardona et al. 2002), se continuaron los estudios sobre mecanismos de resistencia. Los estudios de campo y los ensayos de invernadero sobre la tolerancia no se han completado; sin embargo, nos gustaría destacar los resultados de un primer ensayo de campo sobre la tolerancia. Se utilizó un diseño de parcelas divididas con siembras al azar en 4 repeticiones, cada una protegida (con insecticidas) y sin proteger. Cada parcela principal constó de 10 variedades en cuatro hileras de 3 m, organizadas al azar. Las dos hileras centrales se utilizaron para muestreo y medición. Las variedades utilizadas en este estudio, Brunca, EMP 486, FEB 115, BH-5, BH-60, BH-130 y BH<sup>14</sup>, habían sido

identificadas como resistentes en estudios anteriores en comparación con los testigos susceptibles APN 18, PVA 773 y RAZ 136. Durante la etapa de crecimiento, se determinó el daño en las plantas a edades entre 30 y 40 días después de la siembra (DDS). Una vez a la semana se llevó a cabo un recuento de adultos y larvas para calcular el nivel de infestación en cada variedad. Al final de la etapa de crecimiento, se tomaron las calificaciones de producción de frijol (estimaciones visuales de formación de vainas y potencial de rendimiento en condiciones de presión alta de insectos). En el momento de la cosecha se midieron los siguientes parámetros: vainas por planta, semillas por planta, peso de 100 semillas y rendimiento total (kg/ha). Se calcularon los índices de pérdida de rendimiento.

Como se observa en el Cuadro 14, los genotipos resistentes mostraron puntajes de daño significativamente menores que los testigos susceptibles PVA 773 y RAZ 136. Las calificaciones de producción de frijol de los testigos susceptibles fueron significativamente inferiores que las de los genotipos resistentes, lo que indica que genotipos resistentes seleccionados tienen la capacidad de tolerar niveles altos de infestación.

**Cuadro 14.** Puntajes de daño, calificaciones de producción de frijol y pérdidas de vainas y de semilla en genotipos seleccionados de frijol, evaluados respecto a su tolerancia a *Thrips palmi*, en condiciones de campo.

Genotipo	Puntaje promedio de daño <sup>1</sup>	Calificaciones de producción de frijol <sup>2</sup>	Pérdida de vainas <sup>3</sup> (%)	Pérdida de semilla <sup>4</sup> (%)
Brunca	4.0d <sup>c</sup>	7.0abc	18.4	23.2
EMP 486	5.0cd	6.3bc	37.8	45.6
FEB 115	4.0d	7.7ab	32.7	36.6
BH-5	5.8bc	6.0c	46.3	51.6
BH-60	4.0d	8.0a	30.6	33.8
BH-130	6.8b	4.0d	59.8	65.6
BH-144	5.5bc	5.7c	20.0	48.9
APN 18 <sup>5</sup>	6.8b	3.7d	60.4	66.0
PVA 773 <sup>5</sup>	8.7 <sup>''</sup>	1.0e	58.8	75.0
RAZ 136 <sup>5</sup>	9.0a	1.0e	67.6	89.2

<sup>1</sup> En una escala de 1 a 9 (1, ningún daño; 9, daño severo, planta muerta).

<sup>2</sup> En una escala de 1 a 9 (1, ninguna formación de vainas; 9, excelente formación de vainas).

<sup>3</sup> Con base en el número de vainas vacías en las parcelas protegidas y sin proteger.

<sup>4</sup> Con base en el número de semillas por vaina en las parcelas protegidas y sin proteger.

<sup>5</sup> Promedios en la misma columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes (PO.OO1, DMS protegida de Fisher).

Las mediciones de rendimiento también mostraron diferencias significativas entre genotipos (Cuadro 15). Todas las variedades presentaron rendimientos significativamente inferiores en condiciones sin protección. La pérdida de rendimiento fue menor en BH-60 (16.0%), seguida de Brunca (36.0%), FEB 115 (49.2%) y BH-144 (49.6%). Las tres variedades susceptibles RAZ 136, PVA 773 y APN 18 presentaron las pérdidas de rendimiento más altas (91.0%, 84.9% y 78.6%, respectivamente). Los índices de susceptibilidad para BH-60 (0.6), Brunca (0.8) y FEB 115 (0.8) fueron los más bajos, en tanto que las dos variedades susceptibles PVA 773 y RAZ 136 mostraron los índices más altos de susceptibilidad (2.3 y 1.8, respectivamente).

**Cuadro 15.** Rendimiento (kg/ha) y pérdidas de rendimiento en genotipos seleccionados de frijol evaluados respecto a su resistencia a *Thrips palmi*.

<b>Genotipo</b>	<b>Rendimiento con protección</b>	<b>Rendimiento sin protección</b>	<b>Pérdida de rendimiento (%)</b>	<b>Índice de susceptibilidad</b>
Brunca	1319ab <sup>1</sup>	844ab	36.0	0.8
EMP 486	1250b	557abc	55.4	1.0
FEB 115	1789a	909a	49.2	0.8
BH-5	1356ab	495bcd	63.5	1.0
BH-60	1197b	1006a	16.0	0.6
BH-130	1077b	320d	70.3	1.2
BH-144	1117b	563abc	49.6	1.0
APN 18	1374.2ab	293cd	78.6	1.1
PVA 773	374d	56e	85.0	2.3
RAZ 136	563c	50e	91.0	1.8

<sup>1</sup> Promedios en la misma columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes ( $P < 0.001$ , DMS protegida de Fisher).

En resumen, las variedades más resistentes fueron Brunca, FEB 115, BH-60 y BH-144. Brunca y BH-60 pueden presentar cierta tolerancia, por cuanto presentaron menores pérdidas a un nivel de infestación similar a las otras variedades. Las pérdidas bajas de FEB 115 se debieron principalmente al efecto antixenótico y, en consecuencia, a un nivel de infestación inferior (ver informes anteriores).

También se lograron avances en la identificación de marcadores moleculares respecto a la resistencia a *T. palmi*. En el momento de redactar este informe, se habían analizado cerca de 40 iniciadores y, mediante análisis de segregación masal, se encontró que 15 iniciadores polimorfos eran útiles para análisis adicionales. Para más detalles, véase el informe del proyecto SB-2 del CIAT

## Brúchidos

Es muy conocido que las accesiones silvestres de *Phaseolus vulgaris* constituyen poblaciones con características variables. Es necesario seleccionar y purificar aquellas entradas para finalidades específicas; en nuestro caso, para detectar la presencia de diferentes variantes de arcelina. A solicitud de varios colaboradores en Europa y Estados Unidos, se continuó el proceso de selección dentro de las accesiones que contenían arcelina-6 y arcelina-7. Los resultados se presentan en el Cuadro 16. Algunas de las selecciones en G 11051 (arcelina-6) son ahora más resistentes a *Z. subfasciatus* que los testigos resistentes G 12952 (arcelina-4) y G 02771 (arcelina-5). Algunas de las selecciones en G 24582 (arcelina-7) necesitan de estudios adicionales para aumentar sus niveles de resistencia a este insecto.

**Cuadro 16.** Niveles de resistencia a *Zabrotes subfasciatus* en semillas de accesiones silvestres de frijol seco, purificadas para detectar la presencia de arcelina-6 ó 7.

Identificación	Semillas evaluadas (tno.)	Emergencia (%)	Días a la emergencia de adultos	Is <sup>1</sup>	Puntaje <sup>2</sup>
<b>Arcelina-6</b>					
G 11051 ARC6 Semilla 25-1-1	75	4.0	83.3	-0.2	R
G 11051 ARCÓ Semilla 25-1-2	100	2.8	76.8	-0.7	R
G 11051 ARCÓ Semilla 25-1-4	150	7.1	74.7	0.4	R
G 11051 ARCÓ Semilla 25-2-1	150	24.0	69.4	2.5	I
G 11051 ARCÓ Semilla 31-1-1	45	3.8	76.2	0.0	R
G 12952 ARC4	100	7.6	66.9	1.1	R
G 02771 ARC5	100	0.3	91.0	-3.0	R
ICA Pijao <sup>3</sup>	120	98.0	37.9	9.1	S
<b>Arcelina-7</b>					
G 24582 ARC7 Semilla 13-4	120	8.0	40.2	1.1	R
G 24582 ARC7 Semilla 18-2	90	8.6	40.1	1.7	R
G 24582 ARC7 Semilla 31-1	120	22.8	40.5	2.7	I
G 24582 ARC7 Semilla 31-3	45	18.0	40.5	3.1	I
G 24582 ARC7 Semilla 40-1	15	10.4	47.4	1.1	R
G 12952 ARC4 <sup>3</sup>	100	10.0	61.1	0.5	R
G 02771 ARC5 <sup>3</sup>	100	3.1	54.6	-0.5	R
ICA Pijao <sup>4</sup>	120	91.9	32.3	9.8	S

<sup>1</sup> Índice de susceptibilidad (progenie ln por hembra/días a la emergencia de adultos) x 100

<sup>2</sup> R, resistente; I, intermedia; S, susceptible .

<sup>3</sup> Testigo resistente.

<sup>4</sup> Testigo susceptible.

## Actividad 1.1.2 Desarrollo de padres por piramidación de genes para BC, MA, ANT, VMD y Picudo separadamente

### Aspectos destacados:

- Se identificó la resistencia a *Acanthoscelid.es obtectus* en híbridos de *P. vulgaris* x *P. acutifolius*.
- Se desarrollaron líneas nuevas que incorporan la resistencia a insectos.

#### 1.1.2.1 Evaluar poblaciones, familias y/o líneas para factores específicos

### Selección de híbridos interespecíficos

Es necesario desarrollar híbridos fértiles entre frijol común y frijol tepari utilizando el genotipo de frijol tepari NI576 (genotipo apropiado para la transformación genética mediante *Agrobacterium*), el cual no podía cruzarse empleando la retrocruza convencional o de congruencia. En el CIAT, se ha desarrollado una metodología novedosa de retrocruzas denominada “retrocruza de doble congruencia” (RCDC). La metodología de RCDC ha permitido la producción de híbridos fértiles entre frijol común y frijol tepari, incluyendo el genotipo mencionado anteriormente. Parece que esta metodología también es aplicable, en general, para la producción de híbridos fértiles de otros genotipos de frijol común y tepari incompatibles en otras circunstancias. En 2001, la Unidad de Biotecnología del CIAT aplicó la metodología de RCDC para hacer cruza entre frijol común y frijol tepari utilizando genotipos que también han sido difíciles de cruzar empleando la retrocruza recurrente o de congruencia. Estos genotipos son G40023 y G40068 (sequía); G40199 (brúchidos, *Acanthoscelides obtectus* y *Zabrotes subfasciatus*); y G40019 y G40036 (saltahojas, *Empoasca kraemeri*).

En 2002, la sección de Entomología del Proyecto de Frijol recibió progenies de cruza que poseían ya sea citoplasma de *P. vulgaris* o de *P. acutifolius*. Estas se evaluaron simultáneamente para detectar la resistencia a *Z. subfasciatus* y a *A. obtectus*. Ninguna de las progenies presentó resistencia a *Z. subfasciatus* (Cuadro 17). Ninguna de las progenies que contenían citoplasma de *P. vulgaris* presentó resistencia a *A. obtectus* (Cuadro 18). Por el contrario, cuatro progenies que contenían citoplasma de *P. acutifolius* mostraron resistencia a esta especie. Las progenies más prometedoras son la F3 de GVV-1 y la F2 de GKA-12, con porcentajes de emergencia entre 13.9% y 17.7%, respectivamente. Estos niveles de resistencia son equivalentes a los obtenidos con el testigo resistente de *P. acutifolius*, G 40199 (10.0%). Está por reconfirmar la resistencia en las progenies seleccionadas.

Cuadro 17. Respuesta de híbridos interespecíficos de *Phaseolus vulgaris* x *P. acutifolius* a *Zabrotes subfasciatus*. V-DCBC es un híbrido congruente doble con citoplasma de *P. vulgaris*; A-DCBC es un híbrido congruente doble con citoplasma de *P. acutifolius*.

Código y generación	Cruza	Emergencia (%)	Días a la emergencia de adultos	Calificación <sup>1</sup>	Semilla dañada (%)
<b>Citoplasma de <i>P. vulgaris</i></b>					
T7KT-99 F <sub>3</sub>	V-DCBC5 x V-DCBC4	90.5	35.1	S	100.0
T7KT-98 F <sub>3</sub>	V-DCBC5 x V-DCBC4	81.5	35.0	S	100.0
T7K-2 F <sub>3</sub>	V-DCBC5 x V-DCBC4	83.3	39.3	s	100.0
KQGN1 F <sub>3</sub>	V-DCBC4 x GNV	86.3	62.0	S	100.0
KKQ-11 F <sub>3</sub>	V-DCBC4 x V-DCBC4	85.8	39.3	S	100.0
TKKQ-10F <sub>3</sub>	V-DCBC5 x V-DCBC4	96.1	37.0	s	100.0
TK-1 F <sub>3</sub>	V-DCBC5 x V-DCBC4	94.7	36.4	S	100.0
A99Y12A-1 F <sub>3</sub>	V-DCBC4 x (G40199 X A-DCBC6-1)	91.2	34.0	S	100.0
A99Y12A-2 F <sub>3</sub>	V-DCBC4 x (G40199 X A-DCBC6-1)	89.3	33.9	s	100.0
A99Y12A-3 F <sub>3</sub>	V-DCBC 4x (G40199 X A-DCBC6-1)	96.5	34.7	s	100.0
A99Y12A-4 F <sub>3</sub>	V-DCBC 4x (G40199 X A-DCBC6-1)	85.0	35.8	S	100.0
A99Y12D-1 F <sub>3</sub>	V-DCBC 4x (G40199 X A-DCBC6-1)	77.7	33.4	s	100.0
A99Y-13 F <sub>2</sub>	V-DCBC 4x (G40199 X A-DCBC6-1)	100.0	37.3	S	100.0
A99Y-93 F <sub>2</sub>	V-DCBC 4x (G40199 X A-DCBC6-1)	84.9	35.0	s	100.0
A99Y-93 F <sub>3</sub>	V-DCBC 4x (G40199 X A-DCBC6-1)	95.9	36.2	s	100.0
<b>Citoplasma de <i>P. acutifolius</i></b>					
GNVAV-2 F <sub>4</sub>	{[(G40022 x NI576)x V5] x A3} x VS42-7	84.0	38.9	S	100.0
GVV-1 F <sub>3</sub>	{[(G40022 x NI576)x V5] x A3} x VS42-7	93.1	47.1	S	100.0
GKX-10F <sub>2</sub>	A-DCBC8-2	68.0	39.3	s	100.0
GKX-11 F <sub>2</sub>	A-DCBC8-2	76.4	39.7	s	100.0
GKX-6 F <sub>2</sub>	A-DCBC8-2	78.3	37.9	s	100.0
XKA-8 F <sub>2</sub>	A-DCBC7-2 x A6	91.8	41.4	S	100.0
GKV-18 F <sub>2</sub>	A-DCBC7-2 x VS5	89.0	36.8	s	100.0
GKA-12 F <sub>2</sub>	A-DCBC7-2 x A6	90.0	39.0	s	100.0
GKA-14 F <sub>2</sub>	A-DCBC7-2 x A6	79.8	37.2	s	100.0
ZXX-2 F <sub>2</sub>	A-DCBC8-3	77.0	38.2	S	100.0
ZXX-5 F <sub>2</sub>	A-DCBC8-3	70.3	37.0	S	100.0
GKAX-1 F <sub>2</sub>	(A-DCBC7-2 x A6) x A-DCBC6-3	78.8	37.4	s	100.0
GKAX-8 F <sub>2</sub>	(A-DCBC7-2 x A6) x A-DCBC6-3	70.2	36.9	S	100.0
GKAX-2 F <sub>2</sub>	(A-DCBC7-2 x A6) x A-DCBC6-3	92.7	39.3	S	100.0
GKAX-11 F <sub>2</sub>	(A-DCBC7-2 x A6) x A-DCBC6-3	73.3	37.9	S	100.0
G40022	Accesión de <i>P. acutifolius</i>	92.8	37.0	S	100.0
G40065	Accesión de <i>P. acutifolius</i>	94.1	36.9	S	100.0
NI576	Accesión de <i>P. acutifolius</i>	90.1	43.7	S	100.0
G40199	Testigo resistente de <i>P. acutifolius</i>	3.9	71.5	R	33.3
G 12882 arc 1	Testigo resistente de <i>P. acutifolius</i>	5.9	55.1	R	27.5
G 12952 are 4	Testigo resistente de <i>P. acutifolius</i>	37.5	66.5	R	37.5
G 25042	Testigo susceptible de <i>P. lunatus</i>	93.9	34.8	S	100.0
RAZ44	Testigo resistente cultivado de <i>P. vulgaris</i>	3.9	54.2	R	12.5
ICA Pijao	Testigo resistente cultivado de <i>P. vulgaris</i>	98.2	35.5	S	100.0

<sup>1</sup> R, resistente; S, susceptible.

Cuadro 18. Respuesta de híbridos interespecíficos de *Phaseolus vulgaris* x *P. acutifolius* a *Acanthoscelides obtectus*. V-DCBC es un híbrido congruente doble con citoplasma de *P. vulgaris*; A-DCBC es un híbrido congruente doble con citoplasma de *P. acutifolius*.

Código y generación	Cruza	Emergencia Días a la Calificación <sup>1</sup>		Semilla dañada (%)	
		(%) emergencia de adultos			
<b>Citoplasma de <i>P. vulgaris</i></b>					
T7KT-99 F <sub>3</sub>	V-DCBC5 x V-DCBC4	86.1	34.5	S	100.0
T7KT-98 F <sub>3</sub>	V-DCBC5 x V-DCBC4	86.7	33.4	S	100.0
T7K-2 F <sub>3</sub>	V-DCBC5 x V-DCBC4	50.7	39.1	S	75.0
KQGN1 F <sub>3</sub>	V-DCBC4 x GNV	76.7	45.7	S	100.0
KKQ-11 F <sub>3</sub>	V-DCBC4 x V-DCBC4	93.3	38.9	S	100.0
TKKQ-IOF <sub>3</sub>	V-DCBC5 x V-DCBC4	93.0	39.3	S	100.0
TK-1 F <sub>3</sub>	V-DCBC5 x V-DCBC4	75.9	40.0	S	100.0
A99Y12A-1 F <sub>3</sub>	V-DCBC4 x (G40199 X A-DCBC6-1)	100.0	32.2	S	100.0
A99Y12A-2 F <sub>3</sub>	V-DCBC4 x (G40199 X A-DCBC6-1)	92.6	32.4	S	100.0
A99Y12A-3 F <sub>3</sub>	V-DCBC 4x (G40199 X A-DCBC6-1)	100.0	32.9	S	100.0
A99Y12A-4 F <sub>3</sub>	V-DCBC 4x (G40199 X A-DCBC6-1)	100.0	32.2	S	100.0
A99Y12D-1 F <sub>3</sub>	V-DCBC 4x (G40199 X A-DCBC6-1)	95.0	32.4	S	100.0
A99Y-13 F <sub>2</sub>	V-DCBC 4x (G40199 X A-DCBC6-1)	89.3	35.6	S	100.0
A99Y-93 F <sub>2</sub>	V-DCBC 4x (G40199 X A-DCBC6-1)	95.8	32.3	S	100.0
A99Y-93 F <sub>3</sub>	V-DCBC 4x (G40199 X A-DCBC6-1)	70.5	38.4	S	100.0
<b>Citoplasma de <i>P. acutifolius</i></b>					
GNVAV-2 F <sub>4</sub>	{[(G40022 x NI576)x V5] x A3} x VS42-7	47.6	40.9	I	69.0
GW-1 F <sub>3</sub>	{[(G40022 x NI576)x V5] x A3} x VS42-7	13.9	52.8	R	38.1
GKX-10 F <sub>2</sub>	A-DCBC8-2	63.3	45.4	S	100.0
GKX-11 F <sub>2</sub>	A-DCBC8-2	52.3	46.4	S	100.0
GKX-6 F <sub>2</sub>	A-DCBC8-2	45.2	50.3	I	76.2
XKA-8 F <sub>2</sub>	A-DCBC7-2 x A6	57.2	48.2	S	84.6
GKV-18 F <sub>2</sub>	A-DCBC7-2 x VS5	90.4	43.4	S	100.0
GKA-12 F <sub>2</sub>	A-DCBC7-2 x A6	17.7	53.8	R	38.3
GKA-14 F <sub>2</sub>	A-DCBC7-2 x A6	63.6	40.0	S	100.0
ZXX-2 F <sub>2</sub>	A-DCBC8-3	93.9	37.5	S	100.0
ZXX-5 F <sub>2</sub>	A-DCBC8-3	58.3	42.0	S	90.0
GKAX-1 F <sub>2</sub>	(A-DCBC7-2 x A6) x A-DCBC6-3	73.0	41.2	S	100.0
GKAX-8 F <sub>2</sub>	(A-DCBC7-2 x A6) x A-DCBC6-3	75.0	40.5	S	100.0
GKAX-2 F <sub>2</sub>	(A-DCBC7-2 x A6) x A-DCBC6-3	71.2	41.1	S	100.0
GKAX-11 F <sub>2</sub>	(A-DCBC7-2 x A6) x A-DCBC6-3	68.3	37.5	S	100.0
G40022	Accesión de <i>P. acutifolius</i>	75.0	40.9	S	100.0
G40065	Accesión de <i>P. acutifolius</i>	88.4	38.8	S	100.0
NI576	Accesión de <i>P. acutifolius</i>	50.0	48.7	S	100.0
G40199	Testigo resistente de <i>P. acutifolius</i>	10.0	60.5	R	43.2
G 12882 arc 1	Testigo susceptible silvestre de <i>P. vulgaris</i>	78.3	36.9	S	100.0
G 25042	Testigo resistente de <i>P. lunatus</i>	5.0	60.0	R	15.0
RAZ44	Testigo susceptible cultivado de <i>P. vulgaris</i>	96.6	37.7	S	100.0
ICA Pijao	Testigo susceptible cultivado de <i>P. vulgaris</i>	95.5	32.8	S	100.0

<sup>1</sup> R, resistente; I, intermedio; S, susceptible.

## Resistencia al saltahojas

Como se informa en la Actividad 2.1.1.1, se evaluaron diferentes viveros de mejoramiento en cuanto a resistencia al saltahojas. Para más detalles acerca de las actividades de mejoramiento, véase la Actividad 2.1.1.1. Vale la pena mencionar un estudio de rendimiento en el cual se comparó el desempeño de líneas mejoradas respecto a la resistencia al saltahojas con el de líneas mejoradas respecto a resistencias múltiples (saltahojas, virus del mosaico dorado del frijol, gorgojo de la vaina y, en algunos casos, *Z. subfasciatus*). En términos de pérdidas de rendimiento e índices de susceptibilidad, las líneas seleccionadas por resistencia múltiple presentaron una tolerancia un poco menor al saltahojas que las líneas mejoradas específicamente respecto a la tolerancia, pero superaron en rendimiento al testigo susceptible, a todas las líneas FEB (no mejoradas respecto a tolerancia) y a uno de los testigos tolerantes élite, EMP 250 (Cuadro 19). Esto indica que el mejoramiento simultáneo respecto a caracteres múltiples no afecta necesariamente la tolerancia al saltahojas.

**Cuadro 19.** Puntajes de daño, niveles de población y rendimientos de líneas de frijol seleccionadas, evaluadas respecto a su tolerancia de *Empoasca kraemeri*.

Genotipo	Puntajes de daño	Ninfas/hoja 30 DDS <sup>1</sup>	Rendimiento (kg/ha)		Pérdida de rendimiento (%)	Índice de susceptibilidad
			Sin protección	Con protección		
BAT41 <sup>2</sup>	9.0	6.8	176	663	74.4	1.86
Promedio líneas FEB	6.8	8.4	614	1111	45.5	1.13
EMP250	7.0	8.4	765	1123	32.6	0.90
Promedio líneas con resistencia múltiple	6.6	6.8	650	886	27.7	0.90
Carioca	7.6	5.8	611	811	25.3	0.90
ICA Pijao <sup>3</sup>	7.0	10.2	731	931	22.7	0.79
Promedio testigos <i>Empoasca</i>	6.4	7.3	773	922	17.3	0.70
DMS, 5%	0.45	2.9	105.5	405.7		

<sup>1</sup> DDS, días después de la siembra.

<sup>2</sup> Testigo susceptible.

<sup>3</sup> Testigo tolerante.

## Resistencia a *Zabrotes*

La identificación de la arcelina como marcador bioquímico para la selección de progenies con resistencia a *Z. subfasciatus* ha facilitado considerablemente la incorporación de este carácter en todas las clases de frijol cultivado. Al emplear progenitores y retrocruzas donantes de arcelina-1 con el progenitor cultivado, se pudo generar una serie de líneas RAZ que han mostrado niveles altos de resistencia a este insecto. En 2002, se identificaron varias líneas mejoradas andinas con niveles altos de resistencia a *Zabrotes*. Las mejores líneas se enumeran en el Cuadro 20.

**Cuadro 20.** Mejores niveles de resistencia a *Zabrotes subfasciatus* en líneas derivadas de retrocruzas con progenitores donantes de arcelina-1.

Código	Línea genealógica	Color	Emergencia (%)	Días a la emergencia de adultos	Is <sup>1</sup>
GR 96	BRB 11 x RAZ 58	8	2.8	58.1	-0.7
GR 102	MCR 2002 x RAZ 60	6	4.9	56.6	-0.1
GR 51	CAL131 [CALI31 (RAZ24-5 x CALI 13)]	6m	3.4	61.4	-0.1
GR 65	EMP221 [EMP221 (RAZ3 x EMP221)]	2r	4.4	57.9	0.4
GR 71-1	BAN66 [BAN66 (RAZ1 x BAN66)]	2	1.7	55.4	-1.8
GR 38	AFR576 [AFR576 (RAZ1 x AND885)]	6	4.7	62.4	0.4
GR 71-2	BAN66 [BAN66 (RAZ1 x BAN66)]	2	2.2	56.4	-0.8
GR 109-2	(AFR 645 x AFR 639) x (CAL 151 x RAZ 13-6)	7j,2j	2.4	59.3	-0.6
RAZ36	Testigo resistente	1	1.2	61.4	-1.9
ICA Pijao	Testigo susceptible	8	97.8	35.5	8.8

<sup>1</sup> Índice de susceptibilidad: (progenie ln por hembra/días a la emergencia de adultos) x 100.

Además, se seleccionaron nuevas progenies altamente resistentes derivadas de retrocruzas con Talamanca y Calima. Las mejores progenies se detallan en el Cuadro 21.

**Cuadro 21.** Mejores niveles de resistencia a *Zabrotes subfasciatus* en líneas derivadas de retrocruzas con Talamanca (código GG 564) y Calima (código GG 566), empleando G 02771 (arcelina-5) como progenitor donante.

Identificación	Emergencia (%)	Días a la emergencia de adultos	Is <sup>1</sup>
GG 564-2-CM-CM-CM-CM-CM( 1)	0.0	N.E <sup>2</sup> .	0
GG 564-2-CM-CM-CM-CM-CM(2)	1.3	74.3	-1.4
GG 564-2-CM-CM-CM-CM-CM(3)	1.1	71.9	-1.9
GG 5 64-2-CM-CM-CM-CM-CM(4)	0.4	74.5	-3.3
GG 564-2-CM-CM-CM-CM-CM(5)	1.5	78.7	-1.4
GG 564-2-CM-CM-CM-CM-CM(6)	2.2	77.7	-1.2
GG 5 64-2-CM-CM-CM-CM-CM(7)	0.1	89.0	-0.4
GG 564-2-CM-CM-CM-CM-CM(8)	1.9	72.0	-1.5
GG 564-6-CM-CM-CM-CM-CM	0.7	70.0	-2.8
GG 566-3-CM-CM-CM-CM-CM	18.6	59.6	2.6
G02771 ARC 5 (progenitor donante)	0.8	49.0	-3.3
RAZ 44 (testigo resistente)	1.2	63.0	-2.4
ICA Pijao (testigo susceptible)	96.3	37.8	8.2

<sup>1</sup> Índice de susceptibilidad: (progenie ln por hembra/días a la emergencia de adultos) x 100

<sup>2</sup> Ninguna emergencia.

### Actividad 1.1.3 Desarrollo de líneas de valor comercial con caracteres múltiples

#### Aspectos destacados:

- Se lograron avances en el desarrollo de marcadores moleculares respecto a la resistencia a *Apion godmani* y a *Zabrotes subfasciatus*.

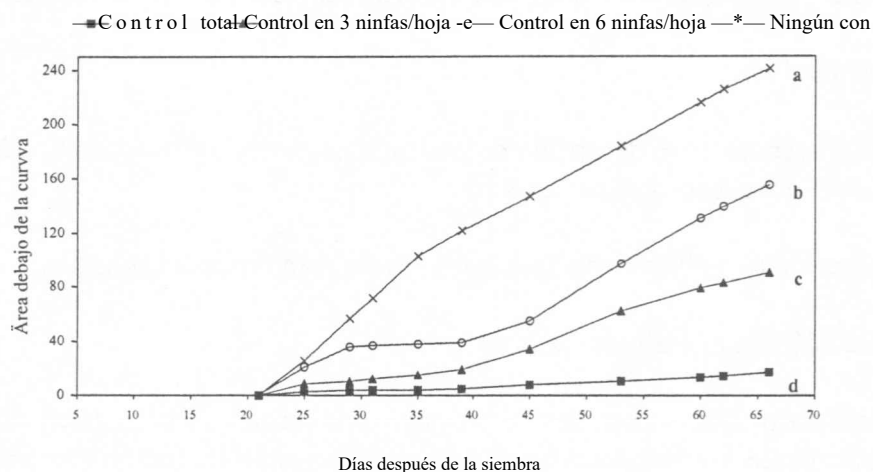
#### 1.1.3.1 Evaluación de poblaciones, familias y líneas para factores múltiples

#### 1.1.3.2 Evaluación de líneas para *Empoasca*

En 2002, se evaluaron 406 accesiones de germoplasma respecto a su resistencia a *Empoasca kraemeri*. Igualmente, las 169 accesiones seleccionadas en 2001 fueron nuevamente evaluadas en viveros con repeticiones en 2002. De estas accesiones, se seleccionó un grupo de 86 genotipos para ensayos adicionales y selección final. El proyecto también apoyó las actividades de mejoramiento del Proyecto de Frijol mediante la evaluación de una serie de viveros que incluyeron 33 selecciones F5 de la craza EMP 250 x PVA 773 y 26 selecciones F5 de la craza EMP 250 x CAL 143. Cuando estos materiales se evaluaron en la generación F<sub>0</sub>, se realizaron 111 selecciones de plantas individuales, las cuales están siendo evaluadas actualmente. También se evaluaron 3 cruzas que no presentaron buen desempeño respecto a resistencia combinada a brúchidos y a saltahojas, al igual que 38 líneas F<sub>5</sub> derivadas de cruzas andinas que no tuvieron un buen desempeño en condiciones de ataque severo de saltahojas. Se evaluó un grupo de 24 variedades colombianas. Ninguna presentó resistencia. De los 287 genotipos incluidos en el VEF, 20 líneas (11 derivadas de la craza entre BM 12722 y 9 líneas EMP) mostraron los niveles más altos de resistencia al saltahojas.

En la continuación de los estudios que buscaban cuantificar los avances logrados en cuanto a tolerancia a *E. kraemeri*, se midieron las respuestas de rendimiento de líneas EMP tolerantes seleccionadas y testigos susceptibles y tolerantes frente a niveles crecientes de infestación. Empleando el umbral de acción establecido con anterioridad para el control del saltahojas, se estableció un ensayo en el cual se utilizó el control químico a niveles variables de infestación. Como resultado, se obtuvo un gradiente de infestación (Figura 1) que permitió medir las respuestas de rendimiento a diferentes niveles de infestación.

Como se observa en el Cuadro 22, no todas las líneas EMP presentaron buen desempeño. En consecuencia, EMP 508, EMP 542 y EMP 588, junto con el testigo tolerante, ICA Pijao, sufrieron pérdidas significativas cuando los niveles de infestación estacional aumentaron de 0.4 ninfas por hoja a 1.8 ninfas por hoja. Por el contrario, EMP 574, EMP 250 y EMP 502 pudieron tolerar un promedio estacional de 3.2 ninfas/hoja. Estas tres líneas superaron en rendimiento a todas las demás y presentaron reducciones significativas de rendimiento solamente cuando la infestación estacional promedia fue muy alta (5.5 ninfas por hoja). Esto significa que cuando las infestaciones son muy altas y se extienden a lo largo del ciclo del cultivo, los materiales tolerantes se benefician de la integración que se hace con el control químico aplicado en umbrales preestablecidos de acción.



**Figura 1.** Área debajo de la curva para las ninfas de saltahojas a partir del control químico a diferentes niveles de población. Las líneas seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes a nivel del 5% (DMS).

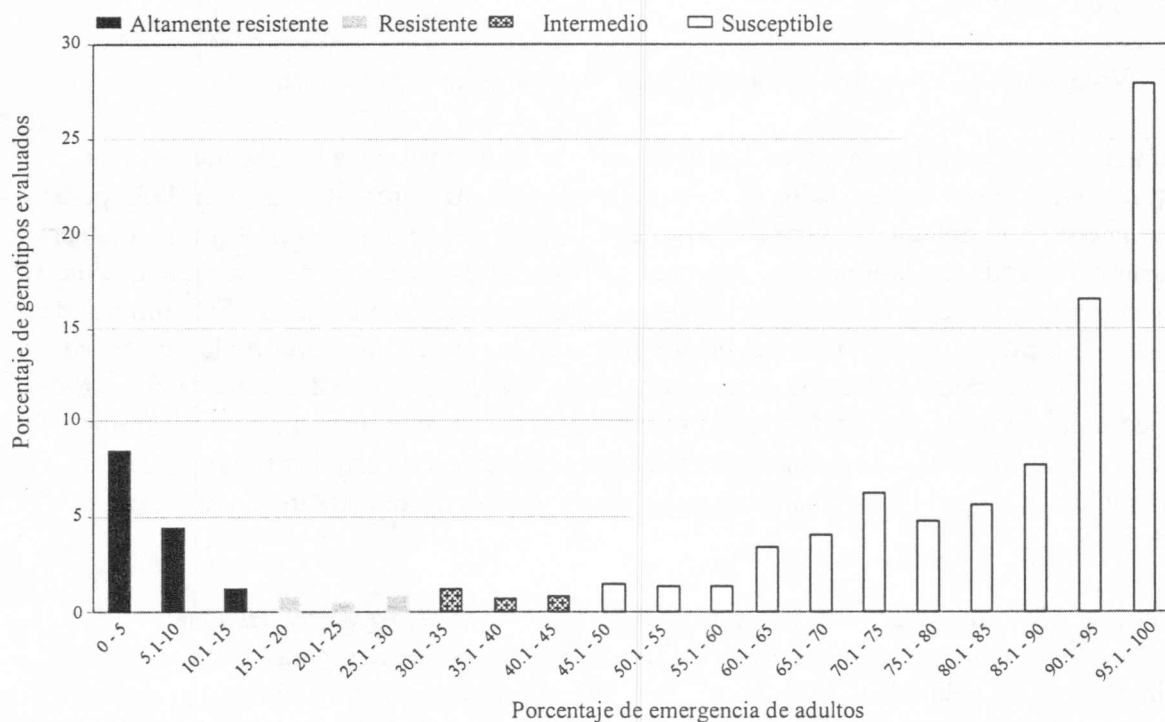
**Cuadro 22.** Rendimientos de frijol seco de genotipos seleccionados expuestos a diferentes regímenes de control químico de *Empoasca kraemeri*.

Genotipos	Control total (0.4 ninfas/hoja, promedio estacional)	Control a 3 ninfas/hoja (1.8 ninfas/hoja, promedio estacional)	Control a 6 ninfas/hoja (3.2 ninfas/hoja, promedio estacional)	Ningún control (5.5 ninfas/hoja, promedio estacional)
EMP508	2416aA*	1716aB	1197aC	764aD
ICA Pijao	2241aA	1646aB	1325aB	725aC
EMP542	2012aA	1909aAB	1507aB	765aC
EMP588	1984bA	1270bB	1355aB	750aC
EMP544	1843bA	1763aA	1346aB	788aC
EMP574	1730bA	1767aA	1436aA	948aB
EMP250	1610bA	1410bA	1227aA	732aB
EMP502	1406cA	1253bA	1027abA	455bB
BAT41	1281cA	1205bA	700bB	235bC
EMP124	1204cA	890cA	792bB	273bC

<sup>1</sup> Promedios en la misma columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes al nivel de 5% (DMS). Para cada genotipo, los promedios en la misma fila seguidos de la misma letra mayúscula no son significativamente diferentes a nivel de 5% por DMS.

### 1.1.3.3 Desarrollo de un marcador molecular para arcelina

La arcelina puede detectarse mediante electroforesis DSS-PAGE y pruebas serológicas. El empleo de estas técnicas bioquímicas para detectar la presencia de arcelina en poblaciones segregantes ha facilitado enormemente el desarrollo de líneas con resistencia a *Z. subfasciatus*. En 2002, se inició un nuevo proyecto con miras a desarrollar un marcador molecular para arcelina. Se realizaron cruza sencillas y múltiples empleando RAZ 44 y RAZ 105 (ambas con arcelina-1) como progenitores donantes. Las poblaciones segregantes F<sub>5</sub> y F<sub>6</sub> que resultaron se están empleando para desarrollar microsátelites (ver detalles en el informe del proyecto SB-2 del CIAT). Simultáneamente, se evaluaron 854 progenies de 29 cruza diferentes respecto a su resistencia a *Z. subfasciatus* con el fin de obtener datos fenológicos sobre su desempeño. Se detectó una gama de respuestas al ataque de *Z. subfasciatus*, que fluctuaban desde una gran resistencia hasta la susceptibilidad (Figura 2). Esta variabilidad debe facilitar la identificación de marcadores capaces de identificar aquellos materiales que portan el gen de la arcelina.



**Figura 2.** Distribución de la frecuencia de respuesta a *Zabrotes subfasciatus* en 854 progenies de frijol evaluados en cuanto a su resistencia.

## Actividades adicionales no financiadas por PROFRIJOL

### Actividad 1.1.4 Desarrollo de componentes de Manejo Integrado de Plagas (MIP)

#### Aspectos destacados:

- Se validó el umbral de acción para el manejo de la mosca blanca, *Trialeurodes vaporariorum*, en habichuela.
- Se hizo seguimiento de los cambios en la composición de especies y biotipos de mosca blanca.
- Se identificaron los niveles de resistencia a insecticidas en poblaciones de mosca blanca (*I vaporariorum*) y tisanópteros (*Thrips palmi*) en Colombia y Ecuador.
- Se desarrollaron componentes de MIP y se evaluaron estrategias de manejo para la mosca blanca en Colombia.

#### 1.1.4.1 Validación de un umbral de acción para *Trialeurodes vaporariorum*

**Justificación:** El control químico es aún es el método de control de la mosca blanca más ampliamente usado por los agricultores en América Latina. Un umbral de acción (UA) para el control de la mosca blanca desarrollado por el CI AT en años anteriores ha demostrado ser una herramienta útil para la toma de decisiones respecto al uso racional de insecticidas y un componente importante en el desarrollo de estrategias de manejo de la plaga. Este umbral de acción (nivel 3, presencia de ninfas del primer instar en las partes inferiores de la planta) se basa en un cálculo visual de las poblaciones de mosca blanca en diferentes etapas del ciclo de crecimiento del cultivo. A medida que los umbrales de acción cambian con el tiempo por diversas razones, ahora nos hemos adentrado en la revalidación de este instrumento de manejo con el fin de garantizar que las recomendaciones futuras tengan una base científica acertada y sólida.

**Materiales y Métodos:** Para validar el umbral de acción para *T. vaporariorum* en habichuela, empleamos un diseño de cuadrado latino de 5 x 5. Se compararon los siguientes tratamientos: (1) la aplicación de un insecticida nuevo (imidacloprid) en el nivel 3; es decir, cuando las ninfas de primer instar aparecen primero en la parte inferior de la planta; (2) la aplicación de insecticidas convencionales en el nivel 3; (3) la aplicación de imidacloprid en el nivel 5 (producción temprana de fumagina); (4) la aplicación de insecticidas convencionales en el nivel 5; y (5) testigo (sin tratar). Se registraron y analizaron las poblaciones de insectos, los niveles de daño, los rendimientos y los costos.

**Resultados y Discusión:** Todos los tratamientos químicos protegieron el cultivo de tal manera que las diferencias con el testigo absoluto fueron altas y significativas en función de los rendimientos y los aumentos del rendimiento. Evidentemente, se obtuvieron los mayores

aumentos del rendimiento cuando se aplicaron productos químicos (nuevos o convencionales) en el nivel 3, cuando las ninfas de primer instar aparecen en la parte inferior de la planta (Cuadro 23). Esto significa que el UA establecido en años anteriores aún es válido y apropiado para racionalizar el uso de productos químicos contra *I vaporariorum*.

Cuadro 23. Efecto de cinco estrategias de manejo de mosca blanca, *Trialeurodes vaporariorum*, en el rendimiento de la habichuela.

Tratamiento <sup>1</sup>	No. de aplicaciones	Rendimiento (kg/ha)	Porcentaje de aumento en el rendimiento <sup>2</sup>
Aplicación de imidacloprid, nivel 3	3	15865a <sup>3</sup>	29.2
Aplicación de insecticidas convencionales, nivel 3	5	15728a	28.1
Aplicación de imidacloprid, nivel 5	2	15326a	24.8
Aplicación de insecticidas convencionales, nivel 5	2	13454b	9.6
Testigo (sin control)	0	12276b	-
C.V. (%) <sup>4</sup>		8.9 %	

<sup>1</sup> Nivel 3, ninfas de primer instar presentes en la parte inferior de la planta; nivel 5, producción temprana de fumagina.

<sup>2</sup> En relación con el testigo sin tratar.

<sup>3</sup> Promedios de la misma columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes al nivel de 5%, por DMS.

<sup>4</sup> Coeficiente de varianza.

# CIAT

## PLAN OPERATIVO ANUAL 2002-2003

**PROYECTO 1.** MEJORAMIENTO DE FRIJOL MESOAMERICANO

**SUBPROYECTO 1.3.** Tolerancia a estrés abiótico, negros y rojos

**RESPONSABLE:** Idupulapati Rao

**RESULTADO R.1.** Se han desarrollado variedades, líneas y poblaciones de frijol mesoamericano de valor comercial, con resistencia a mosaico común, mosaico dorado, bacteriosis común, más un factor adicional (*Apion*, *Empoasca*, mancha angular, antracnosis, FBN, baja fertilidad, sequía o altas temperaturas).

ACTIVIDADES S.1.3	METAS	PRESUPUESTO
1.3.1 Estudio fisiológico de tolerancia a baja fertilidad	6 parámetros medidos en 36 genotipos en 2 sitios para buscar índices de selección para evaluar tolerancia a baja fertilidad (2 ensayos)	US \$ 6,500
1.3.2 Estudio fisiológico de tolerancia a sequía	5 parámetros medidos en 36 genotipos para buscar índices de selección para evaluar tolerancia a sequía (1 ensayo)	US \$ 4,500
<b>PRESUPUESTO TOTAL S.1.3</b>		<b>US \$ 11,000</b>

### Actividad 1.3.1 Estudio fisiológico de tolerancia a baja fertilidad

#### Aspectos destacados:

- Una raza nativa (G 21212) fue sobresaliente en su adaptación al estrés de suelos ácidos y este desempeño estuvo relacionado con una mayor capacidad de llenado del grano pertinente a condiciones de ausencia de estrés.
- Se desarrolló un procedimiento de selección para evaluar la variación genotípica en la resistencia al Al en frijol y se encontró que un genotipo andino, G 5273, fue sobresaliente en su nivel de resistencia al Al con base en el crecimiento relativo por elongación de la raíz.
- Dos líneas mejoradas (IPA 7 y MAM 38) y dos accesiones de germoplasma (G 1977 y G 21212) fueron superiores por su tolerancia al bajo suministro de P en el suelo y, de los cuatro genotipos, G 21212 e IPA 7 fueron sobresalientes en su capacidad para utilizar el fósforo y el nitrógeno para la producción de grano.
- Dos accesiones de *P. acutifolius* (G 40068 y G 40159) y una línea mejorada (RAJB 650) fueron sobresalientes en su adaptación a condiciones de estrés por déficit hídrico. El desempeño superior de estos tres genotipos en condiciones de sequía estuvo asociado con mayores niveles de carbohidratos no estructurados en el tejido de los brotes en la etapa media del llenado de las vainas y el uso eficiente del nitrógeno y el fósforo adquiridos para la producción de grano.

#### 1.3.1.1 Identificación de caracteres asociados con la tolerancia de suelos ácidos

**Justificación:** Se continuaron los estudios de campo en Quilichao (990 m.s.n.m.; Oxisol-Plinthic Kandiodox) para identificar los genotipos con resistencia al Al. La toxicidad de Al en los subsuelos es un problema grave y la enmienda del subsuelo con cal no solamente es difícil sino también prohibitivamente costosa para los agricultores de escasos recursos. El año pasado presentamos los resultados de un ensayo de campo sobre las diferencias genotípicas de 49 genotipos respecto a su adaptación a suelos con niveles tóxicos de Al. Con base en la evaluación de estos 49 genotipos en condiciones de suelos ácidos con niveles tóxicos de Al, se reunió un grupo más pequeño de 36 genotipos para evaluar. Este año presentamos los resultados obtenidos con estos 36 genotipos respecto a su adaptación a condiciones de suelo con niveles tóxicos de Al. Este grupo de 36 materiales incluía varios progenitores que se usaron para generar líneas endogámicas recombinantes (LER). Estas LER son especialmente útiles para identificar los QTL involucrados en la adaptación a suelos ácidos. Las diferencias genotípicas en el rendimiento de semilla en suelos con niveles tóxicos de Al podrían relacionarse con las diferencias en la resistencia al Al, la adquisición de nutrimentos y el uso de los mismos para el transporte de fotoasimilados hacia las semillas en desarrollo.

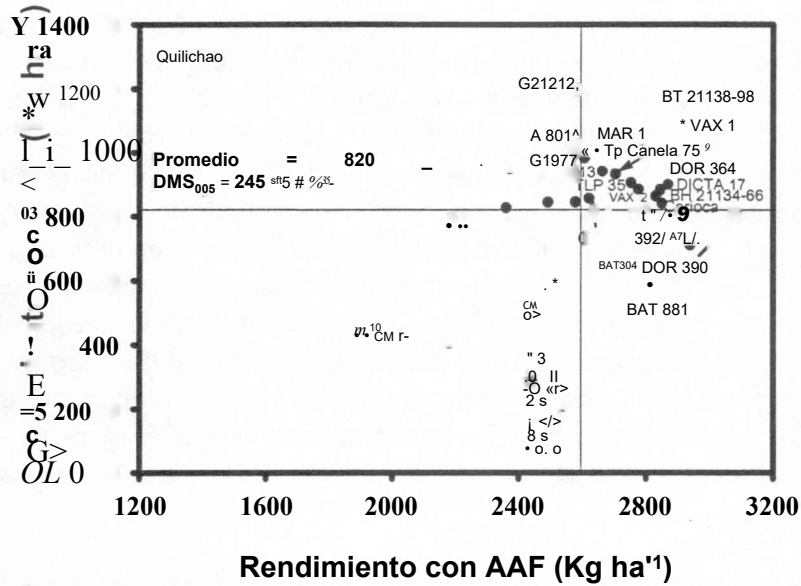
**Materiales y métodos:** *Quilichao*. Se evaluó un grupo de 36 genotipos, que incluía accesiones de germoplasma y líneas mejoradas, en condiciones de campo para identificar los atributos de la planta para la adaptación a condiciones de suelos ácidos con baja fertilidad. Se aplicaron dos niveles de fertilizante (alto y bajo). En las parcelas con alta aplicación de fertilizante (AAF) se aplicó P en bandas (58 kg/ha) a razón de 885 kg/ha de N<sup>2</sup>OsiK<sup>2</sup>O (15:15:15). En las parcelas con baja aplicación de fertilizante (BAF) se aplicó P en bandas (15 kg/ha), a razón de 229 kg/ha de N:P205K20(15:15:15). Se utilizó un diseño de látice parcialmente equilibrado de 6 x 6, con 3 repeticiones. Los datos de caracterización de los suelos (a los 37 días de la siembra) de las parcelas con BAF presentaron valores inferiores de pH del suelo (de 4.2 a 4.4) con niveles tóxicos de Al intercambiable (de 3.3 a 4.5 cmol kg<sup>-1</sup> de suelo) y baja disponibilidad de P (de 3.4 a 6.7 mg kg<sup>-1</sup> de suelo; Bray II), Ca (de 1.7 a 2.4 cmol kg<sup>-1</sup>) y Mg (de 0.5 a 0.65 cmol kg<sup>-1</sup>), en tanto que la disponibilidad de K fue adecuada para el crecimiento y desarrollo de las plantas. En las parcelas con AAF, el Al intercambiable fue de menos de 0.8 cmol kg<sup>-1</sup> y el Mn estuvo por debajo de 7 mg kg<sup>-1</sup>, en tanto que la oferta de nutrimentos esenciales fue adecuada. Se midieron varios atributos de la planta en la etapa media del llenado de las vainas para determinar la variación genotípica en la tolerancia a niveles tóxicos de Al en el suelo. Estos caracteres de las plantas incluyeron el índice de área foliar, el peso seco de la parte aérea por planta y la absorción de nutrimentos (N, P, K, Ca y Mg) en los brotes. En el momento de la cosecha, se determinaron el rendimiento de grano y los componentes del rendimiento (número de vainas por planta, número de semillas por vaina, peso de 100 granos). También se determinaron los niveles de CTN (carbohidratos totales no estructurados) en los brotes y en la semilla, al igual que los contenidos de N y P en la semilla. El índice de llenado del grano se calculó como el peso de 100 granos en condiciones de temporal/peso de 100 granos en condiciones de riego x 100. Esta medida indica el grado de movilización de fotosintatos en condiciones marcadas de estrés.

**Resultados y discusión:** Durante el ciclo de cultivo, las temperaturas máxima y mínima del aire fueron 29.7 y 18.9°C, respectivamente, en tanto que la radiación solar incidente varió entre 5.3 y 22.9 MJ m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>. La precipitación total durante el ciclo activo de cultivo fue de 248.0 mm. La evaporación potencial en bandeja fue de 333.1 mm. Estas condiciones climáticas favorecieron el crecimiento adecuado de las plantas con el tratamiento AAF. Entre los 36 genotipos evaluados, se encontró que una raza nativa (G 21212) y una línea mejorada (BT 21138-98) sobresalieron por su adaptación a condiciones de suelo ácido (Cuadro 24; Figura 3). Con el tratamiento BAF, el rendimiento de grano varió de 68 a 1194 kg/ha, en tanto que con el tratamiento AAF el rango estuvo entre 1451 y 3114 kg/ha. La relación entre el rendimiento de grano con BAF y el rendimiento de grano con AAF indicó que las líneas mejoradas BT 21138-98 y VAX 1 se adaptaron mejor a ambas tasa de aplicación de fertilizante (baja y alta) (Figura 4). Varias líneas mejoradas (VAX 1, DOR 390, BAT 477) respondieron al tratamiento AAF.

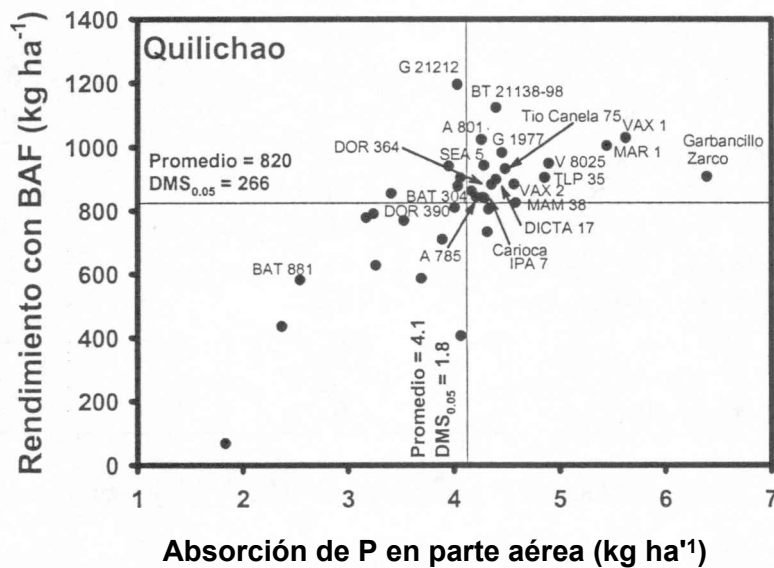
**Cuadro 24.** Influencia del estrés de suelo ácido en el rendimiento de grano e índice de área foliar de 36 genotipos evaluados en un Oxisol en Quilichao.

Línea accesión	Rendimiento de grano (kg/ha)		Índice de área foliar (m <sup>2</sup> /m <sup>2</sup> )	
	AAF	BAF	AAF	BAF
G 21212	2577	1194	2.04	1.50
BT 21138-98	2925	1122	1.93	1.30
VAX 1	3106	1028	3.96	1.75
A 801	2578	1023	2.49	1.24
MAR 1	2701	1003	2.21	1.67
G 1977	2606	981	2.60	1.49
V 8025	2373	948	3.09	1.65
SEA 5	2154	942	2.17	0.84
G 3513	2663	940	2.59	1.03
TIO CANELA 75	2705	931	2.55	1.46
GARB. ZARCO	2307	907	3.34	1.25
TLP35	2753	904	2.62	1.16
VAX 6	2516	903	2.09	0.89
DOR 364	2871	897	2.90	1.63
VAX 2	2777	883	3.39	1.42
DICTA 17	2845	882	1.89	1.37
BAT 304	2831	861	2.26	0.81
G 92	2620	854	2.48	1.15
BH 21134-66	2845	848	2.37	1.35
IPA 7	2493	- 843	2.19	1.35
A 785	2578	843	1.76	1.28
CARIOCA	2851	839	2.48	0.99
MAM 38	2361	825	2.41	1.27
DOR 390	3081	809	2.05	1.25
A 774	2911	804	1.82	1.22
G 19227 <sup>a</sup>	2189	790	2.71	1.29
TLP 34	2372	777	3.26	1.36
G 18479	2418	768	2.97	1.11
BAT 477	3114	733	2.95	1.43
FEB 192	2939	709	1.91	0.72
AFR 699	2507	628	2.69	0.79
SAM 3	2387	587	2.00	1.15
BAT 881	2822	581	2.19	0.89
ICA QUIMBA YA	1900	434	1.49	0.36
VELAZCO LARGO	2183	405	0.97	0.35
G19842	1451	68	3.39	0.89
<b>Promedio</b>	<b>2592</b>	<b>820</b>	<b>2.45</b>	<b>1.2</b>
<b>CV (%)</b>	<b>11</b>	<b>17</b>	<b>26</b>	<b>24</b>
<b>DMS (0.05)</b>	<b>467</b>	<b>245</b>	<b>1.05</b>	<b>0.50</b>

BAF = Baja aplicación de fertilizante; AAF = alta aplicación de fertilizante



**Figura 3.** Identificación de genotipos adaptados a estrés de suelos ácidos con respuesta a la aplicación de altas cantidades de fertilizantes en un Oxisol de Quilichao. Los genotipos que rindieron más con baja aplicación de fertilizante (BAF) y también respondieron a la alta aplicación de fertilizante (AAF) fueron identificados en el recuadro superior derecho.



**Figura 4.** Identificación de genotipos que combinan mayor rendimiento de semilla con mayor absorción de P en el tejido de la parte aérea en mitad del llenado de vainas, cuando crece con baja aplicación de fertilizante (BAF) en un Oxisol en Quilichao. Los genotipos con mayor rendimiento de grano y absorción de P en la parte aérea fueron identificados en el recuadro superior derecho.

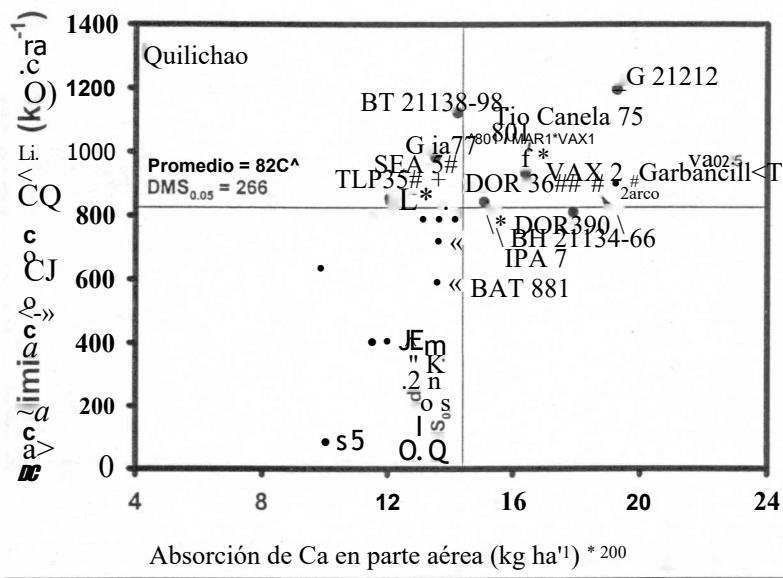
El desempeño superior de varias líneas mejoradas y accesiones de germoplasma con el tratamiento BAF (estrés de suelos ácidos) se asoció positivamente con su capacidad para adquirir mayores cantidades de nutrimentos (Cuadro 25; Figuras 4 y 5). El desempeño sobresaliente de G 21212 y de la línea mejorada BT 21138-98 se asoció con el mayor contenido de Mg en los brotes en la etapa media del llenado de las vainas (Figura 6). Varios materiales cuyo desempeño fue superior con el tratamiento BAF presentaron mayores contenidos de CTN en los brotes y en la semilla (Figuras 7 y 8). Con el tratamiento BAF se observó una relación negativa significativa entre el rendimiento de semilla y los contenidos de N (proteína) y de P en la semilla (Cuadro 25). Una de las líneas mejoradas, MAR 1, combinó mayores rendimientos con alto contenido de N en la semilla con el tratamiento BAF (Figura 9). Varias líneas mejoradas y accesiones de germoplasma combinaron mayor eficiencia de uso de N con mayor eficiencia de uso de P con el tratamiento BAF (Figura 10). Fueron especialmente sobresalientes los materiales TLP 34 y G 21212 respecto a esta capacidad.

**Cuadro 25.** Coeficientes de correlación (r) entre el rendimiento de grano (kg/ha) y otros atributos de la planta en mitad del llenado de vainas de 36 genotipos de frijol común que creció con baja aplicación de fertilizante (BAF) O alta aplicación de fertilizante (AAF) en un Oxisol de Quilichao.

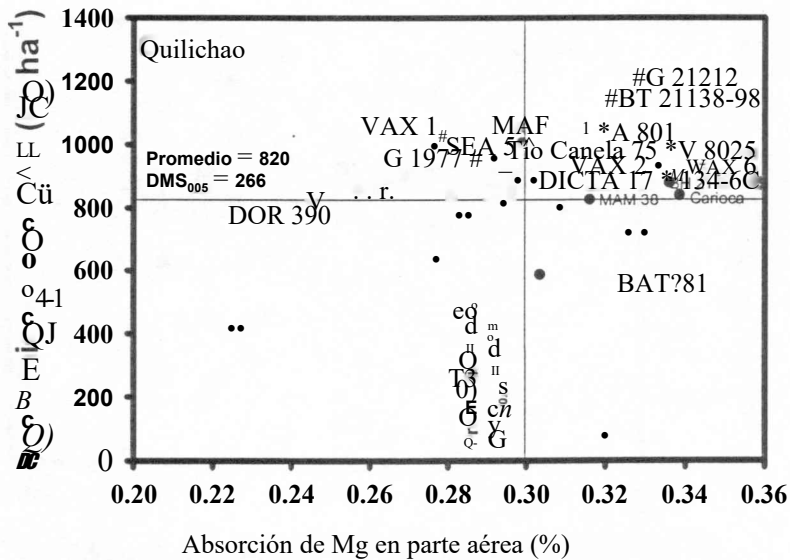
Caracteres de la planta	BAF	AAF
Biomasa aérea	0.60***	0.26**
Biomasa de tallos	0.41***	0.08
Biomasa de vainas	0.52***	0.32**
Absorción en la parte aérea de N	0.53***	0.16
Absorción en la parte aérea de P	0.53***	0.23*
Absorción en la parte aérea de K	0.61***	0.18
Absorción en la parte aérea de Ca	0.39***	0.06
Absorción en la parte aérea de Mg	0.63***	0.22*
Contenido de CTN en parte aérea	0.07	0.13
Contenido de N en semilla	-0.24*	-0.09
Contenido de P en semilla	-0.27**	-0.08
Contenido de CTN en semilla	-0.07	-0.13

\*, \*\*, \*\*\* Significante a los niveles de probabilidad de 0.05, 0.01 y 0.001, respectivamente.

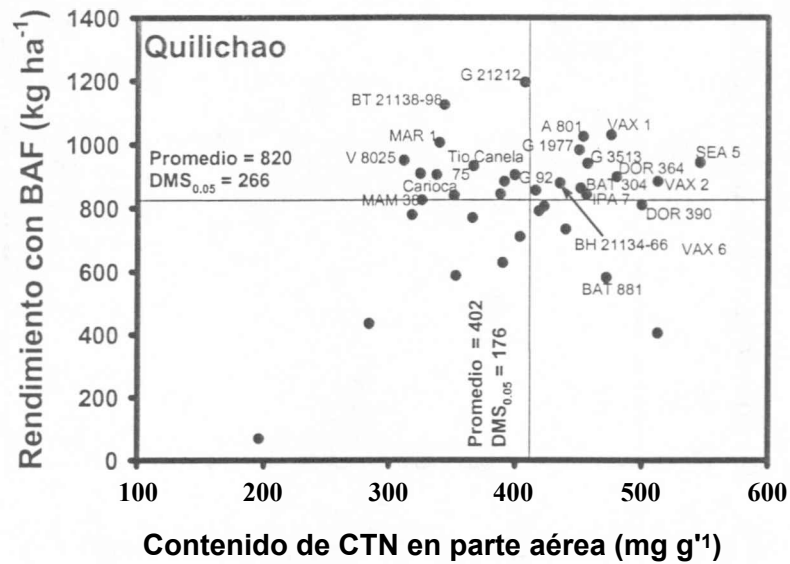
Es importante destacar que el desempeño sobresaliente de G 21212 en condiciones de suelo ácido, con el tratamiento BAF, se asoció con su capacidad de llenado de grano en condiciones de estrés (Figura 11). El índice de llenado de grano, que es una medida del llenado de grano en relación con condiciones de ausencia de estrés, fue manifiestamente mayor en varias líneas mejoradas.



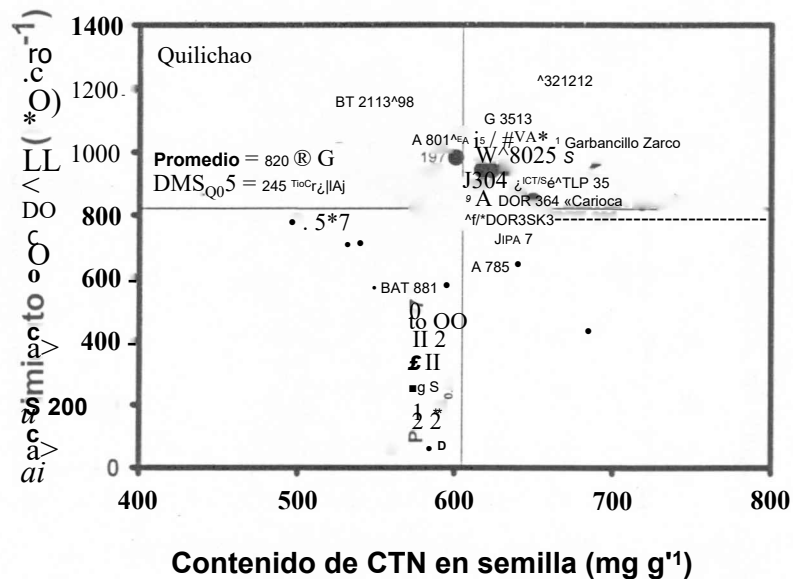
**Figura 5.** Identificación de genotipos que combinan mayor rendimiento de semilla con mayor absorción de Ca en el tejido de la parte aérea en mitad del llenado de vainas, cuando crece con baja aplicación de fertilizante (BAF) en un Oxisol en Quilichao. Los genotipos con mayor rendimiento de grano y absorción de Ca en la parte aérea fueron identificados en el recuadro superior derecho.



**Figura 6.** Identificación de genotipos que combinan mayor rendimiento de semilla con mayor absorción de Mg en el tejido de la parte aérea en mitad del llenado de vainas, cuando crece con baja aplicación de fertilizante (BAF) en un Oxisol en Quilichao. Los genotipos con mayor rendimiento de grano y absorción de Mg en la parte aérea fueron identificados en el recuadro superior derecho.



**Figura 7.** Identificación de genotipos que combinan mayor rendimiento de semilla con mayor contenido de carbohidratos totales no estructurales (CTN) en el tejido de la parte aérea, cuando crecen con baja aplicación de fertilizante (BAF) en un Oxisol en Quilichao. Los genotipos con mayor rendimiento de grano y contenido de CTN en la parte aérea fueron identificados en el recuadro superior derecho.



**Figura 8.** Identificación de genotipos que combinan mayor rendimiento de semilla con mayor contenido de carbohidratos totales no estructurales (CTN) en la semilla, cuando crecen con baja aplicación de fertilizante (BAF) en un Oxisol en Quilichao. Los genotipos con mayor rendimiento de grano y contenido de CTN en la semilla fueron identificados en el recuadro superior derecho.

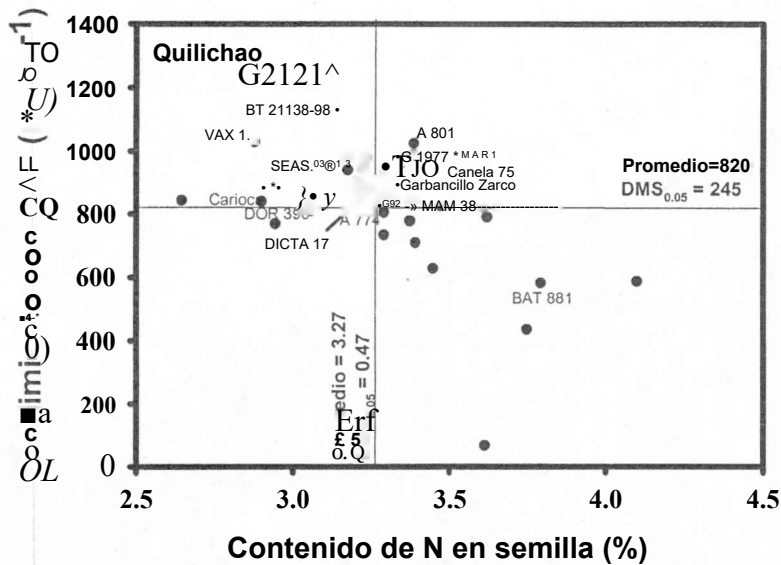


Figura 9. Identificación de genotipos que combinan mayor rendimiento de semilla con mayor contenido de N en la semilla, cuando crecen con baja aplicación de fertilizante (BAF) en un Oxisol en Quilichao. Los genotipos con mayor rendimiento de grano y contenido de N en la semilla fueron identificados en el recuadro superior derecho.

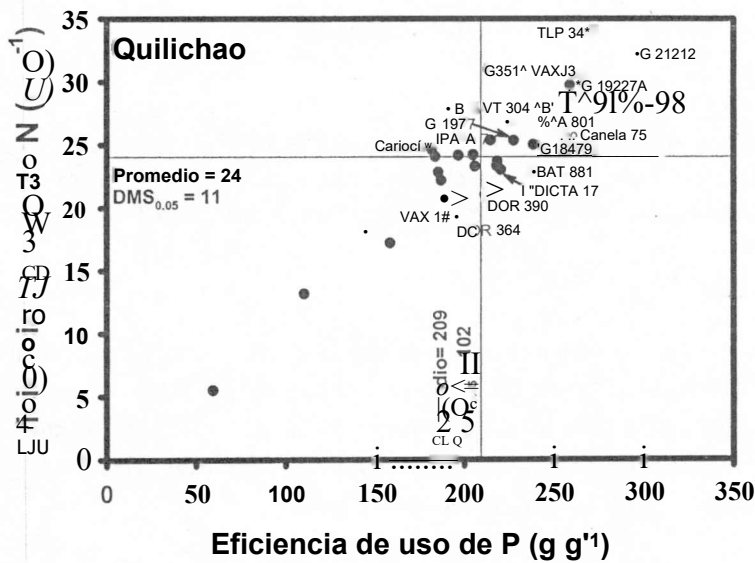
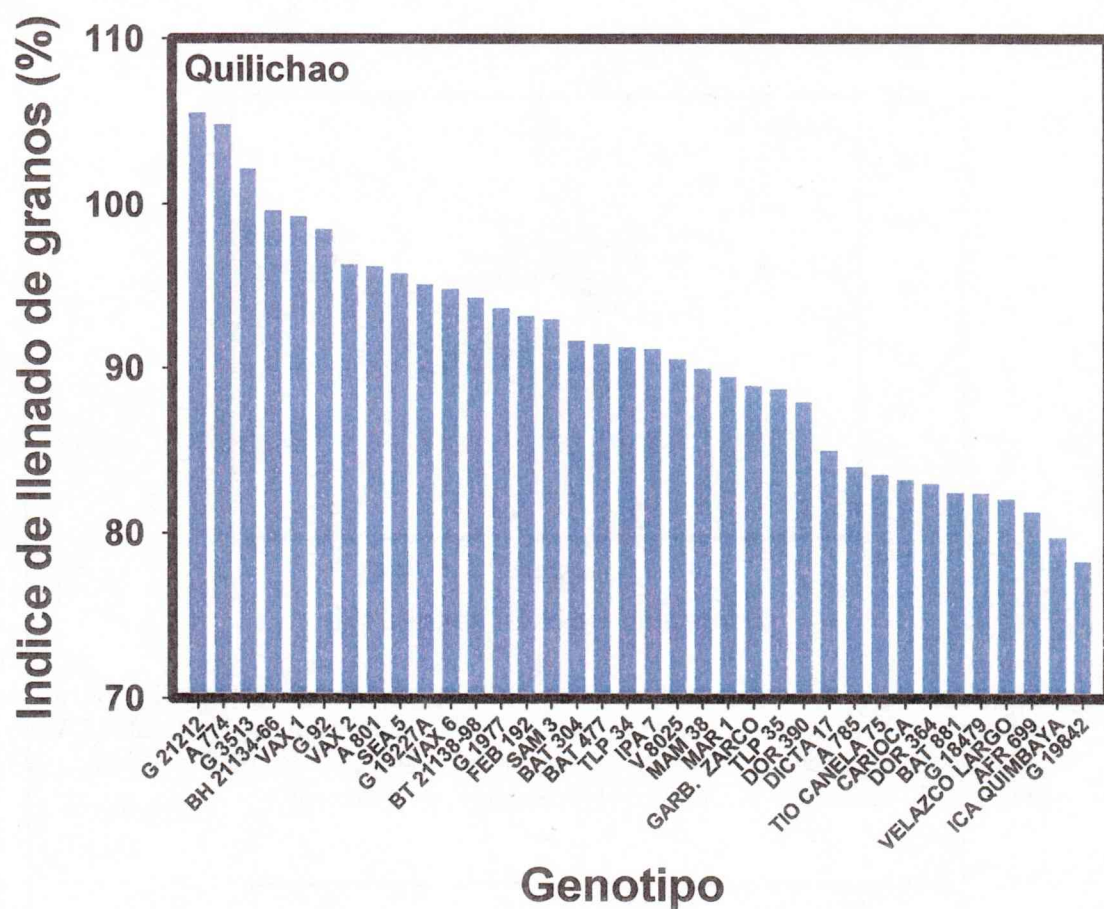


Figura 10. Identificación de genotipos que combinan mayores eficiencias de uso de N y P, cuando crecen con baja aplicación de fertilizante (BAF) en un Oxisol en Quilichao. Los genotipos con mayores eficiencias de uso de N y P fueron identificados en el recuadro superior derecho.



**Figura 11.** Diferencias en el índice de llenado de granos de 36 genotipos de frijol común que creció con baja aplicación de fertilizante (BAF) o alta aplicación de fertilizante (AAF) en un Oxisol en Quilichao. Índice de llenado de granos = peso de 100 semillas de BAF/ AAF x 100.

Los coeficientes de correlación entre el rendimiento final de grano y otros atributos de la planta indicaron que la producción de biomasa del tallo y de las vainas y la absorción de nutrimentos estaban altamente relacionadas con el rendimiento de semilla del tratamiento BAF (Cuadro 25). El rendimiento de semilla mostró una marcada relación negativa con los contenidos de P y N en la semilla, en el tratamiento BAF.

**Conclusiones:** Los resultados de este estudio de campo en un suelo ácido en Quilichao indican que una raza nativa (G 21212) fue sobresaliente por su adaptación a estrés de suelos ácidos y que esta característica estuvo relacionada con una mayor capacidad de llenado de grano en condiciones de ausencia de estrés.

### 1.3.1.2 Selección de genotipos de frijol respecto a la resistencia a aluminio

**Justificación:** Este año logramos avances en desarrollar un método de selección en invernadero, empleando una solución nutritiva de baja concentración iónica, para evaluar los genotipos de frijol respecto a la resistencia al aluminio (Al). Una metodología de selección rápida y confiable es un inconveniente de tipo práctico en el mejoramiento de cultivares de frijol con resistencia al Al. La selección en el campo por resistencia al Al es, al parecer, el enfoque más aconsejable porque es lo que más se aproxima al entorno de cultivo concebido. No obstante, en la práctica, la clasificación confiable de genotipos en el campo puede implicar dificultades, porque quizás los niveles de Al no son uniformes y porque los factores ambientales interactúan con el Al del suelo para enmascarar la expresión de la resistencia al Al. Además, en la mayoría de los sistemas edáficos, la disponibilidad de Al no está bien definida debido a que el Al del suelo está a disposición de las raíces de las plantas a través de diferentes medios, como Al cambiante, Al ligado por la materia orgánica y Al soluble a partir de los sólidos. En estos términos, es necesario combinar la selección en el campo con técnicas de selección en el invernadero, con base en los caracteres fisiológicos de la resistencia al Al. El efecto del exceso de Al que se mide con mayor frecuencia es la inhibición del crecimiento por elongación de la raíz.

Los estudios con soluciones nutritivas son los más adecuados para determinar con más precisión la actividad del Al que está influyendo en el crecimiento por elongación de la raíz, reservado a otras limitaciones asociadas al estrés de suelo ácido. Con el fin de identificar los genotipos resistentes al Al, deben controlarse los iones adicionales en la solución que pueden ser tóxicos, como la concentración de  $H^+$  y los iones que pueden ayudar a mitigar la toxicidad de Al, como  $Ca^{2+}$ . El cultivo en solución nutritiva permite evaluar rápidamente gran número de genotipos y podría ser de mucha utilidad para identificar (i) genotipos parentales con arquitectura de raíces contrastante para el mejoramiento del frijol, (ii) genotipos contrastantes para análisis fisiológicos, (iii) QTL relacionados con la resistencia al Al y (iv) genes candidatos asociados con la resistencia al Al en frijol.

**Materiales y métodos:** Se escogió un grupo de 55 genotipos de frijol (incluyendo accesiones de germoplasma, líneas mejoradas y cultivares tipo) para selección respecto a la resistencia al Al en solución nutritiva. Del grupo de 55, se seleccionaron 35 genotipos en dos subgrupos (18 y 19), utilizando como testigos a G 5273 (resistente al Al) y Tío Canela (susceptible al Al).

Para los dos experimentos realizados, se germinaron semillas utilizando papel filtro por 2-3 días y se seleccionaron 24 plántulas con longitud uniforme de la raíz (5-7 cm) para evaluación con solución nutritiva. Se empleó un diseño de franjas divididas en el primer experimento y un diseño de parcelas divididas en el segundo, con 3 tratamientos (pH 5.6 sin Al, pH 4.5 sin Al y pH 4.5 con 50 pM de Al). Se hicieron 8 repeticiones con cada genotipo, empleando 12 L de solución nutritiva en contenedores plásticos.

Para los tratamientos de pH 4.5, el pH de la solución se ajustaba con HCl durante un período de 3 días, como se indica en el Cuadro 26. Este proceso contribuye a que las membranas de la raíz se adapten al cambio de pH en la solución.

**Cuadro 26.** Control de pH de la solución por cada tratamiento para adaptar genotipos a ambiente con bajo pH.

<b>Tratamiento</b>	<b>Día 1</b>	<b>Día 2</b>	<b>Día 3</b>	<b>Días 4 a 6</b>
pH 4.5 sin Al	5.6	4.9	4.5	4.5
pH 4.5 con Al	5.6	4.9	4.5	4.5
pH 5.6 sin Al	5.6	5.6	5.6	5.6

Los tres tratamientos incluyeron una solución nutritiva basal de baja concentración iónica que contenía todos los macro y microelementos esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plántulas (Cuadro 27). La composición de la solución nutritiva se diseñó empleando GEOCHEM (Peter Wenzl, comunicación personal). El pH de la solución se ajustó utilizando HCl 1 N.

**Cuadro 27.** Composición de la solución nutritiva basal de baja carga iónica, diseñada mediante el uso del modelo GEOCHEM.

<b>Compuesto</b>	<b>Concentración</b>
CaSO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	286 mM
KNO <sub>3</sub>	300 pM
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	150 pM
NaH <sub>2</sub> P0 <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	2.5 pM
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	150 pM
CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	14 pM
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	5 pM
Na <sub>2</sub> EDTA.2H <sub>2</sub> O	5 pM
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	1 pM
ZnCl <sub>2</sub>	1 pM
CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.2 pM
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6 pM
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> .9H <sub>2</sub> O	5 pM
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.001 pM
NaCl	57.5 pM

Se hizo seguimiento de los cambios en el crecimiento por elongación de la raíz como efecto de los tratamiento de pH y de Al, midiendo la longitud de la raíz pivotante al comienzo del tratamiento de pH (a los 0 días), a los 3 días de aclimatación al pH y 3 días después del tratamiento de Al. La longitud de la raíz pivotante se midió con una regla. Tres días después del tratamiento de Al, se cosecharon las plántulas y se escanearon los sistemas de raíces utilizando un programa de computación, WINRHIZO, y un escáner plano. Se registraron los

atributos de la raíz que incluían la longitud total de la raíz, el diámetro promedio de la raíz, el número de puntas radicales y el volumen de la raíz. También se registraron la biomasa de los brotes y de la raíz, después de secar el tejido en un horno a 65°C durante 2 días.

**Resultados y discusión:** El tratamiento de pH bajo (pH de 4.5), en comparación con el pH de 5.6, no afectó el crecimiento por elongación de la raíz de la mayoría de los genotipos de frijol, a excepción de Tío Canela, A 774, MD 23-24 y FEB 190, los cuales presentaron una reducción significativa del crecimiento por elongación de la raíz (Figura 12). Pero el tratamiento con 50 pM de Al redujo en más del 50% el crecimiento por elongación de la raíz (Figuras 13 y 14). La clasificación de los genotipos con base en el porcentaje de inhibición del crecimiento radical debido al Al, en comparación con el tratamiento sin Al, indicó que los genotipos AFR 643, G 14936, SEA 18, AFR 708, Tío Canela, G 5273, G 19833, SEA 1 y BAT 881 fueron relativamente menos susceptibles al Al (Figura 14). Sin embargo, la clasificación de los genotipos, con base en la tasa de crecimiento de elongación de la raíz en presencia de Al, indicó que los genotipos G 5273, AFR 643, BAT 881, MAR 1, CALIMA, G 19833, AFR 708, G 4090 y G 14936 mantienen mayores tasas de crecimiento por elongación de la raíz que los demás genotipos (Figura 15). Esto indica que los genotipos como Tío Canela y SEA 18 tuvieron tasas inferiores de crecimiento por elongación de la raíz en presencia de Al, pero fueron relativamente menos inhibidos por Al.

También encontramos que los genotipos AFR 643, MAR 1, G 19833, AFR 708, G 14936, SEA 5 y A 774, los cuales mostraron tasas de crecimiento por elongación de la raíz por debajo del valor promedio para 35 genotipos en ausencia de Al en la solución nutritiva, presentaron un mejor desempeño en función del crecimiento por elongación de la raíz en presencia de niveles tóxicos de Al (Figura 16). La relación entre la tasa de crecimiento por elongación de la raíz en presencia de Al y el % de inhibición del crecimiento por elongación de la raíz indicó que los genotipos G 5273, AFR 643, G 14936, MAR 1, G 19833, AFR 708, BAT 477, BAT 881, CALIMA, SEA 5, G 4090 y A 774 combinan mayores tasas de crecimiento por elongación de la raíz en presencia de Al y menor inhibición del crecimiento por elongación de la raíz como consecuencia de niveles tóxicos de Al en la solución (Figura 17). Es importante destacar que los genotipos como Tío Canela y SEA 18 presentaron tasas de crecimiento por elongación de la raíz por debajo de los valores promedio en presencia de Al pero sus valores de % de inhibición de raíces debido a la presencia de Al estuvieron por debajo del valor promedio. De los 35 genotipos evaluados, G 5273, CALIMA, SEQ 1027, G 4090, BAT 881 y BAT 477 fueron relativamente menos susceptibles a niveles tóxicos de Al. En general, estos genotipos presentaron un vigoroso crecimiento radical tanto en presencia como en ausencia de Al en la solución nutritiva.

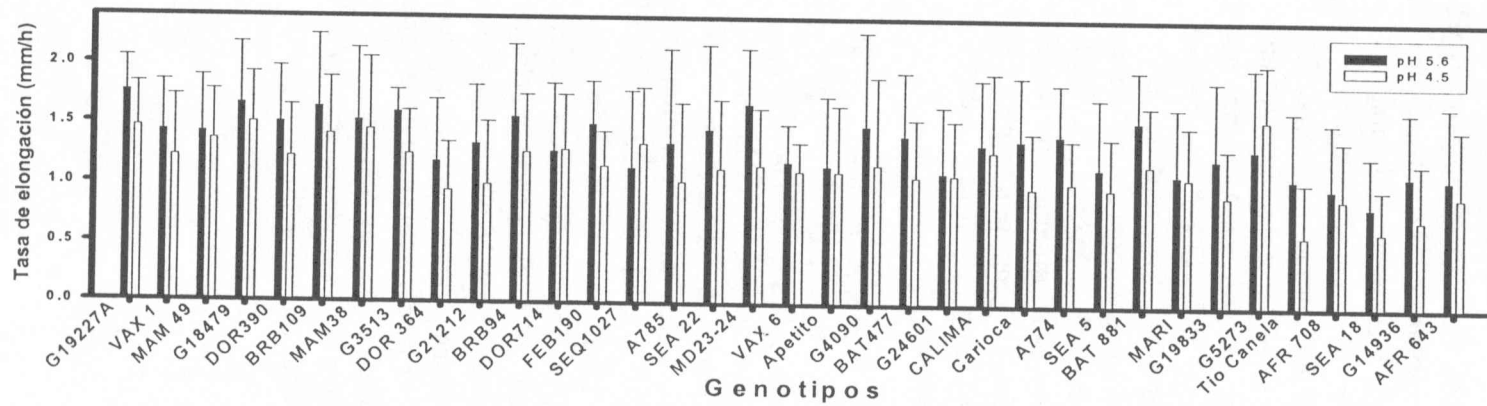


Figura 12. Efecto del pH de la solución sobre la tasa de elongación de raíz en 35 genotipos de frijol

45

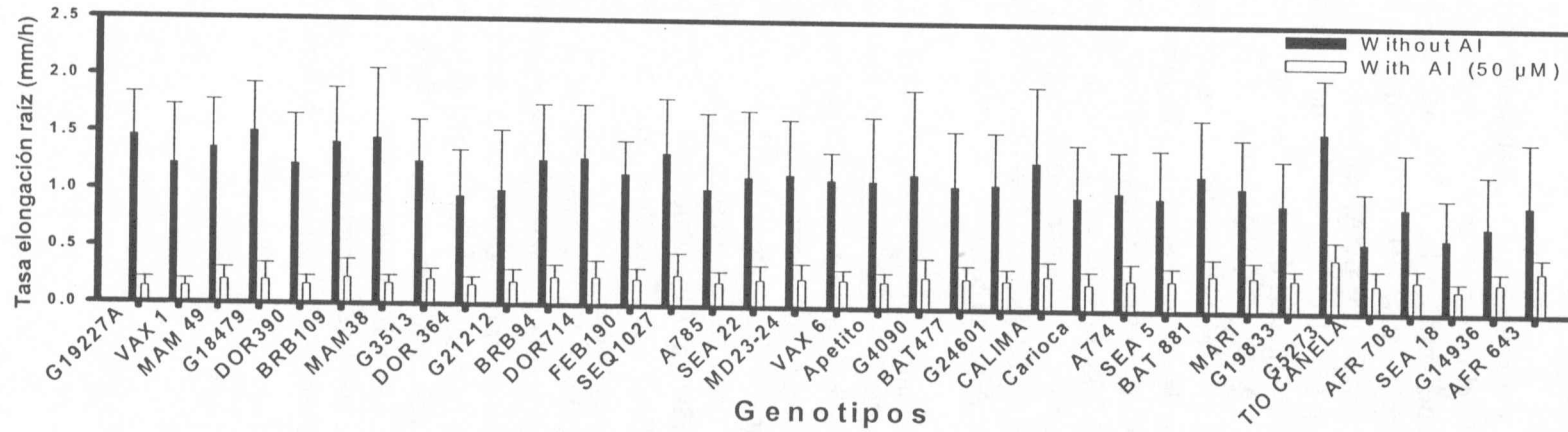
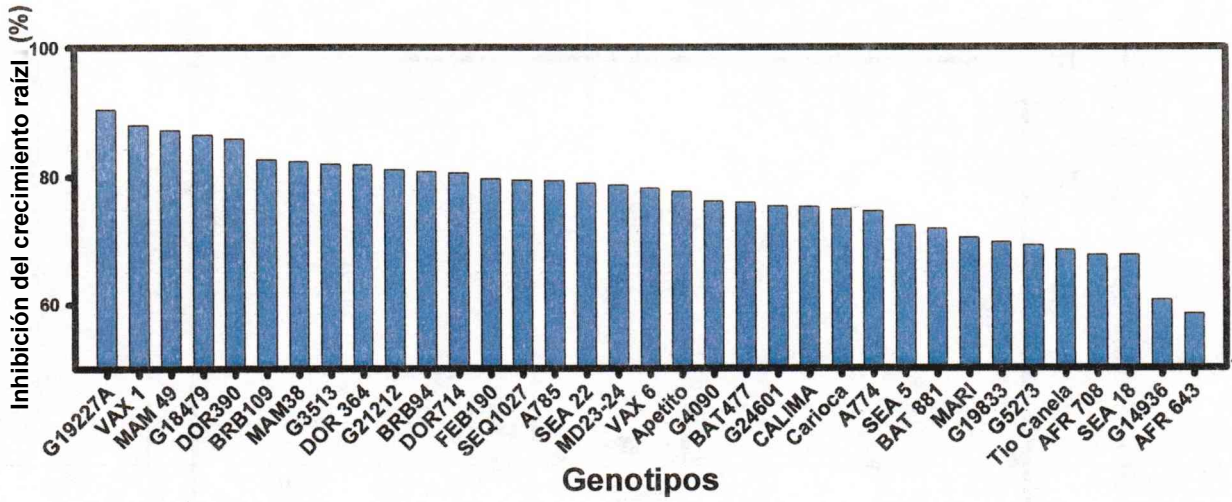
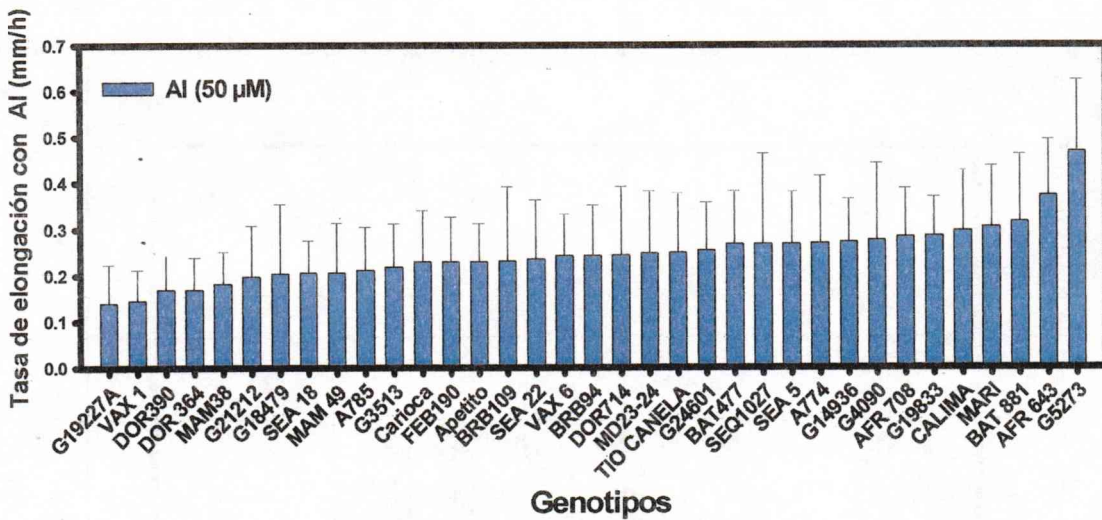


Figura 13. Efecto de Al (50 μM) a pH 4.5 en la tasa de elongación de raíz en 35 genotipos de frijol.



**Figura 14.** Variación genotípica en la inhibición de la tasa de elongación de la raíz principal con presencia de Al (50 µM). Porcentaje de inhibición (%) = elongación de raíz con Al / elongación de raíz sin Al x 100.



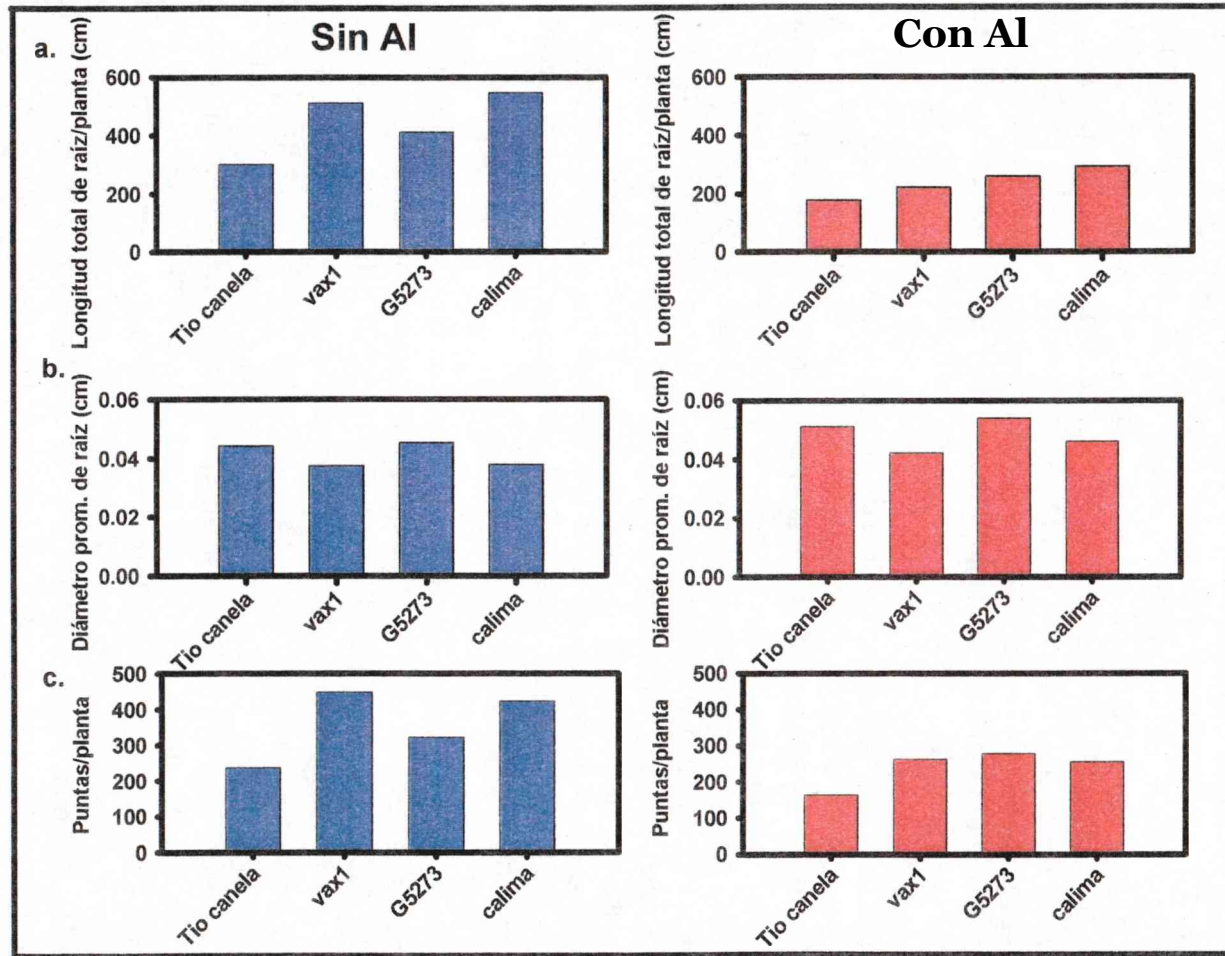
**Figura 15.** Variación genotípica en la tasa de elongación de la raíz principal en presencia de Al (50 µM).



Los resultados de los atributos de la raíz, medidos con base en el software WINRHIZO, indicaron que entre los 4 genotipos evaluados, CALIMA fue sobresaliente en cuanto a su capacidad para desarrollar un sistema de raíces finas (longitud total de la raíz) tanto en presencia como en ausencia de Al en la solución nutritiva, a pH 4.5 (Figura 18a). Por otra parte, Tío Canela fue inferior en su capacidad para producir raíces finas en condiciones de ambos tratamientos. En general, el tratamiento con Al aumentó el diámetro de la raíz, y los valores de este parámetro fueron mayores con G 5273 y menores con VAX 1 (Figura 18b). Esta es una observación importante porque VAX 1 presenta un desempeño muy bueno en condiciones de suelo ácido y se está utilizando como testigo tolerante en las parcelas de mejoramiento del CIAT. El desempeño superior de VAX 1 en suelos ácidos, en presencia de niveles tóxicos de Al, puede estar relacionado con su sistema de raíces finas y ramificadas que presentan mayor cantidad de puntas radicales (Figuras 18c y 19a). El mayor número de puntas radicales podría contribuir a una mayor absorción de Ca del suelo ácido de baja fertilidad, por cuanto que las puntas radicales son sitios primarios de absorción de Ca. El genotipo G 5273 también mostró mayor número de puntas radicales, en tanto que Tío Canela fue manifiestamente inferior respecto a su número de puntas radicales en presencia de Al, a pH 4.5, en la solución nutritiva.

La longitud específica de la raíz, que es una medida de finura del sistema de raíces, fue notablemente mayor en VAX 1, en comparación con los otros tres genotipos en ausencia de Al en la solución (Figura 19a). La presencia de Al en la solución redujo los valores de longitud específica de la raíz de VAX 1 de manera mucho más marcada que los otros tres genotipos. Como era de esperarse, debido al mayor tamaño de la semilla, los dos genotipos andinos, Calima y G 5273, presentaron un desempeño muy superior al de los dos genotipos mesoamericanos, Tío Canela y VAX 1, en función de la producción de biomasa de los brotes y de la raíz, tanto en presencia como en ausencia de Al en la solución nutritiva (Figura 19b). Tío Canela y VAX 1 acumularon cerca del 60% de la biomasa total de Calima. Entre Calima y G 5273, el primero fue superior en desarrollo de los brotes, en tanto que G 5273 fue mejor en cuanto a la producción de biomasa de la raíz (Figuras 19c, 19d y 20).

Conclusiones: Se desarrolló un procedimiento de selección para evaluar la variación genotípica en cuanto a resistencia al Al en frijol. De los 35 genotipos evaluados por resistencia al Al, se encontró que G 5273, Calima, BAT 881, BAT 477, AFR 643, MAR 1, G 19833 y AFR 708 fueron superiores al resto de los genotipos en mantener una mayor tasa de crecimiento por elongación de la raíz en presencia de Al (50pM). Estos genotipos también redujeron la inhibición del crecimiento por elongación de la raíz (menos de 77%, el valor promedio) debido a la presencia de Al en la solución nutritiva. Estos estudios preliminares también han indicado que el bajo pFl *per se* no tuvo un efecto marcado en el crecimiento por elongación de la raíz en la mayoría de los genotipos de frijol evaluados. También se encontró que la exposición a niveles tóxicos de Al aumentó el diámetro de las raíces y disminuyó notablemente la longitud total de la misma al igual que el número total de ápices radicales. Estos estudios indican que el desempeño del frijol en el campo, en condiciones de suelos ácidos, puede comprender más de un mecanismo en el desarrollo de sus raíces. Se encuentran en curso otros estudios, con la colaboración del grupo del profesor Walter Horst, de la Universidad de Hannover (Hannover, Alemania), que buscan caracterizar estos mecanismos.



**Figura 18.** Longitud total de raíz, diámetro promedio de raíz y número de puntas de raíz en 4 genotipos seleccionados, evaluados con y sin Al en solución nutritiva.

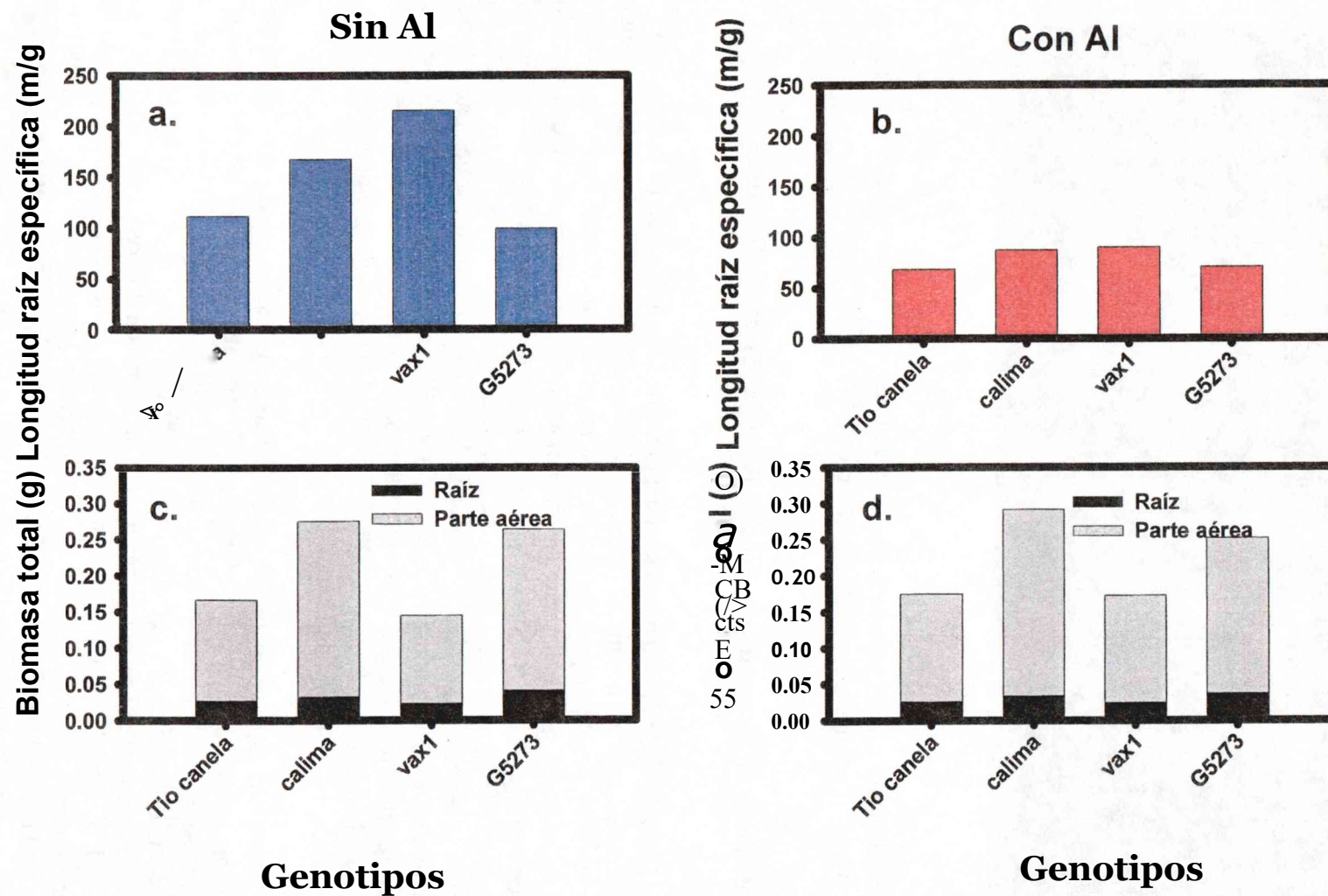
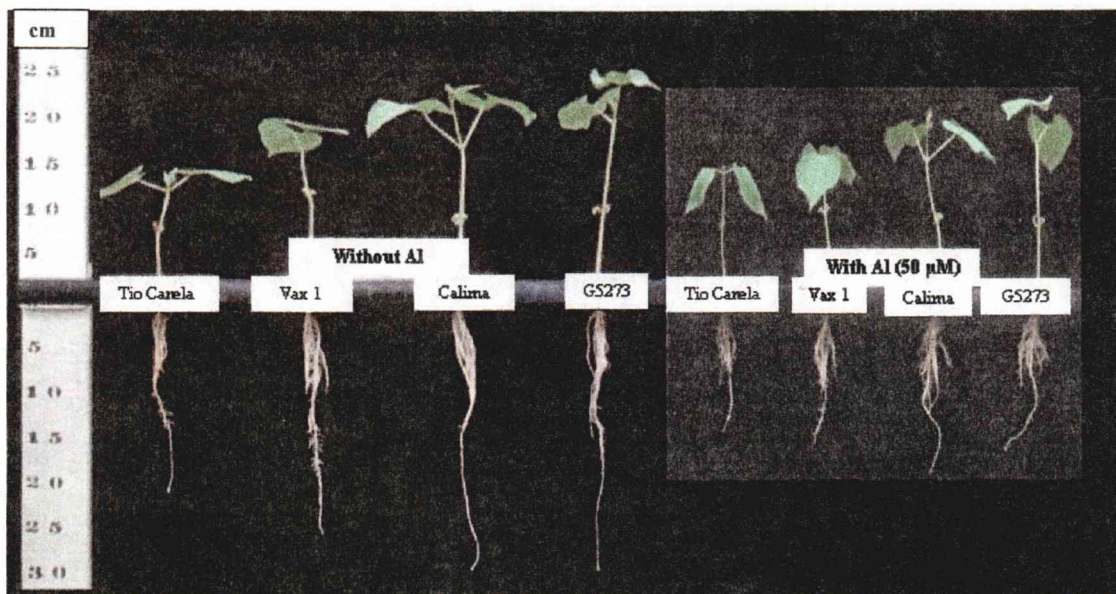


Figura 19. Longitud de raíz específica y biomasa de genotipos de frijol seleccionados, evaluados sin y con AI en solución nutritiva



**Figura 20.** Crecimiento de raíz y parte aérea de 4 genotipos de frijol evaluados con) y 50  $\mu\text{M}$  Al en una solución nutritiva de baja fuerza iónica a pH 4.5.

### 1.3.1.3 Identificación de los caracteres asociados con la eficiencia de fósforo

**Justificación:** El año pasado presentamos los resultados de una evaluación de campo de 49 genotipos por su tolerancia al suministro muy bajo de P en un sitio de Darién. Con base en la evaluación de estos 49 genotipos para condiciones de baja oferta de P en el suelo, se reunió un grupo más pequeño, de 36 genotipos, para la evaluación. Este año presentamos los resultados obtenidos de estos 36 genotipos respecto a su adaptación a las condiciones de baja oferta de P en el suelo. Este grupo de 36 materiales incluía varios progenitores que se usaron para generar líneas endogámicas recombinantes (LER). Estas LER son particularmente útiles para identificar los QTL involucrados en la adaptación a la baja oferta de P. Las diferencias genotípicas en el rendimiento de semilla en suelos con baja oferta de P podrían estar relacionadas con las diferencias en la adquisición de P y en la utilización del mismo para el transporte de fotoasimilados hacia el desarrollo de la semilla.

**Materiales y métodos:** *Darién.* El ensayo en Quilichao se repitió en Darién con los mismos genotipos, en condiciones de baja y alta oferta de P. Los detalles acerca de los tratamientos de P y las mediciones se describieron anteriormente (CIAT, 1998, p. 18-28). El tratamiento de baja oferta de P recibió 10 kg/ha de P y el tratamiento de alta oferta de P recibió 60 kg/ha de P en la forma de superfosfato triple. Los micronutrientes se aplicaron dos veces con B y Zn en forma de Kelatex (1 g/L). Se midieron varios atributos de la planta en la etapa media de llenado de la vaina para determinar la variación genotípica en tolerancia a la baja oferta de P en el suelo. Estos caracteres de la planta incluían el índice de área foliar, el peso seco de los brotes; la absorción de P en los brotes; y los CTN (carbohidratos totales no estructurados). En el momento de la

cosecha, se determinaron el rendimiento de grano y los componentes del rendimiento (número de vainas por planta, número de semillas por vaina, peso de 100 granos). También se determinaron los contenidos de N, P y CTN en la semilla.

**Resultados y discusión:** Entre los 36 genotipos evaluados, cuatro genotipos (IPA 7, MAM 38, G 1977 y G 21212) sobresalieron no sólo por su tolerancia a la baja oferta de P en el suelo sino también en su respuesta a la alta oferta de P (Figura 21; Cuadro 28). Una de las líneas mejoradas, IPA 7, fue sobresaliente por su adaptación a la baja oferta de P. El desempeño de MAM 38 y G 21212 fue compatible con el desempeño mostrado en ensayos anteriores en condiciones de baja oferta de P. En condiciones de baja oferta de P, el rendimiento de grano varió de 137 a 1378 kg/ha en tanto que, en condiciones de alta oferta de P, el rango fue de 600 a 1993 kg/ha. El rendimiento más alto, 1993 kg/ha, en condiciones de aplicaciones altas de P se obtuvo con la línea mejorada VAX 2. Dos líneas mejoradas (IPA 7 y MAM 38) y dos líneas nativas (G 21212 y G 1977) fueron superiores a Carioca en su adaptación a la baja oferta de P.

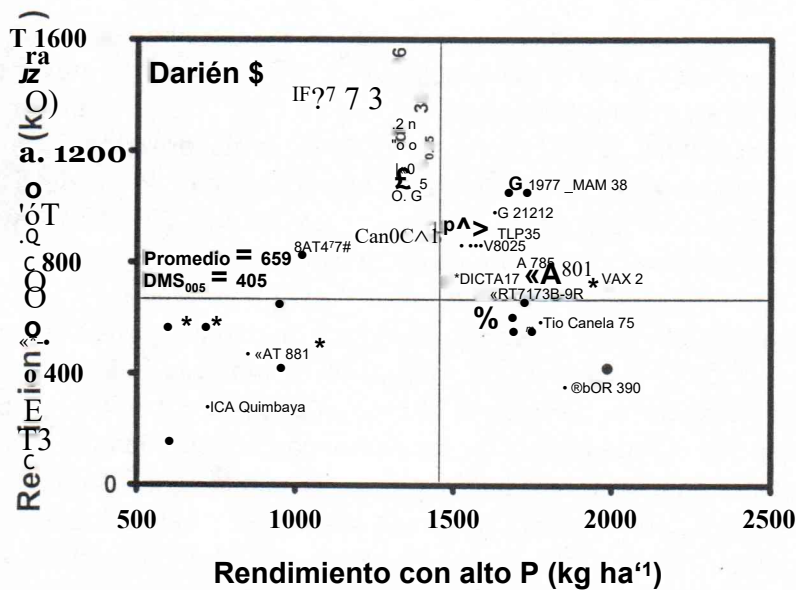


Figura 21. Identificación de genotipos adaptados al bajo suministro edáfico de P y que responden a la aplicación de P en un Andisol de Darién. Los genotipos que tuvieron rendimientos superiores con bajo P y también respondieron a la aplicación alta de P fueron identificados en el recuadro superior derecho.

Los resultados de rendimiento de grano e índice de área foliar, con el tratamiento de baja aplicación de P, indicaron que IPA 7 fue superior tanto en producción de área foliar como en rendimiento de grano (Cuadro 28). Sin embargo, es interesante señalar que G 21212 podría producir mayor rendimiento de semilla con cantidades moderadas de área foliar, lo que indica su capacidad superior para movilizar fotosintatos hacia los granos. La adquisición de P por G 21212 fue también moderada pero el rendimiento de semilla fue mayor que el de los otros genotipos, en condiciones de baja aplicación de P (Figura 22). Entre los 36 genotipos, MAM 38 combinó un mayor rendimiento de semilla con una mayor adquisición de P de suelos con baja oferta de este nutrimento. Esta línea mejorada también combinó mayores cantidades de CNT en los brotes y en la etapa media de llenado de las vainas con mayor rendimiento de grano, en condiciones de baja oferta de P (Figura 23). Es importante destacar que, debido a su mayor capacidad para usar N y P para la producción de grano, el contenido de N en la semilla de esta línea mejorada y también el de la línea nativa G 21212 fue notablemente inferior que el de la mayoría de los genotipos (Figura 24). Sin embargo, encontramos que BAT 477 y VAX 2 podrían combinar un mayor rendimiento de semilla con un contenido moderado de N en la semilla. De ese modo, debe ser posible recombinar genéticamente un mayor rendimiento de semilla con un nivel moderado de proteína en la semilla cuando se cultiva en condiciones de baja oferta de P en el suelo.

La líneas nativa G 21212 combinó un menor contenido de P en la semilla con un mayor rendimiento de semilla, en tanto que la línea mejorada IPA 7 mantuvo un mayor contenido de P en la semilla con un mayor rendimiento de semilla (Figura 25). IPA 7 fue también sobresaliente al combinar una mayor cantidad de CTN en la semilla con un mayor rendimiento de semilla (Figura 26). Como se observó anteriormente, la eficiencia de uso de P y N de G 21212 fue sobresaliente en condiciones de baja oferta de P en el suelo (Figura 27). IPA 7 y G 19227A también presentaron mayores valores de eficiencia de uso de P y N.

Los coeficientes de correlación entre el rendimiento final de grano y otros atributos de la planta indicaron que la producción de área foliar, la producción de biomasa de hojas, tallos y vainas, la producción total de biomasa de los brotes, y la absorción de N y de P en los brotes estuvieron altamente relacionados con el rendimiento de semilla en condiciones de baja oferta de P (Cuadro 29). Todos estos caracteres de los brotes también estuvieron relacionados con el rendimiento de semilla en condiciones de alta oferta de P, salvo que los valores  $r$  fueron mucho menores que los obtenidos en condiciones de baja oferta de P. Se observó una relación negativa significativa entre el rendimiento de semilla y el contenido de N en los brotes, lo que indica que la mayor movilización de N del tejido vegetativo hacia la semilla ha contribuido a la adaptación superior a condiciones de baja oferta de P en el suelo. Se observó una asociación positiva significativa entre el contenido de P en los brotes y el rendimiento de semilla en condiciones de alta oferta de P. Los CTN en los brotes y en la semilla y los contenidos de N y P en la semilla no mostraron ninguna relación con el rendimiento de granos en condiciones de baja y alta oferta de P.

Cuadro 28. Influencia del estrés de bajo P en el rendimiento de grano y el índice de área foliar de 36 genotipos de frijol evaluados en un Andisol de Darién.

Línea o accesión	Rendimiento de grano (kg/ha)		Índice de área foliar (mVm <sup>2</sup> )	
	Alto P	Bajo P	Alto P	Bajo P
IPA 7	1031	1378	1.677	1.515
MAM 38	1946	1058	2.214	1.210
G 1977	1677	1036	1.621	1.228
G 21212	1640	999	2.589	0.935
CARIOCA	1444	883	1.298	0.695
TLP 34	1535	872	2.580	1.535
TLP35	1648	870	1.987	0.976
V 8025	1747	859	3.071	1.005
A 785	1700	855	2.107	0.912
BAT 477	1207	853	2.272	1.089
G 3513	1291	809	2.309	1.579
A 801	1791	738	2.160	0.804
DICTA 17	1477	730	1.637	0.950
VAX 2	1993	714	1.598	0.964
BT 21138-98	1585	691	2.324	0.797
BAT 304	1726	641	2.427	0.825
G 19227A	952	634	3.097	0.727
MAR 1	1400	598	2.504	1.047
VAX 6	1582	586	2.156	0.581
TIO CANELA 75	1976	585	2.023	0.757
G18479	1117	584	1.782	0.638
BH 21134-66	1652	580	2.634	0.760
VAX 1	1603	567	1.979	0.802
A 774	1862	558	2.162	0.723
DOR 364	1340	553	1.489	0.732
AFR 699	600	546	1.613	1.069
GARB. ZARCO	1693	536	2.615	0.552
SAM 3	1318	495	1.846	0.614
SEA 5	862	477	1.220	0.540
BAT 881	999	469	1.695	0.607
G 92	1987	419	2.295	0.564
G 19842	956	401	2.216	0.946
DOR 390	1931	385	2.279	0.394
FEB 192	1809	364	1.816	0.717
ICA QUIMBAYA	735	281	1.479	0.317
VELAZCO LARGO	606	137	0.634	0.337
<b>Promedio</b>	<b>1456</b>	<b>659</b>	<b>2.04</b>	<b>0.85</b>
<b>CV (%)</b>	<b>14</b>	<b>35</b>	<b>27</b>	<b>35</b>
<b>DMS (0.05)</b>	<b>354</b>	<b>405</b>	<b>0.96</b>	<b>0.45</b>

Alto P = alta aplicación de fósforo; Bajo P = baja aplicación de fósforo

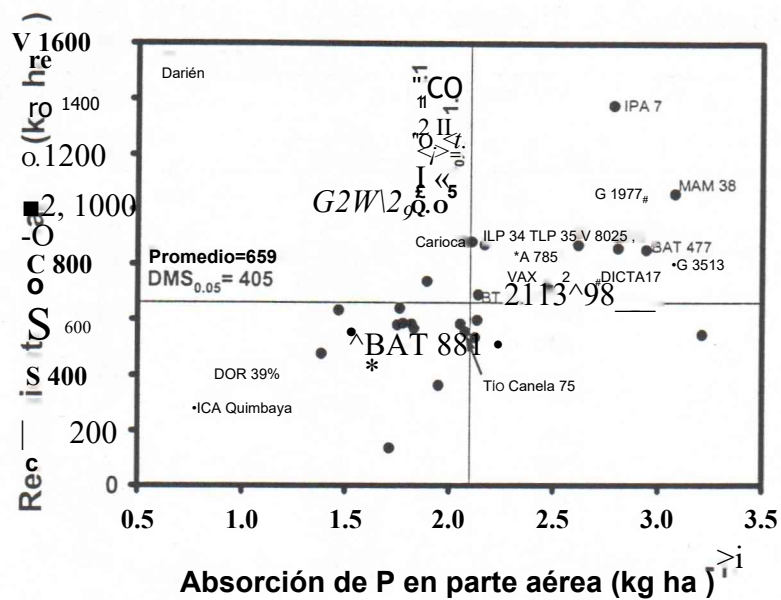


Figura 22. Identificación de genotipos que combinan mayor rendimiento de semilla con absorción superior de P en la parte aérea en mitad del llenado de vainas, cuando crecen con bajo suministro de P en un Andisol de Darién. Los genotipos con rendimientos superiores y mayor absorción de P en la parte aérea fueron identificados en el recuadro superior derecho.

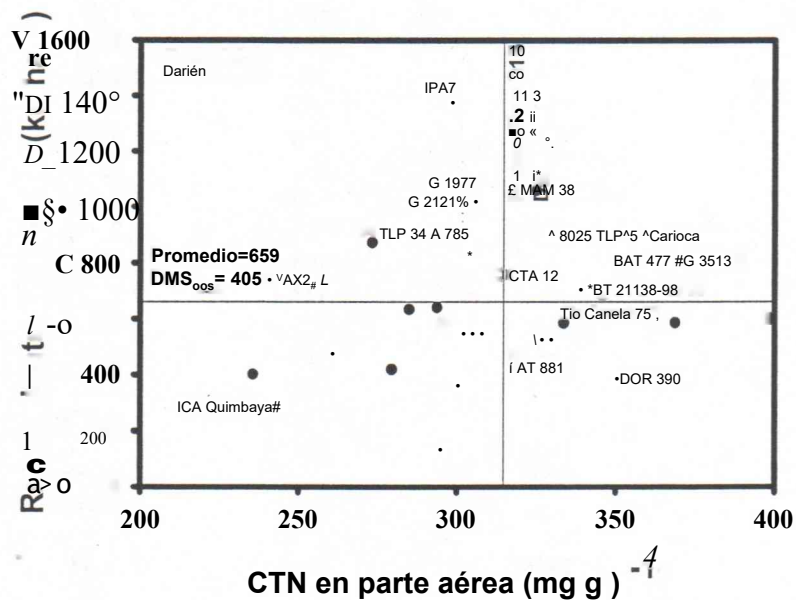


Figura 23. Identificación de genotipos que combinan mayor rendimiento de semilla con mayor contenido de carbohidratos totales no estructurales (CTN) en la parte aérea, cuando crecen con bajo suministro de P en un Andisol de Darién. Los genotipos con rendimientos superiores y mayor contenido de CTN en la parte aérea fueron identificados en el recuadro superior derecho.

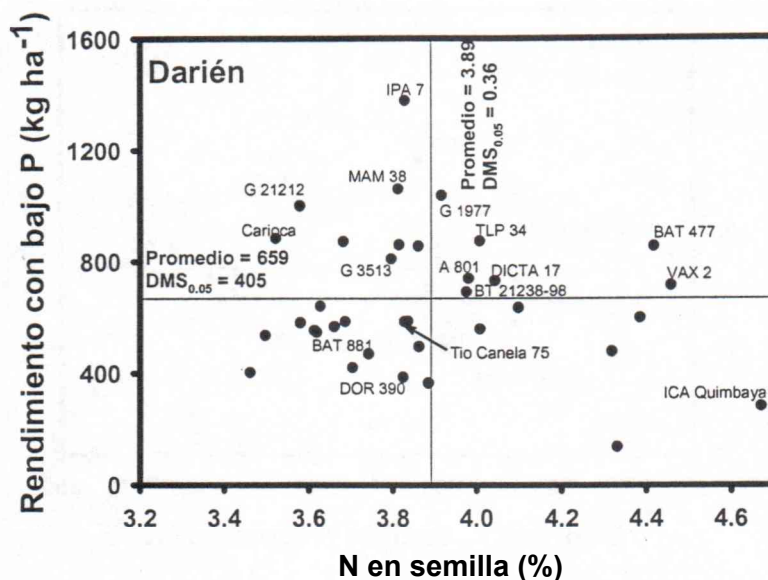


Figura 24. Identificación de genotipos que combinan mayor rendimiento de semilla con mayor contenido de N en la semilla, cuando crecen con bajo suministro de P en un Andisol de Darién. Los genotipos con rendimientos superiores y mayor contenido de N en la semilla fueron identificados en el recuadro superior derecho.

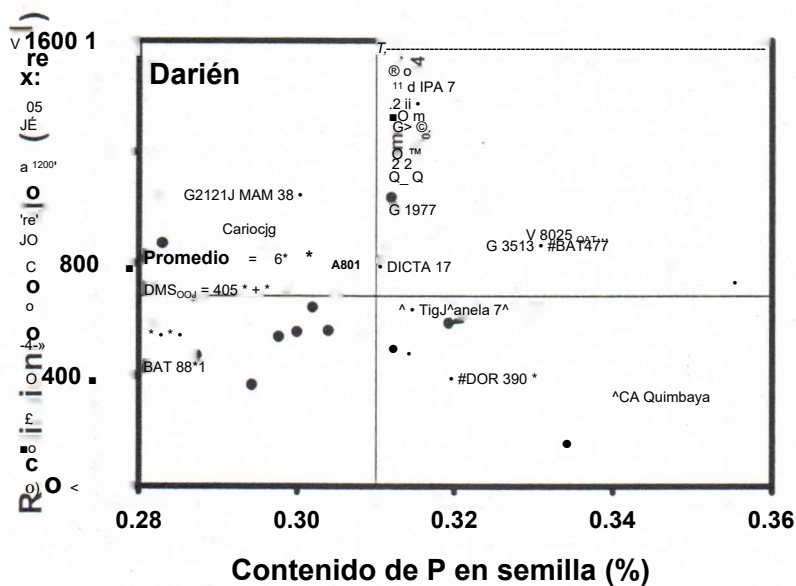


Figura 25. Identificación de genotipos que combinan mayor rendimiento de semilla con menor contenido de P en la semilla, cuando crecen con bajo suministro de P en un Andisol de Darién. Los genotipos con rendimientos superiores y menor contenido de P en la semilla fueron identificados en el recuadro superior izquierdo.

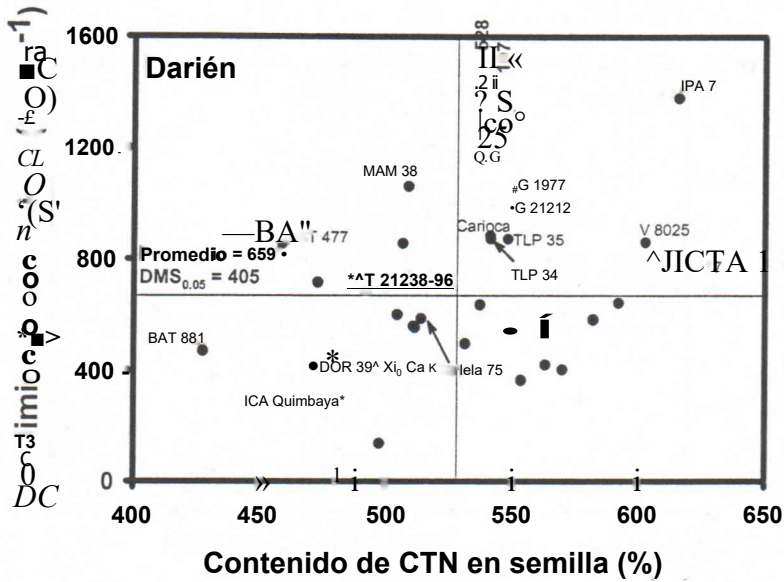


Figura 26. Identificación de genotipos que combinan mayor rendimiento de semilla con mayor contenido de carbohidratos totales no estructurales (CTN) en la semilla, cuando crecen con bajo suministro de P en un Andisol de Darién. Los genotipos con rendimientos superiores y mayor contenido de CTN en la semilla fueron identificados en el recuadro superior derecho.

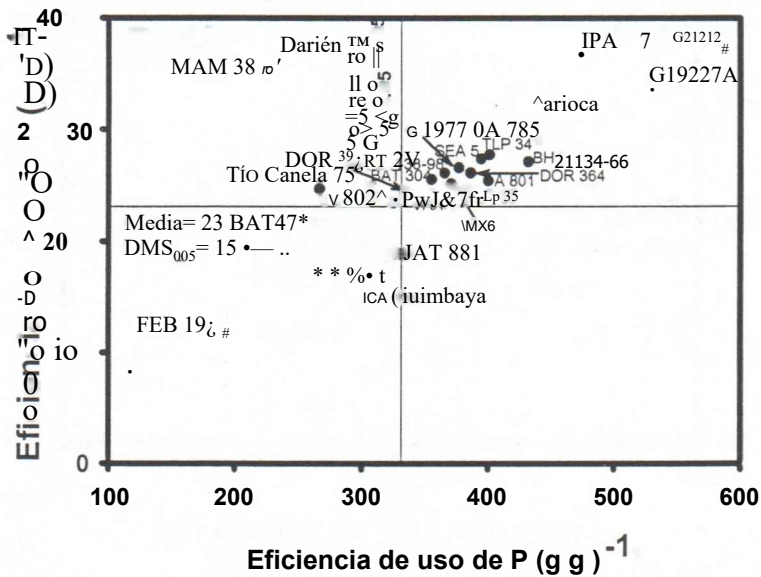


Figura 27. Identificación de genotipos que combinan eficiencia de uso de N y P para producir mayores rendimientos de semilla, cuando crecen con bajo suministro de P en un Andisol de Darién. Los genotipos eficientes en el uso de N y P fueron identificados en el recuadro superior derecho.

**Cuadro 29.** Coeficientes de correlación (r) entre el rendimiento de grano (kg/ha) y otros atributos de la planta de 36 genotipos de frijol común que crecieron con bajo y alto suministro de P en un Andisol de Darién.

Caracteres de la planta	Bajo P	Alto P
Índice de área foliar	0.66***	0.34***
Biomasa de hojas	0.69***	0.35***
Biomasa de tallos	0.64***	0.34***
Biomasa de vainas	0.50***	0.27**
Biomasa aérea	0.65***	0.39***
Absorción en la parte aérea de N	0.61***	0.36***
Absorción en la parte aérea de P	0.65***	0.42***
Contenido de N en parte aérea	-0.28**	0.14
Contenido de P en parte aérea	-0.01	0.35***
Contenido de CTN en parte aérea	0.15	-0.12
Contenido de N en semillas	-0.18	-0.16
Contenido de P en semillas	0.03	0.07
Contenido de CTN en semillas	0.12	0.07

\*, \*\*, \*\*\* Significante a los niveles de probabilidad de 0.05, 0.01 y 0.001, respectivamente.

**Conclusiones:** Este estudio de campo indicó que dos líneas mejoradas (IPA 7 y MAM 38) y dos líneas nativas (G 21212 y G 1977) fueron sobresalientes no sólo en su tolerancia a condiciones de baja oferta de P en el suelo. La línea mejorada MAM 38 fue sobresaliente en su respuesta a la alta oferta de P. Entre los cuatro genotipos, G 21212 e IPA 7 fueron sobresalientes en su capacidad para utilizar P y N para la producción de grano.

### Actividad 1.3.2 Estudio fisiológico de tolerancia a sequía

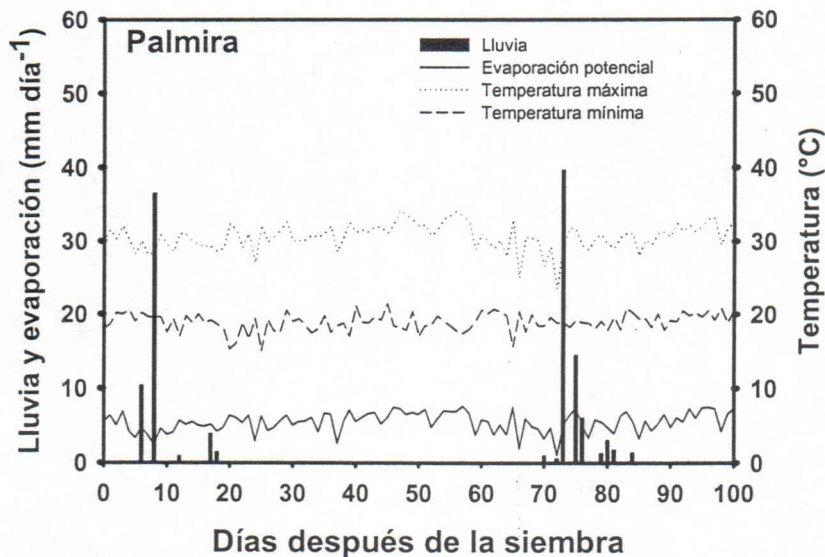
**Justificación:** Varias regiones productoras de frijol, que padecen de pobreza endémica, son especialmente propensas al estrés de sequía, como América Central y el sur de África. Por eso, el desarrollo de variedades de frijol adaptadas a la sequía es una estrategia importante para minimizar la pérdida de cultivos y mejorar la seguridad alimentaria en estas regiones. Este año presentamos los resultados obtenidos en los ensayos con estos 36 genotipos respecto a su adaptación al estrés de sequía.

El año pasado evaluamos 36 genotipos respecto a su adaptación al estrés de sequía en condiciones de campo. Los resultados de este estudio de campo indicaron que dos líneas mejoradas (SEA 5 y A 801) y dos líneas nativas (Carioca y G 21212) se adaptaron muy bien al estrés de sequía. El desempeño superior de estos cuatro genotipos en condiciones de sequía se asoció con la resistencia a los agentes patógenos transmitidos por el suelo, combinado con su capacidad para movilizar fotosintatos para el desarrollo de granos y para utilizar más eficientemente el N y P adquiridos para la producción de granos. Este estudio también arrojó más evidencia acerca de la utilidad de menores niveles de P en la semilla como un método de selección, además del rendimiento de grano para identificar los genotipos de frijol que se adaptan mejor a la sequía.

Este año evaluamos la adaptación a la sequía de 36 líneas mejoradas y accesiones promisorias que se agruparon como un vivero internacional. Los mismos materiales se evaluaron en Haití y Honduras (Zamorano), además de CIAT-Palmira (CIAT, 2001). Los resultados fisiológicos de CIAT-Palmira se presentan a continuación.

**Materiales y métodos:** De junio a septiembre, 2001, se realizó un ensayo de campo en Palmira para determinar las diferencias en tolerancia a las condiciones de estrés por déficit hídrico. El ensayo de campo incluyó 36 líneas mejoradas y accesiones de germoplasma. Se aplicaron dos niveles de suministro de agua (bajo riego y temporal). Se usó un diseño látice de 6 x 6 parcialmente equilibrado, con 3 repeticiones. Los detalles de la siembra y el manejo del ensayo fueron similares a los reportados anteriormente (CIAT, 1998). Las unidades experimentales constaron de 4 hileras, de 5 m de largo por 0.6 m de ancho. Se midieron varios atributos de la planta en la etapa media de llenado de las vainas para determinar la variación genotípica respecto a la resistencia a la sequía. Estos caracteres de la planta incluyeron el índice de área foliar; el peso seco de los brotes por planta; la absorción de nutrimentos (N, P, K, Ca y Mg) por los brotes; el contenido de ceniza en los brotes y en la semilla; y los CTN (carbohidratos totales no estructurados) en los brotes y en la semilla. En el momento de la cosecha, se determinaron el rendimiento de grano y los componentes del rendimiento (número de vainas por planta, número de semillas por vaina, peso de 100 granos). También se midieron los contenidos de N, P, ceniza y CTN en la semilla.

**Resultados y discusión: Palmira. Suelo, temperatura, precipitación y evaporación:** El suelo corresponde a un Mollisol (Aquic Hapludoll) sin mayores problemas de fertilidad ( $\text{pH} = 7.7$ ) y se calcula que permite el almacenamiento de 130 mm de agua disponible (suponiendo 1.0 m de crecimiento efectivo de las raíces con límites superior e inferior de  $-0.03$  MPa y  $-1.5$  MPa para el potencial mátrico del suelo). Durante el ciclo del cultivo, las temperaturas máxima y mínima del aire fueron  $30.5$  y  $18.7^\circ\text{C}$ , respectivamente, en tanto que la radiación solar incidente varió entre  $4.6$  y  $25.0 \text{ MJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ . La precipitación total durante el ciclo activo del cultivo fue de  $122.7$  mm, sin casi nada de lluvia durante las etapas de floración y de llenado de las vainas (Figura 28). La evaporación potencial fue de  $432.5$  mm. Estos datos de precipitación y evaporación indicaron que el cultivo sufrió un nivel alto de estrés por déficit hídrico durante el crecimiento y desarrollo activos. Se registraron valores de tensión de agua del suelo en el rango de 700 milibares, en la novena semana de crecimiento del cultivo, en condiciones de temporal.



**Figura 28.** Distribución de lluvias, evaporación potencial, temperaturas máximas y mínimas durante el período de crecimiento del cultivo en Palmira.

**Rendimiento de grano y caracteres fisiológicos:** En condiciones de estrés por déficit hídrico en el campo, el rendimiento de semilla de 36 genotipos fluctuó entre 257 y 1284 kg/ha (Cuadro 30). Entre los genotipos evaluados, dos accesiones de *P. acutifolius* (G 40068 y G 40159) y dos líneas mejoradas (RAB 650 y SEA 15) sobresalieron por su adaptación a las condiciones de temporal (estrés por déficit hídrico). Hubo respuesta al riego en la mayoría de los genotipos pero no en todos, según lo evidencia los valores promedio (Cuadro 30; Figura 29). Esto se debió principalmente a la incidencia alta de una plaga saltahojas (*Empoasca kraemeri*) durante el desarrollo reproductivo en el tratamiento de temporal y el ataque de un barrenador de la vaina (*Epinotia opposita*) en el tratamiento de riego, que afectó el desempeño de varios genotipos, incluyendo G 21212. La relación entre el rendimiento de grano de los tratamientos de temporal y el de riego indicó que G 40159, RAB 650, SEA 15, SEA 23 y RAB 651 no solamente se

adaptaron al estrés por déficit hídrico sino que también respondieron al riego (Figura 29). Entre los 36 genotipos evaluados, INB 36 fue la línea mejorada con la adaptación más deficiente en condiciones de temporal.

**Cuadro 30.** Influencia del estrés de sequía sobre el rendimiento de grano y el índice de área foliar de germoplasma de líneas avanzadas y de accesiones evaluadas en un Molisol de Palmira.

Línea o accesión	Rendimiento de grano (kg/ha)		Índice área foliar (m <sup>2</sup> /m <sup>2</sup> )	
	Irrigado	Sequía	Irrigado	Sequía
G 40068 ( <i>P. acutifolius</i> )	341	1284	0.83	1.45
G 40159 ( <i>P. acutifolius</i> )	918	1276	0.66	1.14
RAB 650	960	1153	1.34	1.93
SEA 15	1057	1008	1.55	1.77
SEA 23	1064	1001	1.60	1.66
RAB 651	1089	963	2.08	2.66
SEA 18	897	880	1.48	2.06
SEA 5	736	820	1.58	2.17
BAT <i>All</i>	1251	800	1.41	2.15
Tío Canela 75	1005	795	1.35	1.82
RAB 632	784	776	1.03	1.50
SEA 19	1081	760	1.72	2.04
RAB 619	926	751	1.85	1.86
RAB 618	733	730	1.53	1.57
Pinto Villa	1027	718	1.38	1.52
SEA 16	976	695	2.53	2.20
SEA 21	1050	656	1.83	1.67
RAB 620	832	649	1.23	1.96
RAB 636	687	620	1.24	1.34
SEA 22	1110	615	1.33	1.71
RJB 7	770	549	1.35	2.01
RAB 609	1147	533	1.64	2.26
INB 35	995	532	2.16	2.21
SEA 17	824	513	2.37	2.64
INB 39	1018	511	1.45	2.08
G 21212	344	507	1.11	2.16
SEA 20	771	499	1.30	1.71
ICA Quimbaya	500	497	1.09	1.20
INB 38	820	479	1.85	2.00
RAB 608	674	464	1.31	2.23
DOR 390	857	445	1.87	1.61
ICA Pijao	1105	435	1.99	2.68
INB 37	777	431	1.29	1.89
G 1977	397	418	1.47	2.15
Apetito	575	334	1.37	1.90
INB 36	712	257	1.53	1.74
<b>Promedio</b>	<b>856</b>	<b>677</b>	<b>1.52</b>	<b>1.91</b>
CV (%)	<b>29</b>	<b>25</b>	<b>32</b>	<b>26</b>
<b>DMS (0.05)</b>	<b>410</b>	<b>272</b>	<b>0.80</b>	<b>0.81</b>

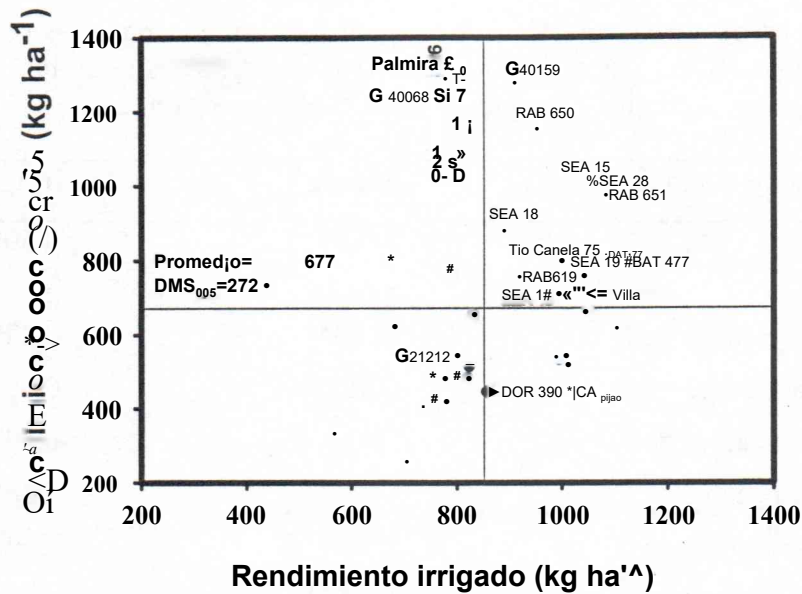


Figura 29. Identificación de genotipos adaptados a condiciones de sequía y que responden a la irrigación en un Molisol de Palmira. Los genotipos que tuvieron rendimiento superior en sequía y también respondieron a la irrigación se identificaron en el recuadro superior derecho.

En condiciones de temporal, el rendimiento de grano no estuvo relacionado con el índice de área foliar (Cuadro 31) porque varios genotipos (por ejemplo, ICA Pijao y SEA 17) presentaban valores superiores de área foliar que los materiales con mejor desempeño como las dos accesiones de *P. acutifolius* (G 40068 y G 40159), en condiciones de temporal (Cuadro 30). El desempeño superior de estas dos accesiones podría atribuirse a un mejor sistema de transporte para movilizar fotosintatos para el desarrollo de granos como lo revelaron los mayores niveles de CTN en el tejido de los brotes en la etapa media de llenado de las vainas (Figura 30). Las líneas SEA, desarrolladas para una mejor adaptación a la sequía, presentaron niveles de CTN en los brotes y rendimiento de grano que fueron superiores a los valores promedio. SEA 23 y SEA 15 sobresalieron entre estas líneas, especialmente en cuanto a CTN en los brotes y rendimiento de grano en condiciones de temporal (Figura 30).

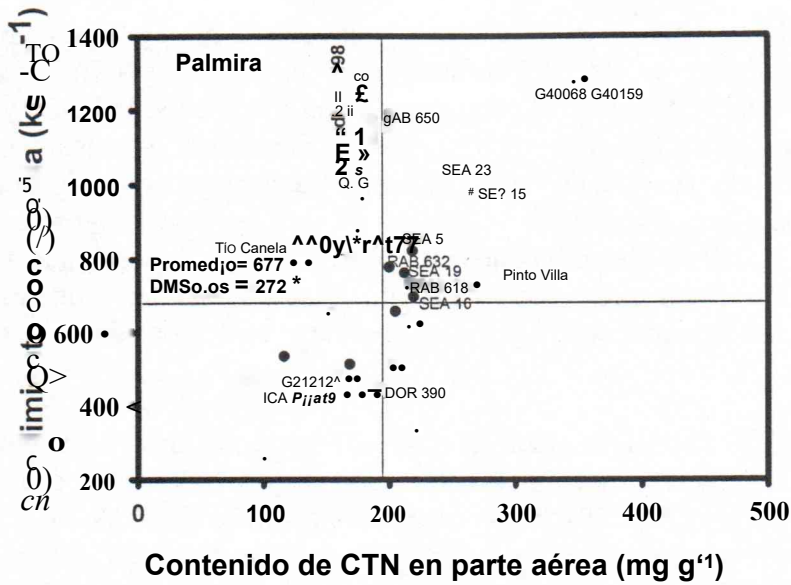
Las dos accesiones de *P. acutifolius* (G 40068 y G 40159) arrojaron mayores rendimientos que cualquier línea o accesión de *P. vulgaris*, lo que demuestra la ventaja que sigue mostrando esta especie sobre *P. vulgaris*, y lo que justifica nuestros esfuerzos actuales de mejoramiento con base en cruza interespecíficas. Las líneas de mejoramiento de grano rojo (líneas hermanas RAB 650 y RAB 651), sin selección dirigida respecto a la tolerancia de la sequía durante su desarrollo, tuvieron un desempeño aceptable en condiciones de temporal.

**Cuadro 31.** Coeficientes de correlación (r) entre el rendimiento de grano (kg/ha) y otros atributos de la planta de 36 genotipos de frijol común que crecieron bajo condiciones de sequía e irrigación en un Molisol de Palmira.

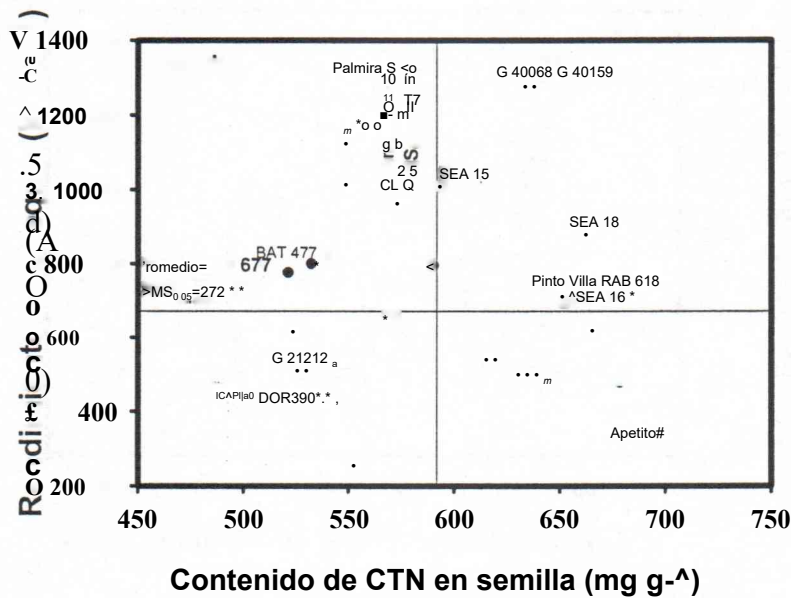
Atributos de la planta	Sequía	Irrigado
Indice de área foliar	-0.14	0.50***
Biomasa aérea	0.30**	0.62***
Absorción en la parte aérea de N	0.20*	0.53***
Absorción en la parte aérea de P	0.35**	0.58***
Absorción en la parte aérea de K	0.14	0.49***
Absorción en la parte aérea de Ca	-0.07	0.48***
Absorción en la parte aérea de N	0.01	0.30**
Contenido de CTN en parte aérea	0.52***	0.30**
Contenido de ceniza en parte aérea	-0.48***	-0.34***
Contenido de N en semilla	-0.42***	0.02
Contenido de P en semilla	0.09	-0.10
Contenido de K en semilla	-0.32***	-0.15
Contenido de CTN en semilla	-0.07	0.27**
Contenido de ceniza en semilla	-0.22*	0.04

\*, \*\*, \*\*\* Significante a los niveles de probabilidad de 0.05, 0.01 y 0.001, respectivamente.

Es importante señalar que el contenido de CTN en la semilla en el momento de la cosecha de las dos accesiones de *P. acutifolius* (G 40068 y G 40159), en condiciones de temporal, también fue mayor que el de muchos genotipos (Figura 31). Entre las líneas SEA que se mejoraron para que se adaptaran mejor a la sequía, SEA 23 y SEA 15 presentaron mayores cantidades de CTN en los brotes y niveles moderados de CTN en la semilla (Figuras 30 y 31). Por lo general, el mayor rendimiento en condiciones de temporal se asoció con la mayor cantidad de CTN en los brotes ( $r = 0.52^{***}$ ) a excepción de RAB 650, que combinó un mayor rendimiento con un nivel moderado de CTN en los brotes (Cuadro 31; Figura 30). Es posible que esta línea avanzada (RAB 650) pueda mantener mayores tasas de transporte de fotosintatos durante el llenado de los granos en condiciones de estrés por déficit hídrico.



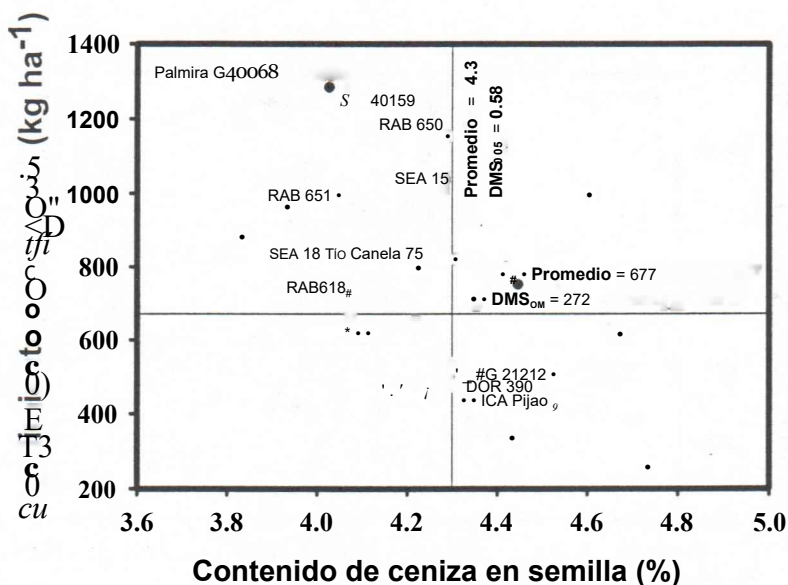
**Figura 30.** Identificación de genotipos que combinan rendimiento de semilla superior con alto contenido de carbohidratos totales no estructurales (CTN) en la parte aérea, cuando crecen en condiciones de sequía en un Molisol de Palmira. Los genotipos con mayor rendimiento y con mayor contenido de CTN en parte aérea se identificaron en el recuadro superior derecho.



**Figura 31.** Identificación de genotipos que combinan rendimiento de semilla superior con alto contenido de carbohidratos totales no estructurales (CTN) en la semilla, cuando crecen en condiciones de sequía en un Molisol de Palmira. Los genotipos con mayor rendimiento y con mayor contenido de CTN en la semilla se identificaron en el recuadro superior derecho.

Encontramos que el desempeño superior de ciertos genotipos de frijol en condiciones de temporal podría relacionarse con el menor contenido de P en la semilla (CIAT, 2000). Probamos adicionalmente esta relación midiendo el contenido de nutrientes (N, P, K, Ca y Mg) y el contenido de ceniza en la semilla (mineral total). Hubo una relación significativa entre el rendimiento de grano y el contenido de ceniza en la semilla en condiciones de temporal (Figura 32; Cuadro 31). Las dos accesiones de *P. acutifolius* (G 40068 y G 40159) presentaron menores contenidos de ceniza y de P en la semilla que la mayoría de los genotipos evaluados en condiciones de temporal (Figuras 32 y 33). Varios materiales que tuvieron un desempeño superior combinaron alto rendimiento de grano con menores contenidos de ceniza y de P en la semilla (Figuras 32 y 33).

La línea mejorada SEA 23 fue sobresaliente al combinar mayor rendimiento con mayores niveles de N (proteína) en la semilla en condiciones de temporal (Figura 34). Aunque las dos accesiones de *P. acutifolius* (G 40068 y G 40159) fueron sobresalientes en rendimiento de grano en condiciones de temporal y presentaron menores niveles de N en la semilla (Figura 34), lo que indica una mayor eficiencia de uso de N (g de rendimiento de grano por g de absorción de N) (Figura 35). Una de las líneas mejoradas, RAB 650, fue similar a las dos accesiones de *P. acutifolius* respecto a su capacidad sobresaliente para utilizar el N y el P adquiridos para la producción de granos.



**Figura 32.** Identificación de genotipos que combinan rendimiento de semilla superior con menor contenido de ceniza en la semilla, cuando crecen en condiciones de sequía en un Molisol de Palmira. Los genotipos con mayor rendimiento y con menor contenido de ceniza en la semilla se identificaron en el recuadro superior izquierdo.

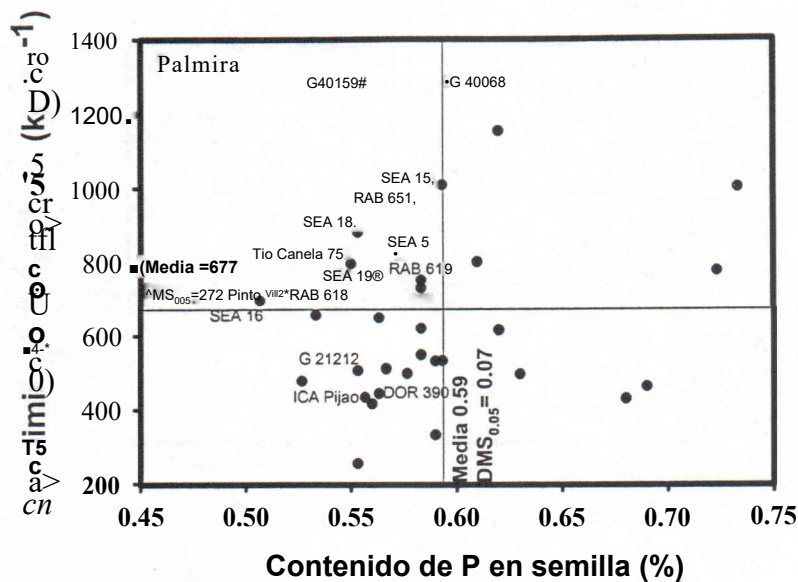


Figura 33. Identificación de genotipos que combinan rendimiento de semilla superior con menor contenido de P en la semilla, cuando crecen en condiciones de sequía en un Molisol de Palmira. Los genotipos con mayor rendimiento y con menor contenido de P en la semilla se identificaron en el recuadro superior izquierdo.

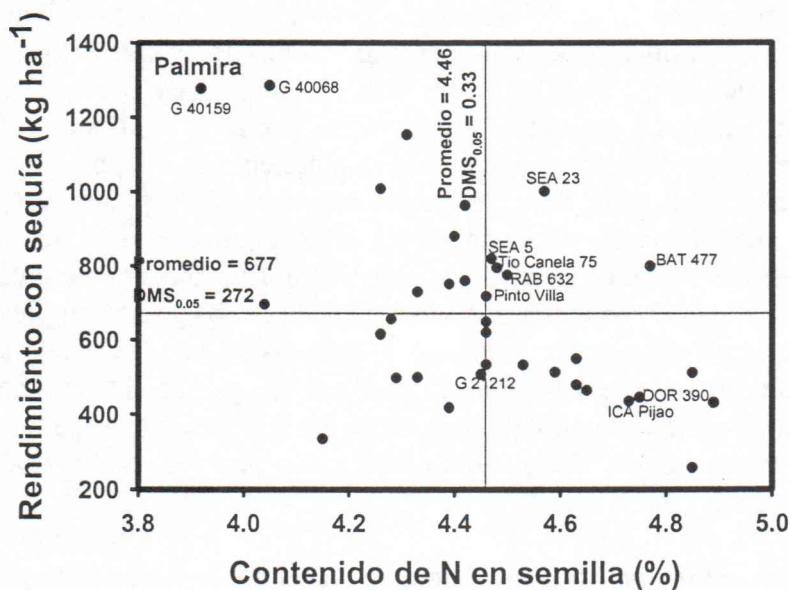


Figura 34. Identificación de genotipos que combinan rendimiento de semilla superior con mayor contenido de N en la semilla, cuando crecen en condiciones de sequía en un Molisol de Palmira. Los genotipos con mayor rendimiento y con mayor contenido de N en la semilla se identificaron en el recuadro superior derecho.



estuvo relacionada con el rendimiento de semilla en condiciones de temporal. También se observó una relación negativa significativa entre el rendimiento de semilla y el contenido de N en la semilla en condiciones de temporal. Esta observación indica que los materiales que presentaron un desempeño superior movilizaron mayores cantidades de fotosintatos hacia la semilla por unidad de N en la semilla.

Parece que las dos accesiones de *P. acutifolius* (G 40068 y G 40159) y las dos líneas mejoradas (SEA 23 y SEA 15) podrían movilizar cantidades mayores de fotosintatos desde las hojas y los tallos hacia los granos durante el estrés por déficit hídrico. El uso de estos genotipos en el programa de mejoramiento podría contribuir a un mayor potencial de rendimiento en condiciones de temporal como consecuencia de la mayor utilización de fotosintatos. Se encontró que la adaptación superior de estos genotipos a la sequía se debía a la utilización eficiente de N y P para la producción de granos (Figura 34), además de la movilización de fotosintatos.

**Conclusiones:** Este estudio de campo indicó que dos accesiones de *P. acutifolius* (G 40068 y G 40159) y una línea mejorada (RAB 650) sobresalieron por su adaptación a las condiciones de estrés por déficit hídrico. El desempeño superior de estos tres genotipos en condiciones de sequía se asoció con su capacidad para movilizar fotosintatos para el desarrollo de granos y para utilizar más eficientemente el N y P adquiridos para la producción de grano.

## Referencias

- CIAT. 1998. Bean Project Annual Report 1997. CIAT, Cali, CO. 197 p. (Working Doc. No. 177).
- CIAT. 2000. Annual Report 2000 Project IP-1. CIAT, Cali, CO. 188 p. (Working Doc. No. 189).
- CIAT. 2001. Annual Report 2001 Project IP-1. CIAT, Cali, CO. 183 p. (Working Doc. No. 189).
- Merah, O.; Deléens, E.; Souyris, I. y Monneveux, P. 2001. Ash content might predict carbon isotope discrimination and grain yield in durum wheat. *New Phytol.* 149: 275-282.

## CIAT

### PLAN OPERATIVO ANUAL 2002-2003

**PROYECTO 2.** MEJORAMIENTO GENETICO DE FRIJOL ANDINO CARIBEÑO

**SUBPROYECTO 2.1.** Desarrollo de líneas y variedades con resistencia a limitantes bióticas

**RESPONSABLE:** Matthew Blair

**RESULTADO R.2.** Se han desarrollado poblaciones segregantes, líneas y cultivares con genes de resistencias a enfermedades y plagas

ACTIVIDADES S.2.1	METAS	PRESUPUESTO
<b>2.1.1 Desarrollo de líneas de valor comercial con resistencias múltiples</b>		
2.1.1.1 Selección de líneas con grano rojo moteado para factores múltiples, como <i>Empoasca</i> , Bacteriosis Común y Mancha Angular	Mas de 200 líneas evaluadas para factores múltiples	3,000
2.1.1.2 Selección asistida por marcadores para desarrollo de líneas elites (bgm-1 y CBB)	Mas de 100 líneas evaluadas para marcadores moleculares	900
2.1.1.3 Uso de cruzas amplias para mejorar variedades andinas Caribeñas	Líneas provenientes de cruzas amplias con 2 padres recurrentes Caribeños	1.000
2.1.1.4 Selección de volubles con tolerancia al calor	Conocimiento de interacción genotipo x ambiente y tolerancia al calor para frijol voluble	900
2.1.1.5 Preparación de entradas para vivero del VICARIBE	Envío viveros a socios en Haití, Puerto Rico y República Dominicana.	1,000
<b>PRESUPUESTO TOTAL S.2.1</b>		<b>6.800</b>

## Actividad 2.1.1 Desarrollo de líneas de valor comercial con resistencias múltiples

### Aspectos destacados:

- Se hicieron nuevas cruzas para incorporar la resistencia a *Empoasca* en frijol rojo moteado para el Caribe y otras regiones.

#### 2.1.1.1 Selección de líneas con grano rojo moteado para factores múltiples, como *Empoasca*, Bacteriosis Común y Mancha Angular

### Nuevas cruzas para incorporar la resistencia a *Empoasca* en líneas rojas moteadas

**Justificación:** Los saltahojas constituyen una de las plagas más severas del frijol andino cultivado en zonas de altitud baja a media. Tradicionalmente, el frijol andino ha presentado menos resistencia a *Empoasca* que el frijol mesoamericano. La finalidad de esta investigación fue transferir al frijol andino rojo moteado la resistencia a *Empoasca* encontrada en algunos genotipos mesoamericanos.

**Materiales y métodos:** En Palmira, se cultivaron 505 plantas Fi de cruzas triples, de las cuales 460 tenían un progenitor resistente y 45 dos progenitores EMP resistentes, en 200IB (Cuadro 32). Los progenitores resistentes utilizados incluyeron los genotipos rojos moteados EMP 122, EMP277, EMP320, EMP322 y EMP364, además de los genotipos carioca, EMP250 y EMP496. La resistencia al VMDAF fue proporcionada por DOR476, DOR482, UPR9745-138 y UPR9745-226. Los progenitores susceptibles incluyeron tipos comerciales de grano grande para América del Sur (AFR298 y SEQ1033) y fuentes de otros tipos de resistencia (BRB32, BRB190 y CAL143), así como tipos de grano más pequeño para el Caribe (PC50, Saladin 97 y Velasco Largo).

**Resultados y discusión:** Algunas de las progenies de las cruzas triples presentó mejor calidad de grano que las actuales líneas EMP rojas moteadas. Algunas de las cruzas triples, especialmente con las líneas mesoamericanas DOR482, EMP250 y EMP496 y las líneas mejoradas rojas moteadas EMP122, EMP320 y EMP364, produjeron segregantes letales enanos en combinación con progenitores andinos. Sin embargo, muchas combinaciones produjeron un gran número de híbridos rojos moteados que fueron seleccionados.

**Conclusiones y planes futuros:** Ya que la piramidación de genes parece necesaria para lograr niveles altos de resistencia a *Empoasca*, nuestra estrategia es usar más de un progenitor EMP por craza. En nuestras últimas series de cruzas triples incluimos dos progenitores de la serie EMP en cerca del 10% de las cruzas para el frijol rojo moteado. Las familias F2 serán divididas en dos grupos con base en la selección con el marcador *bgm-l* las que resulten positivas serán avanzadas una generación adicional antes de la selección por resistencia a *Empoasca*-, las que resulten negativas se seleccionarán en la generación F2. En cruzas adicionales estamos proyectando la resistencia a *Empoasca* hacia genotipos que necesitarán más resistencia a este insecto —en áreas como el Caribe donde el frijol se produce en condiciones de tierras bajas, la infestación es alta y los pequeños agricultores no pueden asumir los costos del control químico.

**Cuadro 32.** Cruzas triples y número de plantas F] seleccionadas en Palmira, en 2001 A.

Cruza	# Plantas F,	dwf letal
Emp. 122 x (Emp.250 x UPR 9745-226)	12	no
Emp. 122 x (Emp 364 x UPR 9745-226)	29	no
Emp. 320x(Emp 250 x UPR 9745-226)	4	seg
BRB 32x(Emp 250 x UPR 9745-226)	10	seg
BRB 32x(Emp 364 x UPR 9745-226)	22	seg
BRB 32x(DOR 476 x Emp 122)	11	no
BRB 32x(DOR 476 x Emp 320)	4	no
BRB 190x(Emp 250 x UPR 9745-226)	9	no
BRB 190x(Emp 364 x UPR 9745-226)	8	no
BRB 190x(DOR 482 x Emp 122)	10	no
BRB 190x(DOR 482 x Emp 320)	13	no
CAL 143x(Emp 320 x UPR 9745-226)	37	no
CAL 143x(Emp 364 x UPR 9745-226)	7	no
CAL 143x(DOR 476 x Emp 122)	20	no
CAL 143x(DOR 476 x Emp 320)	10	no
CAL 143x(DOR 482 x Emp 320)	21	no
COS 16x(Emp 250 x UPR 9745-226)	3	seg
COS 16x(Emp 364 x UPR 9745-226)	8	seg
BRB 203x(Emp 250 x UPR 9745-226)	12	seg
BRB 203x(Emp 364 x UPR 9745-226)	14	seg
PC 50x(Emp 250 x UPR 9745-226)	4	no
PC 50x(Emp 496 x UPR 9745-226)	5	seg
PC 50x(Emp 364 x UPR 9745-226)	12	seg
PC 50x(DOR 476 x Emp 122)	18	no
PC 50x(DOR 476 x Emp 320)	14	no
PC 50x(DOR 482 x Emp 122)	8	no
SALADIN 97x(Emp 250 x UPR 9745-226)	8	seg
SALAD IN 97x(Emp 364 x UPR 9745-226)	6	no
SALADIN 97x(Emp 496 x UPR 9745-226)	5	seg
SALADIN 97x(DOR 476 x Emp 122)	15	no
SALADIN 97x(DOR 476 x Emp 320)	1	no
SALADIN 97x(DOR 482 x Emp 122)	10	seg
AFR 298x(DOR 476 x Emp 122)	22	no
AFR 298x(DOR 476 x Emp 320)	1	no
BRB 181x(DOR 476 x Emp 122)	7	no
BRB 181x(DOR 476 x Emp 320)	1	no
BRB 181x(DOR 482 x Emp 122)	3	seg
BRB 181x(DOR 482 x Emp 320)	7	seg
BRB 189 x(DOR 476 x Emp 122)	19	no
BRB 189x(DOR 476 x Emp 320)	16	no
Seq 1033x(DOR 476 x Emp 122)	4	no
Seq 1033x(DOR 476 x Emp 320)	4	no
Seq 1033x(DOR 482 x Emp 122)	24	no
Seq 1033x(DOR 482 x Emp 320)	17	no
VELASCO LARGOx(DOR 476 x Emp 122)	1	no
VELASCO LARGOx(DOR 476 x Emp 320)	7	no
VELASCO LARGOx(DOR 482 x Emp 122)	2	seg
Total	505	

## **Evaluación de líneas nativas del Caribe respecto al potencial de rendimiento y la resistencia a BC**

### **Aspectos destacados:**

- Se evaluó un conjunto de líneas nativas del Caribe respecto a su potencial de rendimiento y resistencia a bacteriosis común (BC)
- Se realizaron cruza triples entre genotipos andino y Durango para desarrollar tolerancia a la sequía en genotipos de frijol arbustivo rojo moteado.

**Justificación:** El frijol rojo moteado es un tipo de grano importante para Haití y República Dominicana. Aunque éste es el tipo preferido en muchas comunidades en Hispaniola, la producción de frijol rojo moteado es insuficiente para satisfacer la demanda, lo que conlleva a que sea necesario importar frijol seco (principalmente frijol Pinto) de los Estados Unidos y otros países. La producción local está limitada por las enfermedades como la BC y el virus del mosaico dorado amarillo del frijol (VMDAF). El objetivo de este trabajo fue probar las líneas nativas rojas moteadas del Caribe respecto a su potencial de rendimiento y resistencia a la BC.

**Materiales y métodos:** Se cultivaron un total de 72 líneas nativas (56 de República Dominicana y 16 de Haití) en dos ensayos de rendimiento repetidos en CIAT, Palmira, en los semestres 2001A y 2001B. Se utilizaron cinco variedades testigo, que incluyeron dos con hábito de crecimiento tipo I (G 4494 y AFR735) y tres de crecimiento indeterminado (A36, AFR699 y AND 1090). G4494 es un testigo comercial local en Colombia, conocido como Calima. En ambos experimentos se empleó un diseño de bloques completos al azar, con tres repeticiones. En el primer semestre, los genotipos fueron inoculados con un aislamiento local de la bacteria que causa la BC, en tanto que en el segundo semestre se cultivaron sin inoculación. En el ensayo en que hubo inoculación, también se incluyó un testigo susceptible (BAT41) y uno resistente (VAX3) cada 20 hileras. Estos testigos también se plantaron como tratamientos en el experimento, además de utilizar las cuatro variedades testigo enumeradas.

**Resultados y discusión:** La correlación entre los rendimientos en los dos ambientes ( $r=0.590$ ) fue alta. También se encontraron correlaciones significativas altas entre días a la madurez y días a floración tanto entre ambientes como en cada ambiente (Cuadro 33). La infección de BC no se correlacionó con el rendimiento en el ambiente donde hubo inoculación en el semestre 2001 A, pero se correlacionó levemente con el rendimiento en el ambiente donde no hubo inoculación en el semestre 2001B. Esto puede explicarse por el hecho de que la mayor infección de BC se correlacionó con la floración tardía y las variedades de floración tardía arrojaron mayores rendimientos en el primer semestre que en el segundo, donde prevaleció la enfermedad.

**Cuadro 33.** Correlaciones entre el rendimiento, la fecha de floración, la fecha de madurez y la infección de BC en el CIAT, Palmira, en 2001A y 2001B.

Carácter	Palmira 2001B Sin inocular			Palmira 2001A Inoculado			
	df	dm	Rendimiento	df	BC	Rendimiento	
Palmira 200 IB	df	1.000	0.515	0.207	0.785	-0.407	0.180
	dm		1.000	-0.099	0.382	-0.324	-0.157
	rendimiento			1.000	0.412	0.223	0.590
Palmira 2001A	df			1.000	-0.294	0.303	
	BC				1.000	-0.014	
	rendimiento					1.000	

En el Cuadro 34 aparecen el rendimiento, la fecha de floración, la fecha de madurez y la reacción de BC de los 72 genotipos. Se observaron diferencias significativas para los cuatro caracteres en ambos ambientes. Algunas de las líneas nativas presentaron un alto potencial de rendimiento que sobrepasó los testigos locales. Se encontró muy poca resistencia en los genotipos del Caribe, en comparación con el testigo resistente, VAX3 (puntaje de 2.0). Todos los genotipos haitianos fueron altamente susceptibles, con puntajes entre 5.6 y 7.6. Entre los genotipos dominicanos, sólo las accesiones X043-14 y X043-20 arrojaron puntajes de 2.7 y 3.3, respectivamente, mientras que las demás accesiones presentaron puntajes entre 5.3 y 8.0. No se esperaba encontrar mucha resistencia en las líneas nativas; de manera que fue sorprendente encontrar estos dos. Esto destaca la importancia de la introgresión de genes de resistencia a BC de fuentes conocidas como las series VAX, en variedades rojas moteadas para el Caribe.

**Conclusiones y planes futuros:** Como parte del esfuerzo por mejorar germoplasma para el Caribe, se seleccionaron cuatro genotipos de este conjunto para incluirlos en las cruzas para el programa de mejoramiento. Estos progenitores incluyeron los dos genotipos de más alto rendimiento de cada país. Se seguirá investigando la utilidad de estos genotipos en actividades de mejoramiento adicionales. Deben hacerse ensayos a nivel de finca y distribuir más ampliamente las mejores entradas en los ambientes de ladera de Haití y República Dominicana. Resultó interesante que el tamaño del grano fue más pequeño en muchas de las líneas haitianas que en las líneas dominicanas. Mientras que en República Dominicana muchos de los genotipos presentaron un tamaño de grano mediano a grande, incluyendo los tipos José Beta que tienen casi las mismas medidas que Calima, en Haití muchas de las líneas presentaron grano pequeño lo cual es característico de los tipos mesoamericanos. Esto puede reflejar el origen de las líneas nativas así como las preferencias de los consumidores en estos países. Sería interesante evaluar en Haití la preferencia de los consumidores respecto al frijol rojo moteado, donde los consumidores tienen a su alcance una amplia gama de clases de frijol por las importaciones y la producción local.

Cuadro 34. Germoplasma de Haití y República Dominicana probado en el CIAT, Palmira, en 2001A y 2001B.

Genotipo	Palmira 2001B Palmira 2001A					Genotipo	Palmira 2001B Palmira 2001A				
	dí	dm	Rend.	BC	Rend.		df	dm	Rend.	BC	Rend.
<b>Líneas Haitianas</b>						<b>Líneas Dominicanas (cont.)</b>					
X 029-35	34	76	1990.0	6.67	1500.0	X 043-14	38	71	1377.4	2.67	1409.3
X 029-36	35	74	2500.2	7.67	2087.0	X 043-15	35	76	1403.3	7.67	785.2
X 029-37	36	76	2075.4	7.00	2244.4	X 043-16	33	72	1575.0	7.00	1511.1
X 029-38	36	72	2045.4	7.33	2401.9	X 043-17	36	75	1884.3	7.00	1553.7
X 029-39	37	76	2274.6	6.67	1653.7	X 043-18	36	80	1787.4	5.33	1503.7
X 029-40	34	69	2082.4	7.67	2281.5	X 043-19	36	78	2104.4	4.67	1477.8
X 029-42	35	74	2557.0	7.33	1948.2	X 043-20	36	80	2017.6	3.33	1920.4
X 029-43	32	72	1362.2	5.67	1050.0	X 043-21	36	78	2346.7	4.33	2020.4
X 029-44	35	73	2521.3	7.00	2570.4	X 043-22	36	77	2112.4	6.67	925.9
X 029-45	36	74	2495.7	7.33	1627.8	X 043-23	33	73	2312.8	7.33	1633.3
X 029-46	36	74	2368.7	6.67	2107.4	X 043-24	38	78	2590.7	7.00	1488.9
X 029-47	35	74	2146.5	7.00	2038.9	X 043-25	33	73	1603.3	7.00	1200.0
X 029-48	35	72	2193.0	7.67	1935.2	X 043-26	36	79	1961.1	7.00	1694.5
X 029-51	35	71	2478.3	7.00	1903.7	X 043-27	36	74	1567.4	7.67	970.4
X 029-52	33	75	1883.3	6.67	1659.3	X 043-28	36	80	1252.2	8.00	885.2
X 029-53	36	74	2359.6	7.00	1772.2	X 043-29	36	79	2398.9	7.67	2353.7
						X 043-30	34	70	1832.0	7.33	2368.5
						X 043-31	32	70	2304.1	7.33	1722.2
						X 043-32	34	76	2638.0	7.33	1896.3
<b>Líneas CIAT (testigo)</b>											
G 4494	34	77	1402.0	7.00	1170.4	X 043-33	39	77	2783.7	7.33	2025.9
A 36	38	80	2243.9	7.00	609.3	X 043-34	34	73	2466.7	7.33	1764.8
AFR 735	35	79	1298.0	5.33	1190.7	X 043-35	37	80	2455.6	6.67	2274.1
AFR 699	36	79	2474.3	6.67	1522.2	X 043-36	35	73	2337.0	7.33	2511.1
AND 1090	41	80	2078.0	2.33	1381.5	X 043-37	33	74	2170.7	7.33	2001.9
BAT 41	-	-	-	7.92	1665.0	X 043-38	36	76	2896.1	7.33	2407.4
VAX 3	-	-	-	2.00	2636.8	X 043-39	33	71	2100.9	7.00	1559.3
						X 043-40	33	72	2801.3	7.00	1638.9
						X 043-41	33	70	2172.6	7.33	1950.0
						X 043-42	33	71	2944.1	7.33	2187.0
<b>Líneas Dominicanas</b>											
X 043-1	34	71	1858.3	7.33	1344.4	X 043-43	34	71	2315.4	7.67	1814.8
X 043-2	33	71	1687.0	7.00	1322.2	X 043-44	33	74	2825.7	7.67	1798.2
X 043-3	34	76	2246.9	7.33	1320.4	X 043-45	35	73	2259.3	8.00	2272.2
X 043-4	34	74	1461.9	6.33	972.2	X 043-46	34	74	2345.2	7.67	2020.4
X 043-5	33	72	1781.5	7.00	1122.2	X 043-47	34	73	2236.7	8.00	2122.2
X 043-6	34	77	1657.0	5.33	1644.4	X 043-48	34	73	2393.0	6.00	1881.5
X 043-7	31	75	1908.0	8.00	974.1	X 043-49	36	74	2282.4	6.33	1961.1
X 043-8	33	74	1372.6	7.33	1274.1	X 043-50	35	74	2280.6	8.00	1950.0
X 043-9	33	71	1562.4	6.67	1270.4	X 043-51	38	72	2710.7	7.00	2546.3
X 043-10	33	76	1374.3	7.33	1124.1	X 043-52	34	69	2578.7	7.00	1368.5
X 043-11	33	72	1867.2	7.67	1063.0	X 043-53	34	77	2317.8	8.00	1103.7
X 043-12	36	78	1881.9	7.33	1922.2	X 043-54	35	72	2750.7	7.00	1931.5
X 043-13	36	77	2326.9	7.00	2620.4	X 043-55	35	69	2346.7	8.00	1477.8
						X 043-56	35	72	2416.1	7.33	1625.9
CV	2.7	3.7	18.1	11.1	22.1	CV	2.7	3.7	18.1	11.1	22.1
DMS	1.5	4.5	622.69	1.23	605.35	LSD	1.5	4.5	622.69	1.23	605.35

### 2.1.1.2 Selección asistida por marcadores para desarrollo de líneas élites (*bgm-1* y CBB)

#### **Desarrollo de frijol arbustivo rojo moteado con resistencia al VMDAF y a BC mediante la selección con ayuda de marcadores y la prueba de progenies**

##### **Aspectos destacados:**

- Se aplicó selección con la ayuda de marcadores para hacer introgresión de genes del virus del mosaico amarillo dorado del frijol en líneas mejoradas avanzadas con tipo de grano rojo moteado.
- Se utilizaron líneas VAX para desarrollar resistencia al bacteriosis común (BC) en la clase de grano rojo moteado.

**Justificación:** El virus del mosaico dorado amarillo del frijol (VMDAF) y la BC son enfermedades importantes que afectan las zonas tropicales productoras de frijol. El frijol rojo moteado es uno de los pocos tipos andinos que se cultiva en las zonas de altitud baja y media de la región donde están presentes el vector y el virus. El VMDAF es un problema endémico bien reconocido en frijol rojo moteado cultivado en el Caribe (Haití y República Dominicana). En consecuencia, es importante la pirimidación de genes de resistencia a estos dos agentes patógenos en los mismos genotipos. La mayoría de los genes de resistencia para estas dos enfermedades han sido mejorados en el acervo de genes mesoamericano o se han originado de él. Unos pocos han sido transferidos al acervo de genes andino y las clases de semilla comercial como el rojo moteado. En vista de los retos que representa el trabajo con cruza entre acervos de genes, la selección con la ayuda de marcadores es una herramienta trascendental para romper el arrastre de ligamientos y para un retomo más rápido a los antecedentes andinos al hacer introgresión de los genes mesoamericanos en los genotipos andinos. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue desplegar los genes de resistencia al VMDAF y a la BC en nuevos genotipos rojos moteados mediante la selección con la ayuda de marcadores (MAS). Aplicamos el mejoramiento mediante MAS tanto al mejoramiento de las líneas avanzadas del CIAT como a los genotipos de Cuba (Velasco Largo), República Dominicana (PC50, CIAS98, JB178 y Saladin 97) y Haití (razas nativas recolectadas por E. Prophete). Otra meta fue la pirimidación de estas resistencias, con la resistencia con base en arcelina a brúchidos.

**Materiales y métodos:** Se realizaron actividades de selección, con la ayuda de marcadores, respecto a la resistencia al VMDAF y a la BC en generaciones tempranas y avanzadas (Fj, F2 y F6-7) derivadas de cruza sencillas, triples o múltiples. Se utilizaron dos marcadores moleculares para seleccionar respecto a la resistencia al VMDAF en frijol rojo moteado. El marcador de SCAR, DOR21, está estrechamente ligado al principal gen de resistencia recesiva, *bgm-1*, mientras que un segundo marcador de SCAR, W012, está asociado con un loci de caracteres cuantitativos (QTL) para la resistencia al VMDAF que se encontró en el cromosoma B04. Se utilizó un tercer marcador de SCAR, SU91, para seleccionar respecto a un QTL principal para la resistencia a la BC en un subconjunto de líneas segregantes. Con un abre-huecos, se recolectó el ADN de las plantas cultivadas en el campo y se extrajo con un procedimiento de lisis alcalina (protocolos de la Unidad de Biotecnología del CLAT). En el

caso del material de generaciones tempranas F<sub>1</sub> o F<sub>2</sub>, las plantas se marcaron y analizaron individualmente, mientras que para el material derivado de las generaciones F<sub>6</sub> o F<sub>7</sub> se analizaron cuatro plantas por hilera. No se analizó ninguna planta que presentaba el fenotipo letal enano que es común entre cruza entre los acervos de genes andino y mesoamericano, especialmente en las primeras generaciones. El material de generaciones tempranas fue cultivado en hileras cortas en un vivero F<sub>1</sub>-F<sub>2</sub>, mientras que las líneas avanzadas F<sub>0</sub>-F<sub>7</sub> fueron cultivadas en un ensayo preliminar de rendimiento, con tres repeticiones y en parcelas de hileras individuales de 3 m. En los dos ensayos de rendimiento realizados en Palmira, en 2002A, se emplearon seis testigos rojos moteados: A36, AFR699, AFR735, G4494, PC50 y PVA773. En el primer ensayo de rendimiento se compararon candidatos al vivero de VICARIBE y, en el segundo, líneas derivadas de la retrocruza PC50 x (PC50 x SAM1). PC50 es la variedad Pompadour Checa G18264.

Resultados y discusión: El objetivo de esta investigación fue poner en práctica la MAS para dos marcadores de resistencia al VMDF y un marcador de resistencia a la BC, en dos etapas del proceso de mejoramiento: (1) eliminar el gameto o los segregantes en material de generación temprana y ahorrar espacio y recursos dedicados al desarrollo de poblaciones; y (2) seleccionar líneas avanzadas que fueron seleccionadas respecto a los caracteres múltiples y confirmar la presencia de los genes de resistencia al VMDF durante los ensayos de rendimiento de líneas avanzadas antes de incluirlas en los viveros destinados a la región del Caribe. Las líneas rojas moteadas para el Caribe han sido denominadas líneas RMC.

En la primera serie de ensayos había cruza para resistencia a la BC y al VMDF. De las cruza respecto a la BC, se seleccionaron un total de 355 gametos en la generación F<sub>1</sub> de un total de 30 cruza dobles y triples realizadas en 2001 (Cuadro 35). Todos los híbridos contenían en su árbol genealógico cualquiera de las dos líneas de grano rojo con resistencia a la BC, VAX3 o VAX6. El mayor número de selecciones de gametos que se realizaron en una sola cruza fue para el árbol genealógico (VAX6 x CAL143) x (IJR x BRB191), que incluyó un progenitor con resistencia a la mancha angular (CAL143) y uno con resistencia al virus del mosaico común del frijol (VMCF) (BRB191) junto con una variedad que presenta buena tolerancia a altas temperaturas (IJR, Jamaica Red indeterminado). Para las cruza respecto al VMDF, hubo cruza sencillas y triples de fuentes de resistencia al VMDF (RMC 10 o RMC 11) por varias razas nativas de Haití (X029-43, 47 y 52).

En la segunda serie de ensayos de rendimiento, se confirmó la resistencia al virus del mosaico dorado del frijol (VMDF) con el marcador de SCAR, *bgm-1*. Para verificar la variación entre plantas, se utilizó una muestra de tejido de ocho plantas por tratamiento para el análisis de marcadores. Los ensayos de rendimiento se realizaron por separado para 25 líneas derivadas de cruza de múltiples progenitores (Cuadro 36) y para 39 líneas que fueron derivadas de la retrocruza PC50 x (PC50 x SAM1) (Cuadro 37). Los coeficientes de variación para el rendimiento, en kg/ha, fueron de 17% a 19% para ambos ensayos. Los mayores rendimientos para ambos ensayos fueron de cerca de 2200 kg/ha. Para el segundo ensayo, estos resultados fueron promisorios, dado que los rendimientos de los progenitores recurrentes estuvieron apenas entre 1200 y 1500 kg/ha.

Conclusiones y planes futuros: Puesto que el VMDF no puede ser evaluado en el campo en el CIAT y es difícil inocular el virus en forma artificial, la MAS es un buen sustituto para la selección fenotípica. Por otra parte, la resistencia a la BC es fácil de evaluar en el campo, pero todavía se justifica la MAS debido al ahorro en espacio que se logra cuando los marcadores se aplican en una etapa temprana de la selección de gametos en la generación Fj.

Una vez que hayamos incorporado ampliamente el gen *bgm-1* y los QTL de la BC en el germoplasma rojo moteado, planeamos utilizar más intensivamente el marcador de SCAR, W012, en la MAS para acumular un QTL adicional para la resistencia al VMDF en estas líneas. También planeamos piramidar la resistencia, con base en arcelina, a brúchidos (ver el resultado 2.2) en las líneas rojas moteadas.

Cuadro 35. Cruzas dobles y triples realizadas respecto a la resistencia a la BC en 2001 y número de gametos seleccionados en la generación F] para avanzar en 2002.

Cruza	No. de gametos
(VAX 3 x CAL 143) x RMC 10	10
(VAX 6 x BRB 191) x RMC 10	22
(VAX 3 x XO 29-47) x RMC 11	4
(VAX 3 x BRB 191) x RMC 11	18
(VAX 3 x CAL 143) x RMC 11	6
(VAX 3 x CAL 143) x CAL 96	9
(VAX 3 x BRB 191) x CAL 96	27
(VAX 6 x BRB 191) x CAL 96	29
(VAX 3 x CAL 143) x CAL 143	12
(VAX 3 x BRB 191) x CAL 143	16
(VAX 6 x BRB 191) x CAL 143	18
(VAX 3 x AND 277) x BRB 191	7
(VAX 3 x BRB 151) x COS 16	9
(VAX 3 x BRB 203) x COS 16	9
(VAX 3 x AFR 298) x BRB 181	4
(VAX 6 x MAM 38) x BRB 181	10
(VAX 3 x AFR 298) x BRB 189	1
(VAX 6 x AFR 298) x BRB 189	10
(VAX 6 x AND 277) x BRB 190	9
(VAX 6 x CAL 143) x BRB 190	0
(VAX 6 x AFR 298) x SEQ 1033	3
(VAX 6 x AND 277) x (G 17722 x BRB 191)	11
(VAX 6 x CAL 143) x (IJR x BRB 191)	22
(VAX 6 x BRB 151) x (IJR x BRB 203)	16
(VAX 6 x BRB 191) x (G 17722 x AND 277)	19
(VAX 6 x BRB 191) x (G 17722 x CAL 143)	13
(VAX 6 x BRB 203) x (IJR x BRB 151)	13
(VAX 6 x MAM 38) x (G 17722 x BRB 191)	19
(VAX 6 x AFR 298) x (IJR x MAM 38)	7
(VAX 6 x AFR 298) x (IJR x AFR 298)	2
Total	355

Cuadro 36. Ensayo de rendimiento de líneas avanzadas F<sub>s</sub> con resistencia al VMDAF, desarrolladas mediante la selección con la ayuda de marcadores a partir de cruza múltiples en Palmira, en 2002A.

Entrada	Árbol genealógico	<i>bgm-1</i>	DF	DM	G/pl	Rendimiento
20	CAL 143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))		31.3	81.3	6.0	1246.7
5	CAL 143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	-f	31.3	83.0	6.3	1435.2
11	CAL 143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	+	30.7	76.3	7.0	1567.3
2	A 193 X ((VAX3 X EMP366) X (TIOCANELA X PVA 800A))	+	32.7	81.7	7.8	1587.0
15	CAL 143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	+	33.3	80.7	8.2	1618.4
14	CAL 143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	+	31.7	81.0	8.8	1710.2
13	CAL143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	+	31.0	76.3	9.2	1712.1
23	AFR735		31.3	82.0	8.5	1740.2
12	CAL 143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	+	30.7	74.3	7.9	1763.4
18	CAL 143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	+	33.0	78.3	8.1	1766.6
25	G4494		30.0	76.3	9.6	1797.4
19	CAL143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	+	31.0	79.7	8.2	1799.7
16	CAL 143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	+	34.0	80.7	9.8	1812.7
9	CAL 143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	+	30.0	75.0	8.5	1819.6
17	CAL 143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	+	31.7	78.3	8.1	1820.5
4	CAL 143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	+	30.0	74.0	8.3	1936.8
8	CAL 143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	+	31.3	80.0	9.4	1951.6
10	CAL 143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	+	30.3	81.3	10.5	2061.4
3	A 193 X ((VAX3 X EMP366) X (TIOCANELA X PVA 800A))		31.7	82.3	9.6	2084.1
21	PVA773		33.7	81.0	10.6	2085.2
7	CAL 143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	+	30.3	75.0	10.8	2106.7
22	A 36		35.3	81.3	10.2	2115.9
6	CAL 143 X ((TIOCANELA X PVA 800A) X (VAX3 X A483))	+	31.0	79.7	10.4	2178.3
1	A 193 X ((VAX3 X EMP366) X (TIOCANELA X PVA 800A))		33.3	81.0	10.3	2188.0
24	AFR699		34.7	81.7	13.6	2222.7
	CV(%) *		4.9	2.4	23.3	19.8
	DMS		0.72	0.90	0.98	169.8

Cuadro 37. Prueba de rendimiento de las líneas con resistencia al VMDAF, desarrolladas a través de la selección con la ayuda de marcadores a partir de la retrocruza PC 50 x (PC 50 x SAM 1) en Palmira, en 2002A.

Trat.	Antecedentes de selección	DF	DM	G/pl	Rendimiento
1	. 4 - 4 W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-1 W-(M)W	31.0	81.7	10.7	2240.8
2	. 4 - 4W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-2W-(M)W	31.0	82.7	9.1	1746.2
3	. 4 - 4W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-2W-(M)W	30.3	77.7	7.5	1330.0
4	- 4 - 4W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-3W-(M)W	33.0	85.0	10.1	1548.4
5	. 4 - 4W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-4W-(M)W	31.3	77.3	11.0	2192.8
6	. 4 - 4W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-4W-(M)W	31.0	78.3	9.1	1873.7
7	. 4 - 4W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-5W-(M)W	30.3	80.3	6.8	1327.4
8	. 4 - 4W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-6W-(M)W	32.3	83.7	8.6	1818.0
9	. 4 - 4W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-6W-(M)W	31.0	80.3	9.2	1921.2
10	. 4 - 4W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-7W-(M)W	30.0	81.0	10.8	2173.2
11	. 4 - 4 W-CM(2) W-(CM) W-(M) W-7 W-(M) W	30.0	78.3	9.3	1761.6
12	- 7 - 7W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-1W-(M)W	30.3	75.7	6.6	1398.9
13	- 7 - 7W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-2W-(M)W	30.7	71.7	6.7	1374.7
14	- 7 - 7W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-3W-(M)W	30.7	74.3	6.9	1194.6
15	- 7 - 7W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-4W-(M)W	31.0	80.3	6.1	985.2
16	- 7 - 7W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-5W-(M)W	30.7	73.3	6.4	1262.6
17	- 7 - 7W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-6W-(M)W	30.7	76.3	7.3	1507.0
18	- 7 - 7W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-7W-(M)W	31.3	73.3	7.7	1543.5
19	-22-22W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-2W-(M)W	30.3	77.3	8.5	1634.7
20	-22-22W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-4W-(M)W	31.0	83.3	10.0	2017.5
21	-22-22W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-5W-(M)W	30.0	85.0	5.8	1297.1
22	-22-22W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-5W-(M)W	31.0	83.7	7.9	1436.0
23	-22-22W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-6W-(M)W	31.0	80.0	8.7	1898.2
24	-22-22W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-7W-(M)W	31.0	82.7	8.7	1616.9
25	-22-22W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-8W-(M)W	29.3	80.7	9.4	2034.3
26	-22-22W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-8W-(M)W	30.0	77.0	10.7	1984.0
27	-22-22W-CM(2)W-(CM)W-(M)W-9W-(M)W	30.3	78.3	8.1	1776.7
28	-29-29W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-1 W-(M) W	31.7	73.7	9.5	1844.9
29	-29-29W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-2W-(M)W	31.0	82.0	8.1	1676.2
30	-29-29W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-3W-(M)W	31.0	73.7	7.8	1685.5
31	-29-29W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-4W-(M)W	30.0	77.7	9.1	1862.1
32	- 5 - 5W-CM(5)W-(CM)W-(M)W-1W-(M)W	31.3	83.7	7.1	1255.1
33	- 5 - 5W-CM(5)W-(CM)W-(M)W-2W-(M)W	30.3	80.0	5.9	1107.4
34	- 5 - 5W-CM(5)W-(CM)W-(M)W-3W-(M)W	30.7	75.7	8.9	1486.2
35	- 6 - 6W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-1W-(M)W	29.7	78.0	11.0	1693.4
36	- 6 - 6W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-2W-(M)W	30.7	81.0	10.3	1822.2
37	- 6 - 6W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-3W-(M)W	30.3	76.7	7.6	1538.2
38	- 6 - 6W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-5W-(M)W	30.3	82.3	7.3	1407.5
39	- 6 - 6W-CM(7)W-(CM)W-(M)W-6W-(M)W	30.3	72.7	6.4	1327.2
40	(PC 50)	30.0	74.0	6.9	1240.3
41	(PC 50)	31.0	73.7	8.7	1542.1
42		36.0	85.0	8.9	1717.4
CV		2.4	3.3	21.7	17.2
DMS	0.419		0.844	0.7423	134.1

### 2.1.1.3 Uso de cruzas amplias para mejorar variedades andinas Caribeñas

#### **Cruzas triples entre los genotipos andino y Durango para desarrollar tolerancia de la sequía para el Caribe**

**Justificación:** Las poblaciones desarrolladas a partir de acervos de genes frijol arbustivo andino x mesoamericano casi siempre han sido improductivas en función del desarrollo de nuevas variedades de frijol. La razón de los fenotipos deficientes de híbridos entre acervos de genes puede ser las complejas interacciones epistáticas que se presentan en la progenie derivada de cruzas tan amplias. En un nivel práctico, las cruzas de frijol andino x mesoamericano tienden a arrojar tamaño de grano mediano a pequeño. No obstante, los tipos mesoamericanos son de interés para los programas de mejoramiento andinos porque poseen caracteres que faltan en el frijol andino. Uno de estos caracteres es la tolerancia de la sequía y la rusticidad que posee la raza Durango de frijol mesoamericano. El frijol Durango también tiene la ventaja de poseer colores de grano que son similares a los de algunos andinos (amarillo, crema y rojo), adaptándose a ciertos ambientes de tierras altas y presentando grano mediano en vez de pequeño. Dadas estas características, estamos interesados en ensayar un enfoque de retrocruza/cruza triple para realizar cruzas entre acervos de genes entre los genotipos andino y Durango. Esperamos responder las siguientes preguntas: (a) ¿Es suficiente una sola retrocruza con el hábito arbustivo andino cuando se incorporan genes de frijol trepador mesoamericano? y (b) ¿La heterosis, que se ha apreciado muchas veces en cruzas entre frijol arbustivo andino por frijol trepador mesoamericano, puede fijarse para producir una ventaja de rendimiento en variedades de frijol arbustivo andinas?

**Materiales y métodos:** Se hicieron un total de 10 cruzas sencillas y 91 cruzas triples. Se eligieron los progenitores Durango (Apetito, Flor de Mayo, Flor de Junio y SEA 15) con base en su tolerancia de la sequía, color del grano y adaptación a ambientes tropicales (Cuadro 38). Las tres primeras son variedades cultivadas en México, en tanto que SEA15 es una línea avanzada de CIAT derivada de ascendentes mesoamericanos y Durango. Los frijoles andinos utilizados como progenitores en la crusa sencilla con estas cuatro fuentes de Durango fueron AFR298, BRB191, CAL125 y G4523. Estos fueron seleccionados para proporcionar resistencia al VMCF (BRB191) y tolerancia de la sequía (AFR298 y CALI25). Los progenitores finales en las cruzas triples fueron también frijol arbustivo andino de las clases de grano comercial rojo moteado y rojo grande, que fueron seleccionados con base en su resistencia al VMCF (líneas BRB), resistencia al VMDAF (líneas RMC o PR), tolerancia de la sequía (líneas SEQ) y adaptación a las condiciones en República Dominicana (CIAS95, G17722 y PC50) o Haití (X029-42, X029-43 y XO52-10). En realidad, estas últimas seis líneas son líneas nativas o variedades mejoradas rojas moteadas de estos dos países que crecen bien en el CIAT y que fueron de interés para incorporar la resistencia a la sequía de Durango. Se cosecharon a granel las plantas  $F_1$  de cruzas múltiples en Palmira, en 2001B. En el siguiente ciclo de cultivo, se cultivaron en Palmira poblaciones  $F_2$  de cruzas triples y se hicieron selecciones de plantas individuales respecto a la adaptación y al hábito de crecimiento de frijol arbustivo (tipos I y II).

**Cuadro 38.** Progenitores empleados en las cruzas triples entre los genotipos Andino y Durango.

<b>Progenitor andino</b>		<b>Híbrido Fi Durango x Andino</b>
<b>Líneas rojas moteadas - CIAT</b>	<b>Líneas rojas moteadas - Rep. Dom.</b>	
BRB 190	CIAS 95	<b>Durango x rojo moteado</b>
BRB 198	G 17722	(APETITO x CAL 125)
BRB 203	G 18264	(APETITO x G 4523)
RMC 2		(FLOR DE MAYO x CAL 125)
RMC 3	<b>Líneas rojas moteadas- Univ. PR</b>	(FLOR DE MAYO x G 4523)
RMC 10	PR 9847-8	(FLOR DE JUNIO x CAL 125)
RMC 11	PR 9847-12	(SEA 15 x BRB 191)
SEQ 1036	PR 9913-23	(SEA 15 x CAL 125)
SEQ 1039	PR 9745-140	
	PR 9945-232	<b>Durango x rojo grande</b>
<b>Líneas rojas - CIAT</b>		(APETITO x AFR 298)
DRK 57	<b>Líneas rojas moteadas- Haití</b>	(FLOR DE MAYO x AFR 298)
G 6416	XO 29-42	(SEA 15 x AFR 298)
G 6592	XO 29-43	
SEQ 1027	XO 52-10	

**Resultados y discusión:** Se hicieron, en total, 790 selecciones de plantas individuales en la generación F<sub>1</sub>, las cuales se cultivaron como parcelas de hileras sencillas en la generación F<sub>2</sub> y se evaluaron respecto a su adaptación. Las mejores plantas dentro de cada hilera seleccionada fueron avanzadas hasta la generación F<sub>3</sub>. Fue necesario eliminar muchas plantas con hábito de crecimiento tipo III. También se hizo énfasis en la selección respecto al tamaño del grano por cuanto los pesos promedio del grano para las progenies híbridas estuvieron por debajo de los genotipos andinos característicos.

**Conclusiones y planes futuros:** Las familias F<sub>3</sub> de las selecciones de frijol trepador y arbustivo con el mejor tipo de grano, tolerancia del calor y arquitectura de planta serán avanzadas en Palmira.

#### 2.1.1.4 Selección de volubles con tolerancia al calor

Cruzas hechas. Poblaciones pendientes de evaluar

#### 2.1.1.5 Preparación de entradas para el vivero del VICARIBE

Véase Actividad 2.1.1 Informe Técnico Anual POA 2001-2002, CIAT, Abril 2002

## CIAT

### PLAN OPERATIVO ANUAL 2002-2003

**PROYECTO 3.** AMPLIACION DE LA BASE GENETICA Y ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD PATOGENICA

**SUBPROYECTO 3.2.** Caracterización de la Diversidad Patogénica

**RESPONSABLE:** Francisco J. Morales

**RESULTADO R.3.** Se identificaron nuevas fuentes de resistencia a los principales factores bióticos y se caracterizó la diversidad de los patógenos virales del frijol

<b>ACTIVIDADES S.3.2</b>	<b>METAS</b>	<b>PRESUPUESTO</b>
<b>3.2.1 Evaluación de padres potenciales y materiales avanzados por su resistencia a virus</b>	Seleccionar líneas de frijol resistentes a los principales virus que afectan al frijol en Mesoamérica.	2,000
<b>3.2.2 Selección por resistencia a enfermedades virales (VMCF, MSF y VMDF)</b>	Evaluar un cupo máximo de 500 líneas para BGYMV y 5000 para mosaico común	2,000
<b>3.2.3 Apoyo a NARs en diagnosis de virus</b>	Caracterización de virus que afectan el frijol en Centro América, México y el Caribe, con énfasis en virus transmitidos por mosca blanca y crisomélidos	4,000
<b>PRESUPUESTO TOTAL S.3.2</b>		<b>8,000</b>

### Actividad 3.2.1 Evaluación de padres potenciales y materiales avanzados por su resistencia a virus

### Actividad 3.2.2 Selección por resistencia a enfermedades virales (VMCF, MSF y VMDF)

#### Aspectos destacados:

- Las prácticas tradicionales comunes de fitomejoramiento siguen originando genotipos de frijol altamente resistentes para reducir las pérdidas de rendimiento causadas por el *virus del mosaico dorado amarillo del frijol* en Mesoamérica.
- No obstante la baja eficiencia en la incorporación de la resistencia recesiva (*be 3*) al virus del mosaico común en los genotipos de frijol de grano rojo, es posible realizar este proceso para conservar las características comerciales de los cultivares de grano rojo en América Central.

#### 3.2.2.1 Virus del mosaico dorado amarillo del frijol

La resistencia a esta enfermedad, transmitida por la mosca blanca, es imprescindible para las tierras bajas y los valles de altitud media de las regiones tropicales y subtropicales de América. Este año las poblaciones de mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en El Salvador alcanzaron los 200 individuos por planta (Figura 36). Incluso en la ausencia del virus (BGYMV), algunos campos de frijol resultaron con daños severos por la alimentación directa del insecto y el ataque resultante de la fumagina (Figura 37).



**Figura 36.** Infestación de mosca blanca en frijol común.



**Figura 37.** Planta de frijol afectada por la mosca blanca y fumagina (hongo).

La sección de Virología de Frijol seleccionó 33 familias F<sub>5</sub>-F<sub>6</sub> obtenidas a partir de cruzas interespecíficas entre *Phaseolus vulgaris* y *P. coccineus*, y 46 materiales mejorados derivados de retrocruzas en materiales de granos negro y rojo y los tipos de grano 'carioca'. De las 33 familias F<sub>5</sub>-F<sub>6</sub> obtenidas a partir de las cruzas interespecíficas, solamente 9 entradas mostraron incidencia de BGYMV por debajo del 25%, y hasta las entradas más resistentes (5) presentaron una incidencia del virus del 15%. Estos resultados respaldan la filosofía única aplicada por el CIAT respecto a la búsqueda de resistencia a los geminivirus transmitidos por la mosca blanca dentro de las diferentes razas de *Phaseolus vulgaris*, en lugar de hacerlo mediante la hibridación interespecífica. El segundo grupo de materiales mejorados (58 entradas) derivados de progenitores de frijol y de fuentes de resistencia ya está expresando altos niveles de resistencia al BGYMV (más del 60% de las entradas presentaron un puntaje promedio de 4) en relación con las entradas susceptibles (puntajes entre 5 y 7) y el testigo (puntaje 8).

### 3.2.2.2 Virus del mosaico común del frijol

El mejoramiento por resistencia al virus del mosaico común en genotipos de frijol de grano rojo ha sido muy difícil debido a que existen vínculos genéticos entre el color rojo de la testa y la susceptibilidad al *virus del mosaico común del frijol* (BCMV) y al *virus de la necrosis del mosaico común del frijol* (BCMNV). La incorporación del gen dominante de la necrosis (7) contra BCMV en estos materiales proporciona resistencia al virus; pero este gen oscurece el color de la testa, lo que disminuye su valor comercial. Los tipos de granos rojo oscuro/púrpura no tienen gran demanda por parte de los consumidores y, en consecuencia, tienen que venderse a un precio rebajado. Desde hace algún tiempo se sabe que el gen recesivo *be 3* también confiere resistencia al BCMV y no tiene el problema del vínculo indeseable que se observó con el gen dominante de la necrosis. Uno de los cultivares de grano rojo que presenta gran demanda es el cultivar centroamericano 'Rojo de Seda' (Figura 38), que ha sido seleccionado para probar esta estrategia.



Este año, se seleccionaron dos grupos diferentes de materiales derivados de la línea local 'Rojo de Seda', cruzados con fuentes de resistencia *be 3*, respecto a su reacción a la cepa NL4 de BCMV y la cepa NL3 de BCMNV, una combinación de patotipos necesarios para detectar ya sea el gen *I* o el de *be 3* sin protección. En esta selección, solamente seis de los 121 materiales evaluados presentaron resistencia homocigota respecto a *be 3*.

La incorporación del gen *be 3* como una nueva estrategia para controlar BCMV y BCMNV tiene ciertas limitaciones relacionadas con el escaso número de líneas resistentes homocigotas que pueden ser seleccionadas en generaciones tempranas e hasta en generaciones avanzadas. Esta observación explica, tal vez, la baja

**Figura 38.** Agricultor con frijol de grano rojo, el tipo preferido en El Salvador.

frecuencia de este gen en variedades modernas de frijol, pese a sus ventajas potenciales sobre los materiales con gen / dominante como fuente de resistencia a los virus. En una prueba de selección de BCMV, 227 líneas, seleccionadas de cruzas que incluían progenitores que poseían el gen *be 3*, produjeron sólo 3 líneas (<2%) con resistencia homocigota al virus.

Del número total de líneas evaluadas, el 41% resultó susceptible al mosaico común y menos del 1% presentó una respuesta de necrosis sistémica. Las demás líneas evaluadas estaban en proceso de segregación y, en consecuencia, requieren de otro ciclo de selección para recuperar algunos genotipos con mayor resistencia homocigota, que posean resistencia recesiva (*be 3*) al mosaico común/raíz negra.

En contraste con los resultados observados anteriormente, la incorporación de la resistencia dominante a BCMV es un proceso altamente eficaz que arroja un 25% o más de genotipos resistentes homocigotos en generaciones tempranas (F3 en adelante). Este año se seleccionaron diferentes materiales mejorados respecto a la presencia del gen de la necrosis. De un total de 434 materiales mejorados, derivados de las cruzas que incluían fuentes de resistencia al mosaico dorado amarillo del frijol, a la mancha angular y al bacteriosis común, se produjeron 198 materiales que presentaron resistencia a los síntomas de mosaico y de necrosis inducidos, respectivamente, por BCMV y BCMNV.

### Actividad 3.2.3 Apoyo a NARs en diagnóstico de virus

#### Aspectos destacados:

- Este año hicieron su aparición en América Latina dos enfermedades del frijol que antes eran desconocidas; ambas fueron prontamente identificadas con respecto a sus agentes causales. Ya se pusieron en práctica medidas preliminares de control para hacer un seguimiento del curso de estas enfermedades.

#### 3.2.3.1 Identificación y manejo de virus emergentes que afectan al frijol

##### El Salvador

En El Salvador, específicamente en el municipio de Tonacatepeque, Carlos A. Pérez, el científico nacional a cargo de la investigación en frijol en este país, observó otra enfermedad del frijol que no había sido registrada anteriormente. Las plantas afectadas presentaron síntomas de la enfermedad superbrotamiento o “escoba de bruja”, caracterizada por ramificación excesiva y proliferación de las partes aéreas. Además, algunas de las estructuras reproductivas se habían transformado en estructuras foliares (Figura 39). Estos síntomas sugirieron la presencia de un fitoplasma que infecta las plantas afectadas de frijol. Se prepararon muestras directamente en El Salvador para la amplificación de RCP, utilizando iniciadores universales diseñados para amplificar el ADN ribosómico 16S de los fitoplasmas. La corrida en RCP y la secuenciación de los productos obtenidos (558 fragmentos de base) se realizaron en el CIAT y se obtuvieron los siguientes resultados: las alineaciones de la secuencia de ADN (banco de germoplasma) de los productos RCP AF482012 y AF483909, al emplear la función BLAST, mostraron una identidad de secuencia del 98% con los fitoplasmas del grupo Aster Yellows (Figura 40).



**Figura 39.** Nuevo problema de enfermedad del frijol, causada por un fitoplasma, en El Salvador.

LOCUS AF483909 558 bp ADN linear BCT 17-  
DEFINICION Phaseolus vulgaris fitoplasma cion 62 gen 16S de ARN ribosómico,  
ACCESION AF483909  
VERSION AF483909.1 GI: 19526449

Acholeplasmataceae; Fitoplasma; 16SrI (grupo Aster yellows).

REFERENCIA 1 (bases 1 al 558)

ORIGEN

```
1 gaagtcgagt tgcagacttc aatccgaact gagactgttt tttgagatt cgcaaaaac
61 ttgcgettca gctacccttt gtaacagcca ttgtatcacg tttgtagccc aggtcataag
121 gggcatgatg atttgacgtc gtcctcacct tectccaatt tactactggc agtcttgcta
181 aagtcceccac cattacgtgc tggtactaa caataagggt tgcgctcgtt gcgggactta
241 acccaacatc tcacgacacg agctgacgac aaccatgcac cacctgtgca actgataacc
301 tccaactgtg ttctacagtt ttgcagaage atgtcaagac ctggtgaggt tttcgggta
361 ccttgaatt aaacaacatg atccaccgct tgtgcggagt cccgtcaatt cctttaagtt
421 tcatacttgc gtacgtacta ctcaggcgga gtacttaatg tgtaacttc aacctgggt
481 ttaccaacg ttagtactc atcgtttacg gcgtggacta ccagggtatc taactcgtt
541 tgctceccac gcttctgt
```

Figura 40. Secuencia parcial de nucleótidos de un fitoplasma que infectaba frijol en El Salvador.

Estos resultados claramente indican que la enfermedad observada en El Salvador es causada por un fitoplasma, probablemente transmitida por un saltahoja. Por fortuna, la incidencia de esta enfermedad fue muy baja y parece ser el resultado de un encuentro oportunista entre las plantas de frijol y un insecto vector poco frecuente. En Colombia, se han observado enfermedades similares del frijol inducidas por fitoplasmas, pero estos síntomas prácticamente han desaparecido de la zona originalmente afectada. Sin embargo, en caso de que persista la enfermedad, ésta y su agente causal ya están identificados.

## **Región del Caribe**

El *virus del rizado amarillo foliar del tomate* (TYLCV), un geminivirus muy dañino de las solanáceas en el Viejo Mundo, fue introducido en la década de los noventa en América, donde ya ha causado millones de dólares en pérdidas a la industria del tomate en la región del Caribe. Posteriormente, este virus atacó el frijol en España. Desde la introducción de este virus, el CIAT le ha hecho seguimiento en la región del Caribe. En este momento tenemos confirmación de que se ha detectado TYLCV en frijol en República Dominicana y Cuba. La sección de Virología de Frijol ya ha iniciado una búsqueda de fuentes de resistencia a este virus, en colaboración con el Dr. Moshe Lapidot, del Departamento de Virología del Centro Volcani, Israel, donde tienen las condiciones necesarias para seleccionar el germoplasma de frijol por resistencia al TYLCV. Los resultados preliminares indican que las fuentes de resistencia a los virus transmitidos por la mosca blanca, desarrolladas por el CIAT en América Latina, son muy eficaces contra TYLCV. En efecto, la mayoría de los materiales evaluados en Israel resultaron inmunes al virus. Estos resultados demuestran que TYLCV es un agente patógeno oportunista del frijol, que se ha diseminado a partir de hospederos de la familia de las solanáceas.

**PLAN OPERATIVO ANUAL 2002-2003**

**PROYECTO 3.** AMPLIACION DE LA BASE GENETICA Y ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD PATOGENICA

**SUBPROYECTO 3.3.** Apoyo a los Programas de Mejoramiento

**RESPONSABLE:** George Mahuku

**RESULTADO R.3.** Se identificaron nuevas fuentes de resistencia a los principales factores bióticos y se caracterizó la diversidad de los patógenos del frijol.

ACTIVIDADES S.3.3	METAS	PRESUPUESTO
<b>3.3.1 Análisis de diversidad de cepas mesoamericanas de mancha angular con diferenciadores</b>	Analizar nuevas cepas enviadas de Centroamérica	1,000
<b>3.3.2 Desarrollo y estandarización de marcadores moleculares específicos a <i>P. griseola</i></b>	Al menos 8 loci específico <i>P. griseola</i> microsatélites desarrollado	3,000
<b>3.3.3 Análisis de diversidad de cepas mesoamericanas de mancha angular usando loci específico marcadores moleculares tipo microsatélites</b>	Caracterizar diversidad de genes de cepas colectadas de Centroamérica	1,000
<b>3.3.4 Evaluar fuentes identificadas con resistencia a mancha angular y bacteriosis con otras cepas de Centroamérica</b>	Confirmar por lo menos 10 fuentes de resistencia combinada a ALS y bacteriosis utilizando cepas virulentas de amplio espectro	1,000
<b>3.3.5 Análisis de genes de resistencia a mancha angular en fuentes de resistencia</b>	Determinar genes de resistencia en estos genotipos con cepas virulentas (raza 63-63)	2,000
<b>3.3.6 Verificar fuentes de resistencia a las cepas mesoamericanas más virulentas de mancha angular y antracnosis</b>	Evaluar cruza inter- específicas de <i>Phaseolus vulgaris</i> x <i>P. polyanthus</i> y <i>P. coccineus</i> , para resistencia a antracnosis y mancha angular usando mas virulenta cepas de Centroamérica	1,000
<b>PRESUPUESTO TOTAL S.3.2</b>		<b>9,000</b>

### **Actividad 3.3.1 Análisis de diversidad de cepas mesoamericanas de mancha angular con diferenciadores**

Ver artículo publicado en *Plant Pathology* (2002) 51,594-604, titulado “Genetic variability within *Phaeoisariopsis griseola* from Central America and its implications for resistance breeding of common bean” por G.S. Mahuku, C. Jara, J.B. Cuasquer and G. Castellanos (Equipo de Patología Frijol del CIAT) el cual se adjunta en las páginas 123 a 133.

### **Actividad 3.3.2 Desarrollo y estandarización de marcadores moleculares específicos a *P. griseola***

#### **Aspectos destacados:**

- Se encontró nueve cebadores microsatélites específicos para *P. griseola* que pueden distinguir los aislamientos Andinos y Mesoamericanos tanto su origen geográfico.

#### 3.3.2.1 Cebadores microsatélites específicos (Locus -specific microsatellite markers) para *Phaeoisariopsis griseola*

**Justificación:** Diferentes estudios se han realizado para caracterizar la variabilidad de *Phaeoisariopsis griseola*; el uso de variedades diferenciales del frijol común, isoenzimas, ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD), la combinación de variedades diferenciales y RAPDs, y el método molecular RAMS, revelando que *Phaeoisariopsis griseola* se puede separar en dos grupos (uno Mesoamericano y otro Andino), análogos al acervo genético del frijol común. Los primers utilizados hasta el momento para el conocimiento de la estructura genética de *Phaeoisariopsis griseola* no son específicos, y como en el caso de los RAMS, se han aplicado para generar marcadores de ADN de los hongos *Armillaria cepistipes*, *Gremmeniella abietina*, *Heterobasidion annosum*, *Phytophthora cactorum*, *Phlebiopsis gigantea*, y *Stereum sanguinolentum*, ya que la técnica es reproducible y aplicable a todos los hongos, incluyendo miembros de los Phycomycetes, Ascomycetes y Basidiomycetes; lo que permite detectar polimorfismos de ADN interespecíficos e intraespecíficos.

Debido a que el conocimiento de la estructura genética de patógenos tiene aplicaciones directas en el desarrollo de variedades resistentes y manejo de las enfermedades, la meta de este trabajo fue desarrollar cebadores específicos para la identificación de *Phaeoisariopsis griseola* por PCR, la diferenciación de sus grupos y para estudiar la diversidad existente dentro de *Phaeoisariopsis griseola*. La aplicación directa de estos cebadores en la identificación de grupos de *P. griseola*, evitará el largo proceso del análisis de virulencia. Además, los cebadores permitirán la realización de estudios de poblaciones genéticas, facilitando así la caracterización y el cambio de información de forma más eficiente entre los investigadores interesados en la mancha angular de la hoja del frijol.

**Materiales y Métodos:** Se utilizaron los Microsatélites RAMS (Microsatélites amplificados al azar), para identificar marcadores específicos para *Phaeoisariopsis griseola*. Los RAMS combinan los beneficios del universalmente análisis RAPD con el análisis microsatélite, el cual incluyen un extremo 5' degenerado, que sirve de anclaje para asegurar la unión del primer al inicio del microsatélite.

En un estudio preliminar, se amplificaron 131 aislamientos de diferentes regiones geográficas y grupos definidos de *Phaeoisariopsis griseola* usando 8 primers Microsatélites RAMS. Basado en los patrones moleculares, los cebadores RAMS (AG)<sub>n</sub>, (CA)<sub>n</sub> y (GT)<sub>n</sub>, revelaron los mejores marcadores específicos (locus), que fueron purificados utilizando el Sistema Wizard PCR, por distinguir muy bien entre los diferentes grupos de *Phaeoisariopsis griseola* (Andinos de Latinoamérica, Andinos de Africa, Afro-Andinos, Mesoamericanos de Latinoamérica y Mesoamericanos de Africa). El vector de clonación fue pGEM-T Easy Vector y se transformó por electroporación con las células competentes *E. coli* DH5 alfa. Las colonias recombinantes se seleccionaron de acuerdo con su reacción a la ampicilina, X-gal e IPTG. Los Minipreps, se realizaron con el CONCERT Rapid Plasmid Miniprep System de Life Technologies y la secuencia fue obtenida con el ABI PRISM 377 DNA Sequence de Perkin Elmer. Los primers fueron diseñados utilizando el programa PRIMER3, conteniendo la región microsatélite.

Quince parejas de oligonucleótidos cebadores fueron diseñados y probados para evaluar su capacidad de identificación y diferenciación entre los grupos de *Phaeoisariopsis griseola*, en un total de 50 aislamientos previamente caracterizados por virulencia y por las técnicas RAMS y RAPD. Para determinar la especificidad de los cebadores, fueron evaluados siete patógenos; *Pythium*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Macrophomina*, *Pyricularia*, *Phytophthora*, *Colletotrichum gloeosporoides* y *Xanthomonas*. La reacción se realizó en un volumen total de 12.5 pl, conteniendo dNTPs (0.2 mM), IX PCR Buffer, 1 unidad de Taq Polimerasa (Promega), 1 pM de cada cebador, 10 ng de ADN total, y 1.5 mM de Mg<sup>+2</sup>. La amplificación se llevo a cabo en un termociclador PTC-100 Programmable Thermal Controller de MJ Research, Inc, con una desnaturalización inicial de 95 °C durante 5 minutos y 37 ciclos que constan de una desnaturalización de 95°C por 30 segundos, hibridación de 65°C por 50 segundos, extensión de 72 °C durante 2 minutos y una extensión final de 72 °C durante 7 minutos. Sin embargo, para determinar las condiciones óptimas del PCR para el grupo de cebadores específicos una gran variedad de parámetros fueron probados.

**Resultados y Discusión:** De las quince parejas de oligonucleótidos cebadores evaluados 10 no amplificó con ADN de planta de frijol ni de diversos patógenos como *Pythium*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Macrophomina*, *Pyricularia*, *Phytophthora*, *Colletotrichum gloeosporoides* y *Xanthomonas* (Cuadro 39). Estos cebadores pueden distinguir entre los grupos definidos por *P. griseola*, Andino y Mesoamericano y entre los de origen geográfico de los aislamientos [Africa y América Latina] (Cuadro 39 y Figuras 41 y 42). Estos cebadores muestran correspondencia con los datos de virulencia y estudios previos con RAMS y RAPDs. Los cebadores 420CA1L y 420CA1R amplifican el locus para los aislamientos Andinos de Latinoamérica, Mesoamericanos de Africa y los Mesoamericanos de Latinoamérica, mientras que los cebadores 550CA1L y 550CA1R

amplifican el locus para todos los aislamientos Andinos y Afro-Andinos. Cuando se amplificó el ADN de los diversos patógenos ningún producto fue observado, por lo tanto estos cebadores se pueden considerar como específicos para *P. griseola*. Cuando se evalúe una población de solamente individuos de Africa, resultará muy fácil al utilizar estos cebadores específicos para la diferenciación entre los grupos, ya que lo que no se amplifique con los cebadores 550CA1L y 550CA1R corresponderá a aislamientos del grupo Mesoamericano. Cuando se trabaje con una población de aislamientos de Latinoamérica, lo que se amplifique tanto con los cebadores 550CA1L y 550CA1R, como con los cebadores 420CA1L y 420CA1R, corresponderá al grupo Andino. Por lo tanto, si se trabaja con una población de individuos tanto de Latinoamérica como de Africa, el unir las dos observaciones anteriores servirá para discriminar entre grupos.

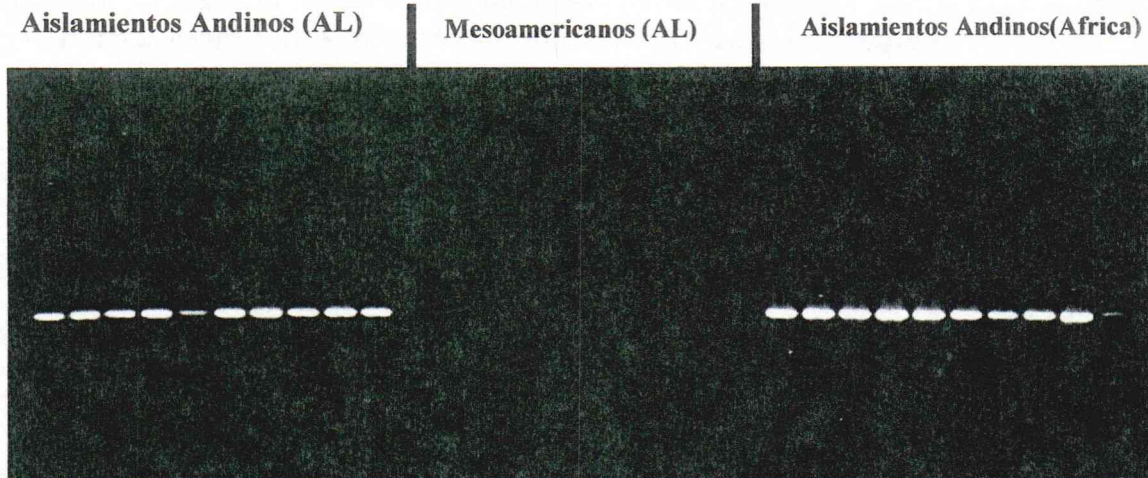
**Conclusiones:** En el presente trabajo se desarrollaron dos pares de oligonucleótidos cebadores, derivados de la secuencia de los fragmentos 420 pb y uno de 550 pb producto del cebador CA, de los Micro satélites amplificados al azar (RAMS), y que permiten la identificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del locus que permite la diferenciación de los grupos Andinos de Latinoamérica, Andinos de Africa , Afro-Andinos, Mesoamericanos de Latinoamérica y Mesoamericanos de Africa de *Phaeoisariopsis griseola*. Estos primers no amplifican ADN provenientes de planta o de otros patógenos que normalmente están asociados con frijol común. Los oligonucleótidos cebadores están disponibles para las personas interesadas en estudios de estructura de la población de *P. griseola*.

**Cuadro 39.** Cebadores micro satélites específicos (Locus -specific microsatellite markers) para *Phaeoisariopsis griseola*.

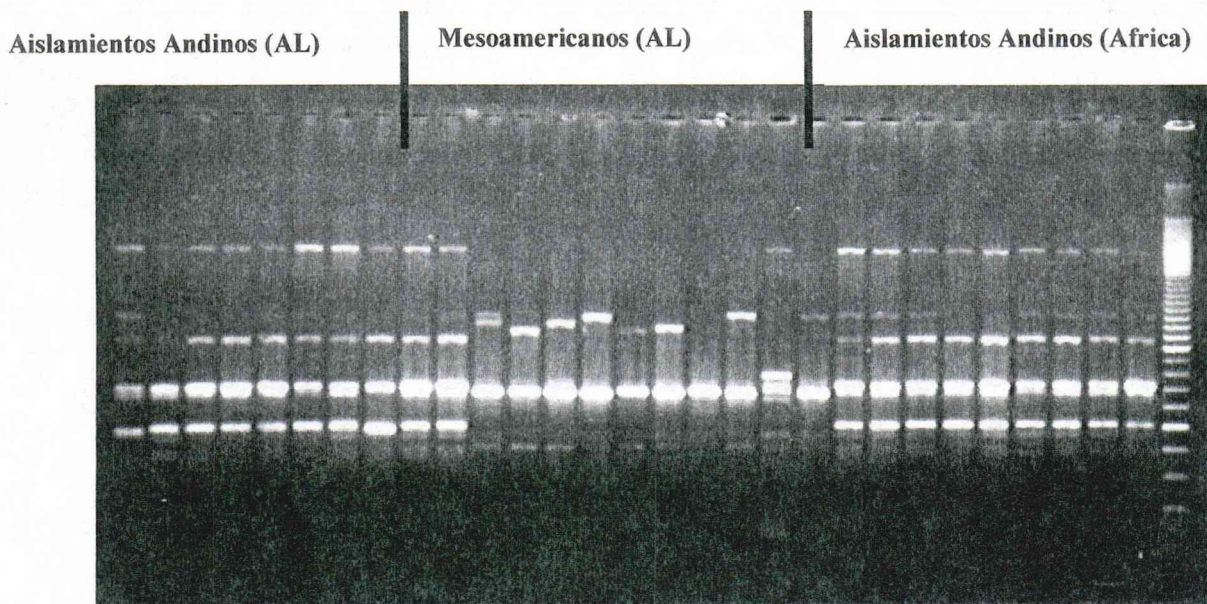
Primer- band Tamaño	Andino (AL <sup>a</sup> )	Andino (Africa)	Afro- Andino	Mesoamericano (Africa)	Mesoamericano (AL)
PgAG <sub>6</sub> 50				+ <sup>b</sup>	+
PgAG <sub>6</sub> 80	+	+	+		
PgCA(20)	+			+	+
PgCA <sub>500</sub>				+	+
PgCA <sub>5</sub> 50	+	+	+		
P gC A680	+	+	+		
PgGT <sub>650</sub>				+	+
PgGT <sub>8</sub> 20	+	+	+		+
PgACA700	+	+	+		
PgACAé <sub>50</sub>				+	+

<sup>a</sup> AL = América Latina

<sup>b</sup> presencia de banda



**Figura 41.** Patrones de bandas generados por el cebador microsatélite específico PG-550CA utilizando aislamientos Andinos de Latinoamérica, aislamientos Mesoamericanos de Latinoamérica y Andinos de Africa. Este cebador microsatélite específico no amplifica aislamientos Mesoamericanos.



**Figura 42.** Patrones de bandas generados por el cebador microsatélite específico PG—820GT. Este cebador microsatélite específico no amplificó los aislamientos Mesoamericanos de Africa, y puede utilizarse para estudios de población genética.

### **Actividad 3.3.3 Análisis de diversidad de cepas mesoamericanas de mancha angular usando loci específico marcadores moleculares tipo microsatélites**

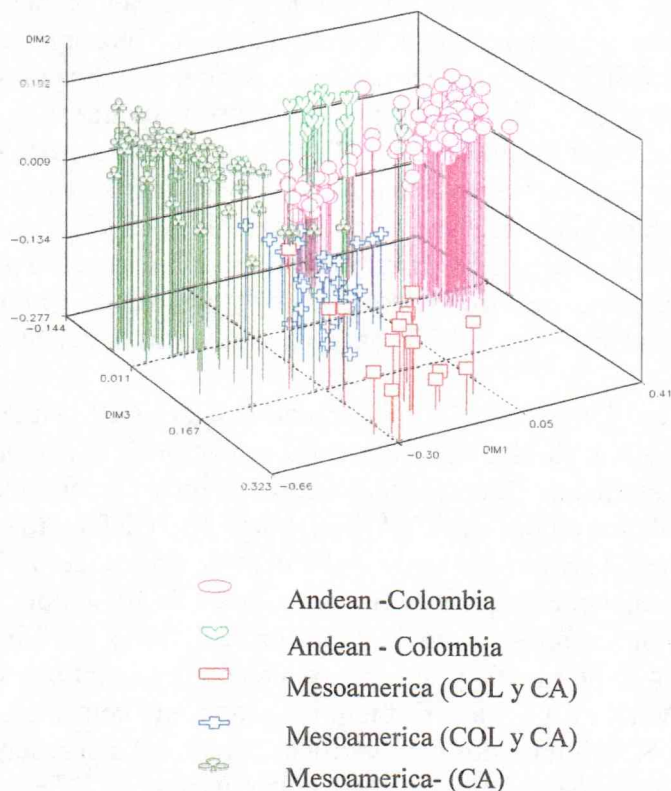
**Justificación:** Los países de América Central cultivan aproximadamente 500 mil hectáreas de frijol, lo que representa una de las más altas densidades de siembra, en relación con el área geográfica. En la región del Caribe, el frijol es también un alimento básico en la dieta de países como Cuba, Haití y República Dominicana, donde se cultiva cerca de un cuarto de millón de hectáreas (Morales, 2000). Las áreas sembradas reflejan el nivel de consumo de esta leguminosa en la región, aunque no el volumen para autoabastecimiento, ya que en todos los países se recurre a importaciones para satisfacer la demanda de consumo de la población. La mancha angular es actualmente la enfermedad más importante del frijol en América Latina. La presencia de este patógeno ha sido reportada en más de 78 países, la mayoría en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Correa *et al.*, 1994). Las pérdidas que ocasiona pueden alcanzar, por ejemplo, 40 - 80 % en Colombia (Correa *et al.*, 1994), en Brasil se ha informado de pérdidas entre 51 y 70 % (Correa *et al.*, 1994), y en Costa Rica hasta 82% (Wang *et al.*, 1983). Las pérdidas ocasionadas no se limitan al volumen de la cosecha, sino que también son considerables las pérdidas por baja calidad del grano (grietas y decoloración de la testa), tamaño, y deficiente sanidad en lotes reproductores de semilla. En términos de mejoramiento por resistencia, conocer la variabilidad patogénica de *P. griseola* es condición necesaria para elaborar la estrategia de piramidación o incorporación de genes específicos a las poblaciones prevalecientes del patógeno, de manera que se garantice la durabilidad de la resistencia. Estos estudios deben abarcar muéstreos en las zonas productoras de frijol en cada uno de los países de la región y la caracterización fenotípica y genotípica de las poblaciones. El conocimiento de la diversidad genética, las poblaciones y la evolución de patógenos es indispensable para la adopción de estrategias adecuadas para el desarrollo de variedades resistentes, por lo tanto con este trabajo se pretende continuar con el monitoreo y caracterización de aislamientos de *P. griseola* centroamericana usando marcadores moleculares tipo microsatélite.

**Materiales y Métodos:** 314 aislamientos de *P. griseola*, 199 de provenientes de Centroamérica y 115 de Colombia fueron caracterizados usando 7 primers tipo RAMS. Los patrones de bandas fueron analizados utilizando el análisis de agrupamiento y el análisis de correspondencia múltiple (ACM) usando el sistema de análisis estadístico (SAS). El dendograma fue basado en el método de unión media UPGMA (del inglés Unweighted pair-group arithmetic mean) usando los programas SAHN y TREE del paquete "Numerical Taxonomy System for Personal Computer". El porcentaje de similaridad fue calculado basado en el coeficiente de DICE, con el programa SLMQUAL del paquete "Numerical Taxonomy System for Personal Computer" (NTSYS-pc versión 1.8).

**Resultados:** Los siete primers RAMS, generaron patrones de bandas simples que revelaron polimorfismos entre los aislamientos de *P. griseola*. Los primers utilizados revelaron un total de 101 fragmentos RAMS polimórficos. El Análisis de Correspondencia Múltiple (ACM), separó los aislamientos en 5 grupos. La mayoría de los aislamientos de América central (90%) fueron distribuido en grupo uno, 3 en grupo cuatro y 17 en grupo 5.

Los aislamientos de Colombia fueron distribuidos en grupo dos, trece y cuatro (Figure 1). Tanto el análisis mediante el coeficiente de Nei-Li, como el Análisis de Correspondencia Múltiple, separaron los aislamientos de Colombia en un grupo diferente al de los aislamientos de América Central. El gráfico en tercera dimensión generado por el Análisis de Correspondencia Múltiple, muestra la distribución de los aislamientos de *P. griseola*, en donde se puede observar la separación de los aislamientos de Colombia clasificados como Andinas y de América Central y Colombia clasificados como *P. griseola* aislamientos tipo Mesoamericano (Figura 43).

**Conclusiones:** Los resultados de este estudio confirman que *Phaeoisariopsis griseola* es un patógeno muy variable genéticamente. Tanto para los aislamientos de América Central como para los de Colombia no se presentó ningún agrupamiento de acuerdo con la localidad de donde se obtuvo el aislamiento dentro de cada país. La alta diversidad dentro de cada grupo, revelada por la gran cantidad de haplotipos es confirmada por la alta diversidad genética ( $G_{st}$  de 0.67) obtenida dentro de grupos. Los RAMS a diferencia de los RAPD, son una herramienta molecular muy útil a la hora de mostrar variabilidades por ubicación geográfica como lo demuestra la buena separación de los aislamientos de América Central.



**Figure 43.** Representación espacial de la estructura genética de 314 aislamientos de *P. griseola* de Colombia y Centroamérica utilizando los Microsatélites RAMS. Elaborado mediante un análisis de Correspondencia Múltiple.

### **Actividad 3.3.4 Evaluar fuentes identificadas con resistencia a mancha angular y bacteriosis con otras cepas de Centroamérica**

**Justificación:** El Añublo Bacteriano (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) y la mancha angular de la hoja (*Phaeoisariopsis griseola*) son dos de las enfermedades más importantes del frijol común, que a menudo ocurren juntas. CBB está ampliamente distribuida y puede causar pérdidas en los rendimientos hasta en un 40%, mientras que ALS los reduce en un 80%. Ambas enfermedades son muy importantes en Centroamérica y es importante identificar genotipos que combinen la resistencia a ambos patógenos. En el CIAT, altos niveles de resistencia a CBB han sido introgresados del frijol Tepari (*P. acutifolius*) para desarrollar una serie de líneas resistentes a CBB, denominadas líneas VAX (*P. vulgaris*), de las cuales VAX 6 es especialmente resistente. Sin embargo, su tipo de semilla y color no es muy deseable, por lo tanto la resistencia puede ser transferida y obtener granos preferidos por el mercado. Estudios previos han mostrado que la variedad MARI es resistente a varias razas del hongo que causa la mancha angular de la hoja, pero es altamente susceptible al Añublo Bacteriano. VAX 6 es susceptible a la mancha angular de la hoja, pero es altamente resistente a ambas cepas del Añublo Bacteriano. MAR 1, ha mostrado ser moderadamente bueno bajo suelos con baja fertilidad, especialmente a bajo fósforo, y se mostró razonablemente bien bajo condiciones de sequía, aunque tiene bajos niveles de tolerancia a *Macrophomina phaseolina* (CIAT Bean Annual Report, 1998, 1999). Esta variedad ha sido reportada por ser especialmente buena para el manejo de la mancha angular en el Brasil y en algunas partes de Africa. Estudios previos, bajo condiciones de campo (CIAT, 2001) identificaron una serie de líneas recombinantes (RILs) que fueron desarrolladas por los cruces entre MAR 1 (resistente a ALS, pero susceptible al Añublo Bacteriano) y VAX 6 (susceptible a ALS pero altamente resistente al Añublo Bacteriano), que combinan la resistencia a varias razas de ALS y dos razas de CBB bajo condiciones de campo. Para establecer la utilidad de estas líneas como parentales en programas de mejoramiento, nosotros seleccionamos y evaluamos 30 líneas que mostraron altos niveles de resistencia a CBB y ALS usando aislamientos de Centroamérica.

**Materiales y Métodos:** Un total de 30 líneas recombinantes (RILs) que mostraron altos niveles de resistencia a la raza 31-55 de ALS, bajo condiciones de campo y a la cepa del añublo Bacteriano Xap, fueron seleccionadas entre 223 líneas recombinantes (RILs) que fueron desarrolladas de los cruces entre VAX 6 (resistente a CBB) y MAR 1 (susceptible a CBB). Estas líneas fueron sembradas bajo condiciones de invernadero y evaluadas para ALS y CBB separadamente. Para ALS se utilizó la escala de 1 a 9, donde 1 representa sin síntomas y 9 representa síntomas severos. Evaluaciones de 1 - 3 son consideradas como respuesta resistente, 4-6 intermedia y superiores a 6 como susceptible. Para CBB, BAT 41 y las otras líneas VAX (VAX 1 a la 6) fueron usadas como controles, mientras que los diferenciales para ALS fueron usados para verificar la raza del aislamiento de ALS usado. Las 30 RILs fueron evaluadas en invernadero con la misma cepa XCP y la variante de *fus cans* (XCPF 2).

**Resultados y Discusión:** Las Figuras 44 y 45 muestran la relación de los 223 RILs después de la inoculación con aislamientos de CBB y ALS, respectivamente. Los resultados muestran que VAX6 es altamente resistente a las cepas de CBB pero susceptible a ALS, mientras que MARI es resistente a ALS, pero susceptible a CBB. Bajo condiciones de campo, para CBB, MARI presentó una reacción susceptible (evaluación 8) mientras que VAX 6 presentó reacción resistente (evaluación 2).

De las 30 líneas, 19 fueron resistentes a Xap, mientras 27 fueron resistentes a Xapf (Cuadro 40). Ninguna de las 30 líneas fueron susceptibles a CBB, mostrando el alto nivel de resistencia presente en estas líneas. Sin embargo, cuando fueron inoculadas con *P. griseola*, las líneas 21 y 24 fueron resistentes a Pg 46 -CRI y Pg 49 - CRI (de Costa Rica) respectivamente, mientras que todas las líneas fueron susceptibles a los dos aislamientos de Honduras.

**Conclusiones:** El 77% de las líneas fue resistente en campo e invernadero a Xap de Colombia y la mayoría de las líneas fueron resistentes a los aislamientos de Xap y Xapf de Centroamérica. VAX 6 es una línea muy buena como fuente de resistencia a Xap y se pueden también utilizar las líneas derivadas de la cruce VAX 6 x MAR 1 como fuentes de resistencia a CBB. La reacción de mancha angular en las 30 líneas fue variable según el aislamiento. En el campo, el 41% de las líneas fue resistente al aislamiento local de Pg. MAR 1 fue resistente al aislamiento local de Pg en Quilichao (Colombia) y de Costa Rica en invernadero, pero fue susceptible a los aislamientos de Pg de Honduras. De las 30 líneas seleccionadas por resistencia combinada, ninguna fue resistente a los aislamientos de Pg de Honduras. Esto muestra que los aislamientos de Pg de Costa Rica y de Honduras son diferentes y también revela la importancia de utilizar aislamientos provenientes del país o lugar donde se presenta la enfermedad.

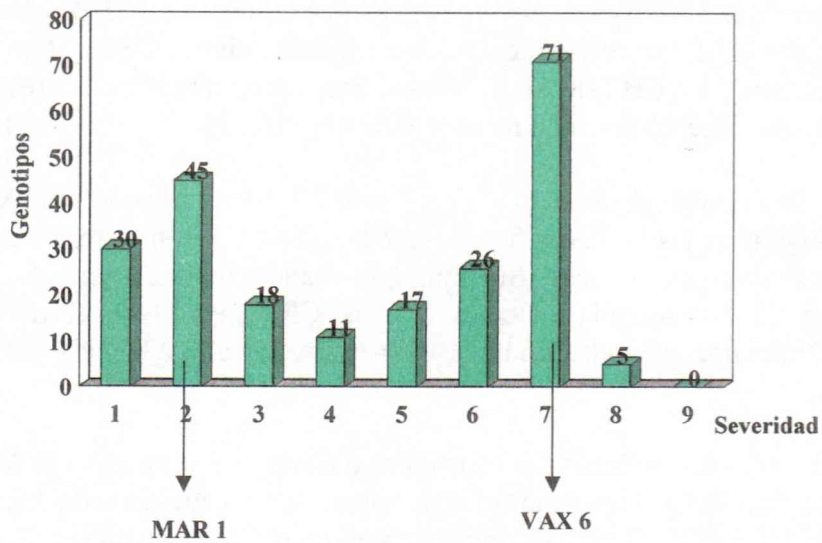


Figura 44. Evaluación de 223 RILs de VAX 6 x MAR 1 a un aislamiento de *Phaeoisariopsis griseola* en Quilichao

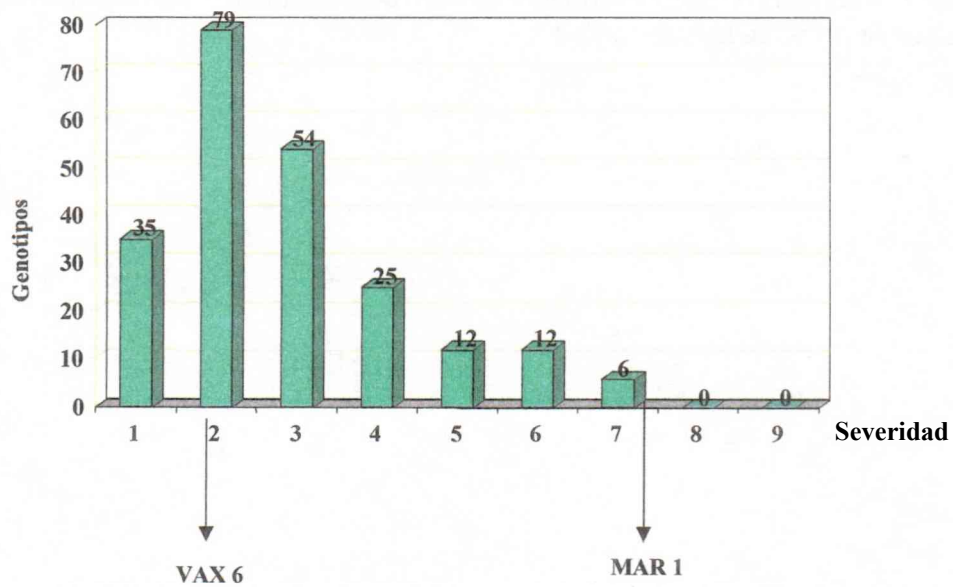


Figura 45. Evaluación de 223 RILs de VAX 6 x MAR 1 a un aislamiento a *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* en Quilichao.

**Cuadro 40.** Reacción de las 30 líneas recombinantes (RILs), después de la inoculación con aislamientos de *Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli* y *Phaeoisariopsis griseola* de Centroamérica.

RIL	Cepas de CBB			Aislamientos de <i>P. griseola</i>			
	Xcpf - 630 HND	Xcp - 368 CRI	Pg 48-1 CRI	Pg 49-1 CRI	Pg 8 HND	Pg 15 HND	
1	4	2.00	2.17	2.33	4.00	7.33	8.00
2	9	3.67	4.00	3.33	2.80	8.00	8.00
3	15	2.33	3.00	3.20	2.00	8.00	8.00
4	24	3.83	4.25	2.17	3.40	8.00	8.00
5	32	2.00	2.00	2.33	1.17	6.83	8.00
6	33	2.17	4.50	1.60	1.83	6.40	8.00
7	39	1.00	1.50	7.00	4.00	8.00	8.00
8	46	3.17	3.50	5.20	2.80	6.40	8.00
9	47	1.25	4.00	3.80	4.00	8.00	8.00
10	59	3.00	3.60	3.40	1.17	4.5	8.00
11	85	3.33	4.00	1.67	1.00	4.17	8.00
12	86	2.00	3.83	3.83	2.17	6.33	8.00
13	87	3.00	4.83	4.33	6.00	8.00	8.00
14	89	3.33	3.00	2.00	1.00	7.17	8.00
15	90	3.00	3.67	2.00	1.67	7.00	8.00
16	91	1.00	1.00	7.00	2.33	8.00	8.00
17	96	3.00	4.83	2.00	1.50	7.00	8.00
18	98	1.00	2.50	2.67	2.00	6.00	8.00
19	107	2.50	2.17	3.83	3.00	5.80	8.00
20	114	2.00	2.67	2.83	1.00	4.83	8.00
21	124	3.17	3.50	5.50	2.17	7.00	8.00
22	136	1.00	1.33	2.83	1.00	5.20	8.00
23	156	2.67	1.83	2.00	1.83	4.50	8.00
24	158	4.00	1.75	2.00	1.50	3.67	8.00
25	159	1.00	1.17	1.50	2.17	7.83	8.00
26	173	1.00	1.33	1.50	1.00	6.83	8.00
27	175	3.00	3.67	4.67	1.00	7.40	8.00
28	209	1.00	1.00	3.00	3.83	7.00	8.00
29	211	1.00	1.00	1.00	2.33	4.33	7.17
30	217	3.00	2.83	3.33	4.33	8.00	8.00

Países : HND = Honduras, CRI = Costa Rica

### Actividad 3.3.5 Análisis de genes de resistencia a mancha angular en fuentes de resistencia

#### Aspectos destacados:

- Se encontró que la herencia de la resistencia a la mancha angular es compleja y está condicionada por genes mayores y menores, que pueden actuar solos, epistáticamente o aditivamente.

#### 3.3.5.1 Naturaleza y herencia de la resistencia a la mancha angular en genotipos diferenciales respecto a la enfermedad y fuentes de resistencia identificadas

**Justificación:** Este estudio pretende caracterizar la naturaleza de la herencia de la resistencia a la mancha angular (MA) e intenta dilucidar el número de genes involucrados. La prueba de la coevolución de *P. griseola* y frijol sugiere que la combinación de la resistencia de los acervos de genes andino y mesoamericano es una estrategia acertada para el control de la enfermedad. Para aprovechar eficazmente la diversidad que existe en los genes del frijol para combinar y piramidar genes útiles, es necesario caracterizar la genética de la resistencia de manera precisa. Actualmente, se conoce muy poco acerca de la naturaleza y la herencia de la resistencia a la MA en frijol común y esto ha limitado la capacidad del proyecto para usar datos sobre virulencia para definir con precisión la distribución de las razas de *P. griseola*, lo cual facilitaría el despliegue de genes resistentes en maneras que prolonguen su durabilidad. La determinación y el conocimiento de la herencia de la resistencia a la MA en las accesiones más promisorias y en líneas mejoradas y diferenciales facilitaría no solo la definición precisa de las razas de *P. griseola*, sino también el mejoramiento respecto a resistencia a MA, la marcación de genes y la identificación de marcadores moleculares para su uso en la selección con la ayuda de marcadores (MAS). Este es un estudio progresivo para conocer la naturaleza de la herencia de la resistencia a la MA en frijol común, con el objetivo primario de desarrollar marcadores moleculares que pueden ser utilizados para ayudar a transferir resistencia a tipos de frijol comercial que presentan buena adaptación.

**Materiales y Métodos:** La variedad de habichuela Sprite ha sido identificada como susceptible a *P. griseola* en todo el mundo. Todas las razas de *P. griseola* (-200) que han sido evaluadas hasta la fecha presentan una interacción compatible con esta variedad. En consecuencia, se eligió a Sprite como progenitor susceptible en todas las cruza para dilucidar la naturaleza y la herencia de la resistencia a la MA. Se originaron poblaciones (Fi, F2 y retrocruzas Fi a progenitores resistentes y susceptibles) para 10 genotipos de frijol diferenciales con respecto a la MA (4 andinos y 6 mesoamericanos) y fuentes conocidas de resistencia (G 10474, G 10909, G 4691, G 18224, G 3991 y G 14301). Hasta la fecha, se han evaluado 12 genotipos (Don Timoteo, Amendoim, Montcalm, G5686, PAN 72, G 2858, Flor de Mayo, Mexico 54, Cornell, BAT 332, G 10909 y G 10474) en condiciones del invernadero. Los materiales andinos (Don Timoteo, Amendoim, Montcalm y G5686)

fueron evaluados con razas andinas para identificar los genes andinos, en tanto que las variedades mesoamericanas (PAN 72, G 2858, Flor de Mayo, México 54, Cornell y BAT 332) fueron evaluadas empleando razas mesoamericanas (Cuadro 41). Las fuentes de resistencia (G 10909 y G 10474) fueron evaluadas empleando la raza 63-63, la más virulenta, que vence todos los genes de resistencia en nuestros genotipos diferenciales. Las evaluaciones de severidad de la enfermedad se realizaron utilizando la escala de 1 a 9 del CIAT, donde 1 = ningún síntoma visible y 9 = síntomas y expresión severos de la enfermedad. Los puntajes entre 1 y 3 se consideraron resistentes y los puntajes superiores a 4, susceptibles. Se calculó el área por debajo de las curvas de progreso de la enfermedad para asignar los genotipos a niveles de resistencia y susceptibilidad. Para cada población se probaron diversas hipótesis genéticas diferentes, empleando una prueba de Chi cuadrado en el programa de SAS.

**Cuadro 41.** Descripción de las razas de *Phaeoisariopsis griseola* que se utilizaron para inocular diferentes fuentes de resistencia a la mancha angular en los estudios de herencia.

Genotipos	Raza	Variedades diferenciales respecto a MA												
		Andinas						Mesoamericanas						
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	
Don Timoteo	62-0		b	c	d	e	f							
Montcalm	39-36	a	b	c			f			i			1	
Amendoim	15-0	a	b	c	d									
G 5686	31-0	a	b	c	d	e								
PAN 72	15-0	a	b	c	d									
G 2858	7-17	a	b	c								K		
Flor de Mayo	15-59	a	b	c	d	e			h		j	K	1	
Mex 54	31-55	a	b	c	d	e			h	i		K	1	
BAT 332	31-47	a	b	c	d	e			h	i	j		1	
Cornell 49242	63-31	a	b	c	d	e	f		h	i	j	K	1	
G10909	63-63	a	b	c	d	e	f		h	i	J	K	1	
G 10474	63-63	a	b	c	d	e	f		h	i	j	K	1	

**Resultados:** Los resultados obtenidos en este estudio revelan la naturaleza compleja de la resistencia a la MA (Cuadro 42). Los genes mayores (dominantes o recesivos) y los menores, actuando solos o en duplicado, que pueden interactuar de una manera aditiva, con epistasis o sin ella, pueden estar involucrados en el condicionamiento de la resistencia a la MA. Las relaciones de segregación observadas en Fj, F2, BC]-R y BCi-S indican que un único gen dominante condiciona la resistencia a la MA en Don Timoteo, G 10474 y PAN 72, en tanto que dos genes dominantes probablemente condicionan la resistencia en Cornell, G 5686 y G 10909. La resistencia en Mexico 54 proviene de un único gen recesivo, en tanto que Montcalm y Amendoim pueden tener dos o tres genes recesivos (Cuadro 41). G 2858 tiene dos genes duplicados.

**Conclusiones:** Los resultados presentados muestran la naturaleza compleja de la herencia de la resistencia a *P. griseola*. Los genes mayores (recesivos o dominantes) ayudan a conferir la resistencia a la MA y los complejos modelos de segregación observados en Montcalm y Amendoim manifiestan una posibilidad de que también pueden estar involucrados los genes menores. Sin embargo, es necesario seleccionar nuevamente más poblaciones F2 de los genotipos Montcalm y Amendoim antes de sacar conclusiones confiables acerca de los genes menores. Se está en el proceso de reevaluar las poblaciones derivadas de G 5686, Flor de Mayo, G 2858, Montcalm y Mexico 54 para reconfirmar los patrones de segregación observados. Además, todos los genotipos andinos serán evaluados respecto a razas mesoamericanas y viceversa, para comprobar si los mismos genes condicionan la resistencia a las razas andinas y mesoamericanas de MA. Así mismo, varias de las fuentes de resistencia y las variedades diferenciales portan más de un gen de resistencia. Es fundamental que se separen y se marquen estos genes, para que se realicen introgresiones en frijol de tipo comercial.

**Cuadro 42.** Naturaleza y herencia de la resistencia a la mancha angular en algunas variedades diferenciales y fuentes de resistencia seleccionadas.

Fuente	Generación	Observada	Esperada	X <sup>2</sup>	Interpretación	Conclusión
Cornell	F,	18:0			Res. Dominante	Resistencia dominante con dos genes
	F <sub>2</sub>	49:22	9:7	0.09	2 genes dom.	
	BC-P1 (res)	64:9				
	BC-P2 (sus)	13:25	1:3	0.19	2 genes dom.	
Mex 54	F,	20:69				Resistencia parcialmente recesiva debida a un gen
	F <sub>2</sub>	39:120	1:3	0.89	1 gen rec.	
	BC-P1 (res)	32:24	1:1	0.28	1 gen rec.	
	BC-P2 (sus)	28:86	1:3	0.91	Tendencia hacia la resistencia rec.	
PAN 72	F,	137:0			Dominante	Resistencia dominante debida a un gen
	F <sub>2</sub>	47:15	3:1	0.88	1 gen dom.	
	BC-P1 (res)					
	BC-P2 (sus)	17:16	1:1	0.86	1 gen dom.	
G2858	F,	54:37			Parcialmente dom.	Posiblemente 2 genes duplicados recesivos pero resultados inconsistentes
	F <sub>2</sub>	27:48	7:9	0.17	2 genes dupl. rec.	
	BC-P1 (res)	27:15	3:1	0.10	2 genes dupl. rec.	
	BC-P2 (sus)	14:29	1:3	0.25	2 genes dom.	
Flor de Mayo	F,	74:54			Parcialmente dom. Con het. 40% S	No concluyente
	F <sub>2</sub>	54:33	9:7	0.32	2 genes dom.	
	BC-P1 (res)	93:11			1 gen dom. con het. 40% S	
	BC-P2 (sus)	13:33			1 gen dom. con het. 40% S	
G10474	F,	40:0	1:0		Dominante	Resistencia dominante debida a un gen
	F <sub>2</sub>	57:25	3:1	0.25	1 gen dom.	
	BC-P2 (sus)	9:8	1:1	0.80	1 gen dom.	
G10909	F,	-				Resistencia dominante debida a 2 genes
	F <sub>2</sub>	92:73	9:7	0.89	2 genes dom.	
	BC-P2 (sus)	7:35	1:3	0.21	2 genes dom.	
G5686	F,	40:25			Parcialmente dom. con 38% S	Posiblemente 2 genes aditivos
	F <sub>2</sub>	69:25:43	9:3:4	0.21	2 genes dom. + IA	
	BC-P1 (res)	18:4	3:1	0.46	Aditivo?	
	BC-P2 (sus)	4:64				
Amendoim	F,	0:136			Recesiva	Resistencia recesiva debida a 2 ó 3 genes
	F <sub>2</sub>	7:107	1:15	0.96	2 genes rec.	
	BC-P1 (res)	5:87	1:15	0.74	3 genes rec	
	BC-P2 (sus)	0:58			Resistencia rec.	
Montcalm	F,	6:23:26			Aditivo o parcialmente rec.	Aditiva o parcialmente rec. debida a 2 ó 3 genes
	F <sub>2</sub>	6:128	1:15	0.39	2 genes rec.	
	BC-P1 (res)	5:48	1:15	0.33	3 genes rec.	
	BC-P2 (sus)	3:19	1:3	0.21	2 dom.??	
Timoteo	F,	59:3			Dominante	Resistencia dominante debida a 1 gen
	F <sub>2</sub>	47:24	3:1	0.11	1 gen dom.	
	BC-P1 (res)	28:3			Dom. = P1	
	BC-P2 (sus)	17:17	1:1	1.0	1 gen dom.	

### Actividad 3.3.6 Verificar fuentes de resistencia a las cepas mesoamericanas más virulentas de mancha angular y antracnosis

#### Aspectos destacados:

- La evaluación, en condiciones de invernadero, de posibles fuentes de mancha angular dio lugar a la identificación de 21 líneas interespecíficas altamente resistentes a la raza 63-63. Estas líneas también han demostrado ser altamente resistentes a la antracnosis.
- Se observó que 4 líneas avanzadas (MN 13338-38, MC 12832-129, MC 12832-129 y BM-12721-17) que constituían frijol negro pequeño, rojo pequeño y carioca, presentaron resistencia a la raza 63-63 de *Phaeoisariopsis griseola*.
- Se demostró que el rendimiento es un criterio importante que debe ser considerado al evaluar los genotipos respecto a su respuesta a *Macrophomina phaseolina*.

#### 3.3.6.1. Identificación de genotipos de frijol con resistencia a la mancha angular

**Justificación:** La mancha angular (MA) es una de las enfermedades más importantes del frijol en muchos países de África y América Latina. La incidencia de esta enfermedad y las consecuencias devastadoras de la misma van en aumento, y sus efectos son mayores cuando están asociados con condiciones de baja fertilidad del suelo y sequía marcada. Dado el carácter tan variable del agente patógeno, *Phaeoisariopsis griseola*, continuamente se están caracterizando razas nuevas y las fuentes de resistencia disponibles constantemente pierden su eficacia. En consecuencia, la identificación y verificación de la idoneidad de posibles fuentes de resistencia es una actividad continua. Una de las actividades del programa de patología de frijol del CIAT consiste en identificar posibles fuentes de resistencia y actualizar el vivero de la mancha angular del frijol (BALSIT) antes de distribuirlo a los grupos interesados y a los socios colaboradores en los programas nacionales para que éstos los evalúen en condiciones locales.

#### Materiales y Métodos:

**BALSIT 2000-2001.** Setenta genotipos de frijol común, que formaban parte del vivero BALSIT 2000-2001, fueron evaluados en condiciones de campo, con una mezcla de razas en Darién (63-0, 31-47, 5-47, 63-15) y otra mezcla en Santander de Quilichao (63-0, 31-55, 13-63, 1-55 y 31-47). Santander de Quilichao se encuentra aproximadamente a 900 m de altitud, mientras que Darién está a 1300 m.s.n.m.

**Líneas mejoradas avanzadas rojas, negras y cariocas.** En Darién se evaluaron 202 líneas (81 rojas y negras; 121 cariocas), en condiciones de campo, utilizando una mezcla de razas andinas y mesoamericanas locales. En todas las evaluaciones de campo, los materiales se inocularon tres veces, comenzando 25 días después de la siembra. La primera evaluación se realizó 10 días después de la primera inoculación. En total se registraron 5 evaluaciones.

**Evaluaciones de invernadero.** Los materiales resistentes (106) de las 202 líneas mejoradas avanzadas rojas, negras y cariocas evaluadas en Santander de Quilichao y Darién fueron nuevamente evaluados en condiciones de invernadero, empleando dos razas: 63-63 de Honduras y 63-47 de Malawi. Esta evaluación buscaba establecer el rango y la eficiencia de los materiales resistentes identificados y su idoneidad para otras localidades.

**Evaluación de líneas interespecíficas en condiciones de invernadero.** En condiciones de invernadero, utilizando la raza 63-63, se evaluaron 67 líneas interespecíficas que habían presentado altos niveles de resistencia a la MA en condiciones de campo en Darién. Estos materiales habían sido identificados anteriormente como altamente resistentes a *Colletotrichum lindemuthianum*.

**Resultados y Discusión:** La mayoría de las entradas BALSIT presentaron resistencia a las mezclas de *P. griseola* en condiciones de campo, tanto en Darién como en Santander de Quilichao (Cuadro 43). Algunas líneas (p. ej. G 5207, G 22542A, G 20743, G 8152, G 22447, BM 12722-60 y G 148) presentaron resistencia a la población de *P. griseola* en Darién pero no en Quilichao y viceversa, lo que indica la necesidad de evaluar la enfermedad en múltiples sitios al igual que la especificidad de patotipos de *P. griseola* respecto a una localidad. Es importante que estas posibles fuentes de resistencia se evalúen en diferentes localidades donde la MA es un problema, antes de seleccionar los materiales que se usarán en programas de mejoramiento o los genes que se desplegarán en una localidad dada.

**Líneas avanzadas.** Solo 4 líneas (MN 13338-38, MC 12832-129, MC 12832-129 y BM 12721-17) presentaron resistencia a las dos razas 63-63 y 63-47 (Cuadro 44). Otras 69 líneas presentaron resistencia solamente a la raza 63-47 pero fueron susceptibles a la raza 63-63. Es necesario evaluar estos materiales respecto a otras razas, especialmente de África y Brasil, donde frijol carioca es importante.

**Cuadro 43.** Respuesta de genotipos de frijol (BALSIT 2000-2001) respecto a la inoculación con mezclas de razas andinas y mesoamericanas, en condiciones de campo.

Identificación	H <sup>a</sup>	C <sup>b</sup>	S <sup>c</sup>	Calificación MA		Identificación	H	C	s	Calificación MA	
				Darién	Quilichao					Darién	Quilichao
G 10909	4	6	G	1	2	BM 12722-45		CrRd	p	5	5
G 20736	4	8	P	1	2	G 20523	3	6	G	6	2
BM 12722-49		CrRd	P	2	2	A 791	2	2	P	6	2
G 10736	4	8	M	1	3	G20818	1	3	M	6	2
BM 12722-57		CrRd	P	1	3	G11405	4	5	P	6	2
G10474	4	6	M	2	3	G 22267	3	6	G	6	3
AFR 703	2	6	G	2	3	G 22257		7	G	6	3
BM 12722-57		CrRd	P	2	3	G 6727	2	3	M	6	3
BM 12722-49		CrRd	P	3	3	G 20939	1	3	G	6	3
AND 277	1	6	M	3	3	G 5686	1	4M	G	6	3
G 10772	4	8	M	3	2	SEA 22	2	6	P	6	4
G 9282	2	5	P	4	2	G 7004	1	6	P	6	5
G 4691	3	2	P	4	3	BM 12722-83		CrRd	P	1	6
BM 12722-57		CrRd	P	1	4	BM 12722-129		CrRd	P	2	6
AFR 702	2	6	G	2	4	BM 12722-127		CrRd	P	3	6
BM 12722-127		CrRd	P	2	4	A 686	2	2	P	5	6
BM 12722-133		CrRd	P	2	4	A 384	2	4	P	5	6
BM 12722-77		CrRd	P	2	4	A 673				5	6
CNF 5558	2	2	P	2	4	SEA 21	2	6	P	6	6
BM 12722-133		CrRd	P	3	4	G14675	3	4	P	6	6
BRU 13	2	6	P	3	4	A 222	2	8	P	6	6
DFA 73		RjMt	M	3	4	G 10613	4	1	M	7	2
G 7005	1	6	P	3	4	G19115	4	5	M	7	2
DFA 70		RjMt	M	4	4	G 5207	2	8	P	7	3
AND 279	1	6	G	4	4	G 22542 A	1	3	G	7	3
BM 12722-126		CrRd	P	4	4	G 20743	3	6	G	7	3
AFR 735	2	6	G	4	4	G 8152	1	3M	M	7	3
G 19833	3	3	M	4	2	G 22447	3	3R	M	7	3
G 18842	1	2	M	5	2	BM 12722-60		CrRd	P	1	7
BAT 496 ANT	2	2	P	5	3	G 148	3	4	P	2	7
G 18224	3	6	P	5	3	BM 12722-110		CrRd	P	4	7
BM 12722-132		CrRd	P	2	5	G16267	3	5	P	4	7
G 2094	1	6	P	2	5	G 7874	1	6	P	5	7
G 4380	2	8	P	2	5	RWR 222	3	5	M	8	2
G18970	4	3	P	3	5	APN 153		RJ	M	0	0

<sup>a</sup> H = Hábito de crecimiento: 1 = arbustivo determinado; 2 = arbustivo indeterminado; 3 = postrado indeterminado; 4 = voluble indeterminado.

<sup>b</sup> C = color de semilla: 1 = Blanco, 2 = Crema-beige, 3 = Amarillo, 4 = Café, 5 = Rosado, 6 = Rojo, 7 = Morado, 8 = Negro, 9 = Otros = Gris, CrRd = Crema rayado, RjMt = Rojo moteado, Rj = Rojo

<sup>c</sup> S = tamaño de semilla: P = pequeña, M = mediano G = grande

**Cuadro 44.** Líneas mejoradas avanzadas de frijol rojo, negro y carioca resistentes a la inoculación con las razas 63-63 y 63-47, en condiciones de invernadero.

Entrada	Identificación	Color <sup>a</sup>	Tamaño <sup>b</sup>	Calificación MA <sup>c</sup>	
				63-47	63-63
101	MN 13338-38	Ne	P	8	1.3
49	MC 12832-129	Cr rd	M	2	2.9
33	MC 12832-129	Cr rd/Cr	P	2.1	3
57	BM 12721-17	Cr rd	P	1.3	3.9
54	BM 13352-2	Cr rd	P	2.6	4.2

<sup>a</sup> Color: Ne = Negro, Cr rd = Crema rayado, Cr = crema

<sup>b</sup> Tamaño de semilla: P = pequeño, M = mediano

<sup>c</sup> La calificación de MA se basa en la escala de 1-9 del CIAT (Schoonhoven y Pastor-Corrales, 1987).

**Conclusión:** Los materiales resistentes e intermedios identificados en este estudio se están combinando con materiales identificados de otros estudios para originar un nuevo vivero BALSIT 2002. La semilla se ha multiplicado y este vivero de 70 materiales será distribuido a socios colaboradores en Africa y en América Central y del Sur. Deben evaluarse líneas resistentes de frijol negro pequeño, rojo y carioca con otras razas de Africa y Brasil. Las líneas que muestran resistencia de amplio espectro pueden ser desplegadas en áreas donde son importantes estos tipos de semilla o donde pueden usarse como progenitores para mejorar la resistencia a MA.

### 3.3.6.2 Fuentes de resistencia a las cepas mesoamericanas más virulentas de mancha angular y antracnosis en líneas interespecíficas

#### Aspectos destacados:

- Se observó que 21 líneas interespecíficas derivadas de las cruzas sencillas y complejas de *P. vulgaris* y *P. coccineus* o *P. polyanthus* combinaron niveles altos de resistencia a mas virulento cepas de antracnosis (3481) y a mancha angular (63-63).

**Justificación:** Debido a la alta diversidad de patotipos mostrada por *C. lindemuthianum*, y *P. griseola*, la resistencia que es eficaz contra algunas razas en una región necesariamente no es eficaz en otra región. En consecuencia, no hay ningún gen de resistencia que sea eficaz contra todas las razas conocidas de estos patógenos. Por ejemplo, alguno de los genes de resistencia a antracnosis bien conocidos eficaces en Europa (p. ej., *Co-2*, *Co-3*, *Co-4* y *Co-5*) no son eficaces en Colombia, Brasil, Costa Rica y México. La variedad G 2333, con tres genes resistentes {*Co-4<sup>2</sup>*, *Co-5*, *Co-7*}, aunque presenta resistencia a la mayoría de razas de antracnosis conocidas, es susceptible a las razas 3481, 3545, 3977 y 3933 de Costa Rica, México y Argentina. El deterioro de la resistencia en G 2333, una vez que se consideraba que era eficaz contra todas las razas, requiere una diversificación de los genes de resistencia al considerar otros acervos genéticos de *Phaseolus*. Anteriormente hemos encontrado que el acervo genético secundario {*Phaseolus polyanthus* y *P. coccineus*) es altamente resistente a muchas razas de *C. lindemuthianum* que incluyen las razas que infectan a G 2333 y también es altamente resistente a muchos cepas de *P. griseola*. Además, se ha sabido que el acervo genético secundario es una fuente que ofrece caracteres agronómicos interesantes, entre los cuales figuran la resistencia a factores de estrés biótico (MA, Ascochyta, virus del mosaico dorado del frijol) y abiótico (sequía). En consecuencia, seleccionamos 75 líneas interespecíficas derivadas de las cruzas sencillas y complejas que incluían *P. vulgaris* y *P. polyanthus* o *P. coccineus* que previamente, se encontró que estos materiales presentaban niveles altos de resistencia a la mancha angular a nivel de campo. Formulamos una hipótesis de que la resistencia duradera a la mancha angular y a la antracnosis se puede encontrar en el acervo genético secundario. Por consiguiente, dividimos las líneas en grupos para identificar aquellas que combinaban resistencia combinada a cepas mas virulento de MA y a antracnosis; esto, con el fin de utilizarlas como progenitores para someter simultáneamente a introgresión en frijol de tipo comercial, con resistencia a estas dos enfermedades.

**Materiales y Métodos:** Se seleccionaron 75 líneas interespecíficas que fueron el resultado de cruzas sencillas y complejas de *P. polyanthus*, *P. coccineus* y *P. vulgaris* (Cuadro 45), que habían presentado niveles altos de resistencia a la mancha angular en condiciones de campo y de invernadero, usando raza (3481) de *C. lindemuthianum*. Se sembraron diez semillas de cada genotipo en semilleros y se cultivaron en condiciones de invernadero durante 10 días hasta que las plántulas habían alcanzado la etapa de hoja primaria completamente extendida. Las plántulas de cada accesión se aspejaron con una suspensión de esporas ( $1 \times 10^4$  mL<sup>-1</sup> de esporas) hasta que escurriera por el tallo y por ambas superficies de los cotiledones. Después de la inoculación, las plantas fueron mantenidas en condiciones de humedad alta (superior al 95%) a 22 C aproximadamente,

con un ciclo de 12 h de luz/oscuridad durante 8 días. Se tomó el puntaje de la enfermedad a los 10 días de la inoculación, empleando la escala de severidad del 1 al 9 del CIAT (Schoonhoven y Pastor-Corrales, 1987). Las plantas que no presentaron síntomas visibles de la enfermedad o que presentaban unas pocas lesiones muy pequeñas, principalmente en las nervaduras de la hoja primaria se clasificaron como resistentes (escala del 1 al 3). Las plantas que presentaban numerosas lesiones pequeñas o agrandadas, o chancros hundidos tanto en el envés de las hojas como en el tallo de la plántula se clasificaron como susceptibles (escala del 7 al 9). Las plantas que tuvieron un puntaje de (3.1-6.9) se clasificaron como intermedias.

**Evaluación de líneas interespecíficas en condiciones de invernadero con raza 63-63 de *P. griseola*.** En condiciones de invernadero, utilizando la raza 63-63, se evaluaron 75 líneas interespecíficas que habían presentado altos niveles de resistencia a la MA en condiciones de campo en Darién. Estos materiales habían sido identificados anteriormente como altamente resistentes a tres razas de *Colletotrichum lindemuthianum*.

**Resultados y Discusión:** De las 75 líneas interespecíficas, 49 presentaron resistencia a la raza 3481, la más agresiva, (Cuadro 45). En total, 22 líneas fueron susceptibles a la raza 3481, mientras 2 líneas fueron susceptibles a la raza 15 y una línea, a la raza 6. Las diferencias en el número de líneas que presentaron resistencia y susceptibilidad entre las razas utilizadas simboliza la modalidad compleja de este agente patógeno. La frecuencia baja de resistencia que se encontró (49 líneas), comparada con la resistencia total que se encontró en la colección básica del acervo genético secundario (informe Anual de 2000) podría haber sido el resultado de la selección previa de líneas interespecíficas para otros caracteres. Dado que estos materiales se encontraban en generaciones avanzadas ( $F_5$  a  $F_9$ ), es posible que los genes de resistencia a la antracnosis puedan haberse perdido a través de varias generaciones de selección para el fenotipo de *P. vulgaris*, el virus del mosaico dorado y/o la resistencia a *Ascochyta* hasta la exclusión de los segmentos sometidos a introgresión que contenían los genes de resistencia a la antracnosis.

**Evaluación a mancha angular.** De las 75 líneas interespecíficas, 20 presentaron respuesta intermedia o resistente a la inoculación con la raza 63-63, mientras que 21 fueron resistentes (Cuadro 46). Estos materiales combinan resistencia a varias razas de *P. griseola* (a partir de evaluaciones de campo anteriores) y *C. lindemuthianum*. Deben ser evaluadas respecto a otros caracteres como la resistencia a la pudrición radical. Es necesario iniciar estudios para caracterizar la naturaleza y la herencia de la resistencia en estos materiales, y así desarrollar progenitores que puedan usarse en los programas de mejoramiento orientados hacia una resistencia duradera a la mancha angular.

**Cuadro 45.** Respuesta de líneas interespecíficas derivadas de las cruzas sencillas y complejas de los acervos genéticos primario y secundario de frijol con respecto a la inoculación con 3 razas de *Colletotrichum lindemuthianum* en condiciones de invernadero.

Cruza <sup>a</sup>	Familia	Tipo de cruza <sup>b</sup>	3481
BAT 338 x G35252 (5)	F <sub>8</sub>	Pv x Pe	R
BAT 338 x G35252	F <sub>8</sub>	Pv x Pe	s
BAT 338 x G35252	F <sub>s</sub>	Pv x Pe	s
BAT 338 x G35252	F <sub>8</sub>	Pv x Pe	R
BAT 338 x G35252	FB	Pv x Pe	s
BAT 338 x G35252 (3)	F <sub>9</sub>	Pv x Pe	R
BAT 338 x G35252	F <sub>9</sub>	Pv x Pe	s
BAT 338 x G35252 (4)	F <sub>9</sub>	Pv x Pe	s
BAT 338 x G35252	F <sub>9</sub>	Pv x Pe	I
BAT 338 x G35252	F <sub>9</sub>	Pv x Pe	I
(G35649 x G 3807)x G35023 (2)	F <sub>5</sub>	(Pcw x Pv)x Pe	R
((G35876 x G 3807)x G35182)x A 114 (10)	F <sub>7</sub>	((Pcw x Pv)x Pp	R
((G35876 x G 3807)x G35182)x S31003 (12)	F <sub>7</sub>	((Pcw x Pv)x Pp	R
AND 279 x G35337	F <sub>2</sub>	Pvx Pp	R
PVA1426 x G35180	F <sub>3</sub>	Pv x Pp	R
BAT 1253 x G35325	F <sub>3</sub>	PvxPp	R
((G35876 x G 3807)x G35325)x VRA81043 (2)	F <sub>3</sub>	((Pcw x Pv)x Pp	R
((S13811 x G 677)x G35023)x BAC 24	F <sub>4</sub>	((Pcp x Pv)x Pe	S
(G35649 x G 3807)x BAC 24	F <sub>4</sub>	(Pcw x Pv)x Pv	S
(G35649 x G 3807)x BAC 24 (2)	F <sub>4</sub>	(Pcw x Pv)x Pv	R
(G35649 x L32)x BAC 24	F <sub>6</sub>	(Pcw x Pv)x Pv	S
ZAV83102 x G35182	F <sub>3</sub>	Pv X Pp	R
AND 84 x Pilo	F <sub>2</sub>	PvxPp	R
E1056 x G35060	F <sub>4</sub>	Pv x Pp	R
AND 107 x Pilo	F <sub>2</sub>	Pv x Pp	R
Mortiño x X7 (2)	F <sub>9</sub>	Pv x Pp	R
((G35876 x S30985)x G35182)x G21715	F <sub>2</sub>	((Pcw x Pv)x Pp	I
((G35876 x S30985)x G21715)x G35336	F 2	((Pcw x Pv)x Pv	R
((G35876 x G 3807)x BAT1276)x G35182	F <sub>4</sub>	((Pcw x Pv)x Pv	R
(ICA PIJAO X G 35171)F, X ICA PIJAO)	F <sub>8</sub>	(Pv x Pc)x Pv	R
(ICA PIJAO X G 35171)F, X ICA PIJAO)	F <sub>8</sub>	(Pv x Pc)x Pv	S
(ICA PIJAO X G 35172) X ICA PIJAO)	F <sub>s</sub>	(Pv x Pc)x Pv	S
(ICA PIJAO X G 35172) X ICA PIJAO)	F <sub>8</sub>	(Pv x Pc)x Pv	I
ICA PIJAO X (ICA PIJAO X G 35877) (6)	F <sub>5</sub>	Pv x (Pv x Pe)	s
ICA PIJAO X (ICA PIJAO X G 35877) (2)	F <sub>s</sub>	Pv x (Pv x Pe)	s
ICA PIJAO X (ICA PIJAO X G 35877)	F <sub>s</sub>	Pv x (Pv x Pe)	s

<sup>a</sup> genotipos utilizados para realizar las cruzas. El número entre los corchetes representa el número total de líneas de esa cruza con la reacción específica.

<sup>b</sup> Pv = *Phaseolus vulgaris*; Pc = *Phaseolus coccineus*; Pp = *Phaseolus polyanthus*

**Cuadro 46.** Líneas interespecíficas resistentes o intermedias a la inoculación con la raza 63-63 de *Phaeoisariopsis griseola*, en condiciones de invernadero.

Número Entrada	Cruza	Familia	Tipo de cruza	Calificación MA
1	401 (G35649 x G 3807)x G35023	F <sub>5</sub>	(Pcw x Pv)x Pe	1.0
2	382 ((G35876 x G 3807)x G35182)x A 114	F <sub>7</sub>	((Pcw x Pv)x Pp)x Pv	1.0
3	377 ((G35876 x G 3807)x G35182)x A 114	F <sub>7</sub>	((Pcw x Pv)x Pp)x Pv	4.5
4	74 AND 279 x G35337	F <sub>2</sub>	Pv x Pp	5.8
5	348 ((G35876 x G 3807)x G35182)x S31003	F <sub>7</sub>	((Pcw x Pv)x Pp)x Pv	1.0
-6	677 BATI253 x G35325	F <sub>3</sub>	Pv x Pp	3.0
7	31 ((G35876 x G 3807)x G35325)x VRA81043	F <sub>3</sub>	((Pcw x Pv)x Pp)x Pv	1.0
8	340 ((G35876 x G 3807)x G35182)x S31003	F <sub>7</sub>	((Pcw x Pv)x Pp)x Pv	2.3
9	378 ((G35876 x G 3807)x G35182)x A 114	F <sub>7</sub>	((Pcw x Pv)x Pp)x Pv	2.0
10	496 ((G35876 x G 3807)x G35182)x VRA81078	F <sub>3</sub>	((Pcw x Pv)x Pp)x Pv	4.0
11	8 ((S13811 x G 677)x G35023)x BAC 24	F <sub>4</sub>	((Pcp x Pv)x Pc)x Pv	2.0
12	402 (G35649 x G 3807)x G35023	F <sub>5</sub>	(Pcw x Pv)x Pe	1.0
13	7 (G35649 x G 3807)x BAC 24	F <sub>4</sub>	(Pcw x Pv)x Pv	3.0
14	342 ((G35876 x G 3807)x G35182)x S31003	F <sub>7</sub>	((Pcw x Pv)x Pp)x Pv	1.0
15	385 ((G35876 x G 3807)x G35182)x S31003	F <sub>7</sub>	((Pcw x Pv)x Pp)x Pv	1.8
16	372 ((G35876 x G 3807)x G35182)x A 114	F <sub>7</sub>	((Pcw x Pv)x Pp)x Pv	3.0
17	27 ZAV83102 x G35182	F <sub>3</sub>	Pv x Pp	1.0
18	590 BAT 338 x G35252	F <sub>8</sub>	Pv x Pe	5.8
19	664 Mortiño x X7	F <sub>9</sub>	Pv x Pp	2.5
20	665 Mortiño x X7	F <sub>9</sub>	Pv x Pp	2.8
21	344 ((G35876 x G 3807) x G35182) x S31003	F <sub>7</sub>	((Pcw x Pv)x Pp)x Pv	2.0

**Conclusiones:** Estos materiales constituyen un conjunto importante de posibles fuentes de resistencia duradera a la antracnosis y mancha angular. Los altos niveles de resistencia que se encontraron en estos materiales son la prueba del potencial genético del acervo genético secundario *Phaseolus* como una fuente de resistencia duradera a dichas enfermedades en un programa de fitomejoramiento. Además, esta resistencia está presente en líneas interespecíficas, lo que significa que los fitogenetistas pueden aprovechar estos materiales para acortar la cantidad de tiempo necesario para transferir esta resistencia a los tipos comerciales de frijol. Estos materiales también combinan la resistencia a la mayoría de las razas conocidas de MA, incluidas las más agresivas que se han identificado hasta la fecha. En consecuencia, el empleo de estos materiales hará posible la introgresión simultánea de la resistencia a la MA y a la antracnosis. Sin embargo, lo substancial del empleo con éxito de la resistencia en estos materiales es el conocimiento y la comprensión de la modalidad y la herencia de esta resistencia.

### 3.3.6.3 Identificación de genotipos de frijol con resistencia a *Macrophomina*

#### Aspectos destacados:

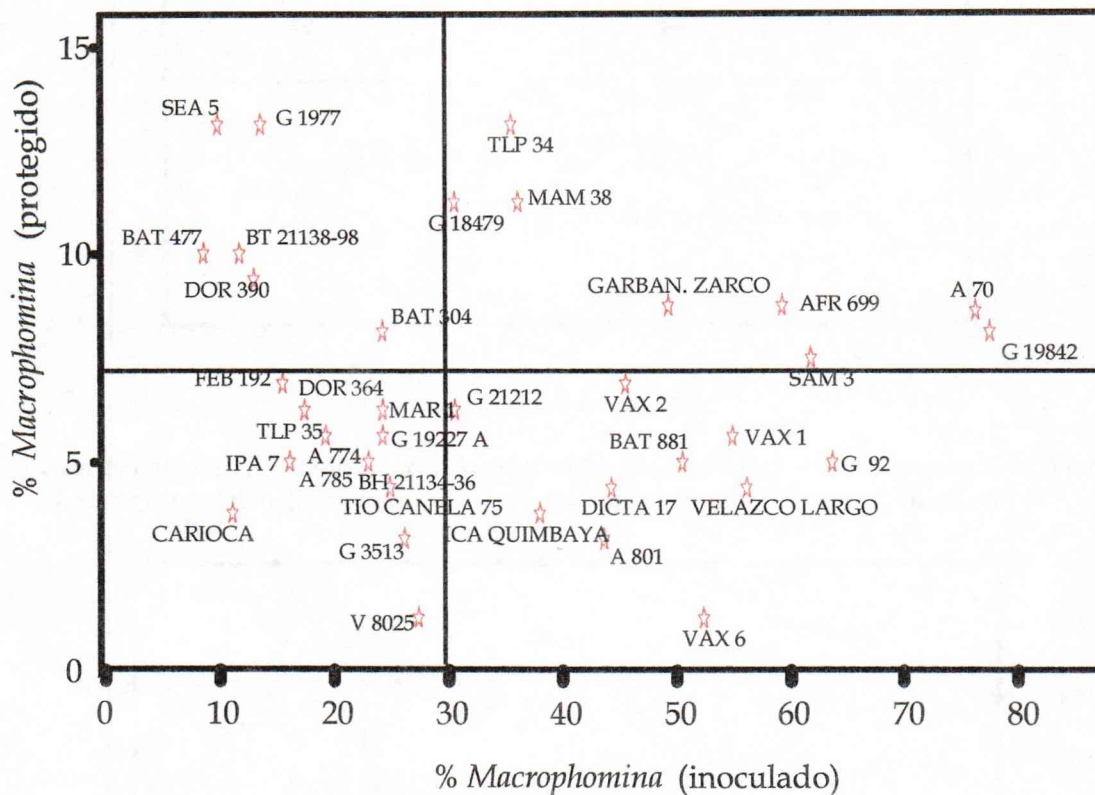
- Se observó que algunos genotipos de frijol común (G 192 y DICTA 17) son tolerantes a *Macrophomina phaseolina* y presentan resistencia cuantitativa a este hongo.

**Justificación:** La sequía es uno de los riesgos más generalizados en la producción agrícola, afectando quizás hasta el 60% de las regiones productoras de frijol. La pudrición carbonosa, causada por el hongo transmitido por el suelo *Macrophomina phaseolina* se encuentra asociada con la sequía. Se ha demostrado que *M. phaseolina* puede aumentar su incidencia desde un porcentaje tan bajo como 9%, en condiciones adecuadas de agua, hasta un porcentaje tan alto como 80%, en condiciones de estrés por déficit hídrico, lo que puede originar la pérdida total del cultivo si se presentan condiciones de sequía a principios del ciclo de crecimiento y las plantas son susceptibles. Trabajos anteriores han mostrado una fuerte correlación entre la incidencia de *M. phaseolina* y la tolerancia de la sequía. La identificación y el uso de genotipos de frijol resistentes o tolerantes a *M. phaseolina* es un componente importante y fundamental en el mejoramiento respecto a la sequía. Este estudio es una continuación del proyecto cuyos objetivos son evaluar genotipos de frijol respecto a su respuesta a *M. phaseolina*, identificar genotipos para ser usados como progenitores en un programa de mejoramiento y originar líneas puras recombinantes para su uso subsiguiente en la identificación y marcación de genes de resistencia. La meta final es utilizar la resistencia a *M. phaseolina* como un marcador para seleccionar rápidamente cantidades grandes de germoplasma antes de que sean evaluadas en condiciones de sequía.

**Materiales y Métodos:** Los 36 materiales de frijol común que representan el ensayo de baja fertilidad del suelo se sembraron en el campo en Santander de Quilichao. Cada ensayo contenía 4 hileras de 3 metros cada una y se sembraron 40 semillas en cada hilera. Se utilizaron como testigos el cultivar resistente BAT 447 y el susceptible (A 70). Las plantas fueron inoculadas utilizando 4 g de microesclerocios/kg de suelo, o se protegieron las semillas con una combinación de fungicidas que incluía Vitavax, Benlate y Banrot. La emergencia de plantas se evaluó 15 días después de la siembra y se hizo seguimiento de la aparición de la enfermedad con una evaluación 15 días después de la primera evaluación y luego nuevamente en el momento de la cosecha. Se recopilaron datos de rendimiento, así como información sobre la severidad y el número de plantas que mostraban síntomas de *M. phaseolina*. Además, se evaluó la respuesta a *M. phaseolina*, en condiciones de invernadero, de 10 variedades de frijol que se utilizan como progenitores en esfuerzos de mejoramiento respecto a la tolerancia de la sequía.

**Resultados y Discusión:** Varios genotipos (BT 21138-98, Carioca, BAT 447 (testigo resistente), DOR 390, G 1977, SEA 5, IP A 7, FEB 192, TLP 35, DOR 364, A774 y A 785) presentaron incidencia baja de *M. phaseolina* (Figura 46). Las líneas más susceptibles incluyeron BAT 881, SAM 3, G 92, G 19842, A 70 (testigo susceptible) y AFR 699. En la Figura 47 se aprecia la relación entre la incidencia de *M. phaseolina* y el rendimiento después de la inoculación. Varios genotipos (BAT 304, Carioca, BAT 477, MAR 1, etc.) combinaron altos rendimientos y baja incidencia de *M. phaseolina*. Algunos genotipos (p.

ej., G 92 y DICTA 17) presentaron rendimiento de hasta 1159 kg/ha y 1515.7 kg/ha, respectivamente, pese haber presentado una incidencia de la enfermedad de 45% y 63.8%, respectivamente. Dichos genotipos presentan tolerancia de los efectos de *M. phaseolina*. Los genotipos que arrojaron los mejores rendimientos después de la inoculación o la protección fueron G 92, BAT 304, A 774, Feb 197, Carioca, DICTA 17 y V 8025, entre otros (Figura 48).



**Figura 46.** Incidencia de *Macrophomina phaseolina* en 36 genotipos de frijol común a partir del ensayo de baja fertilidad, después de la inoculación con el hongo o la protección con una mezcla de tres fungicidas.

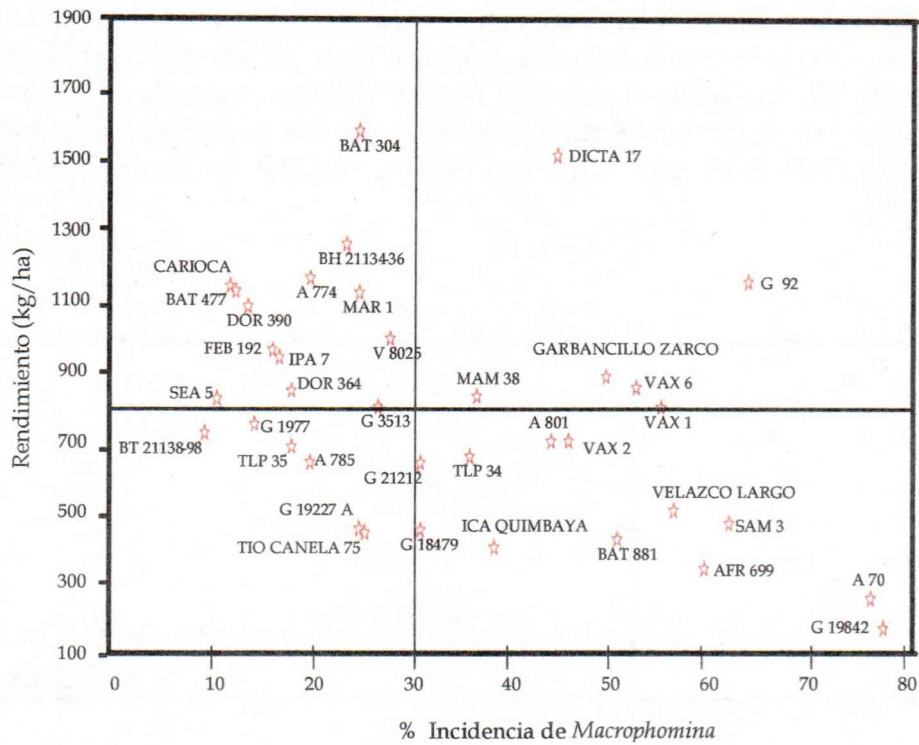


Figura 47. Relación entre la incidencia de *Macrophomina phaseolina* y el rendimiento de las líneas de 36 genotipos procedentes del vivero de baja fertilidad del suelo y sequía.

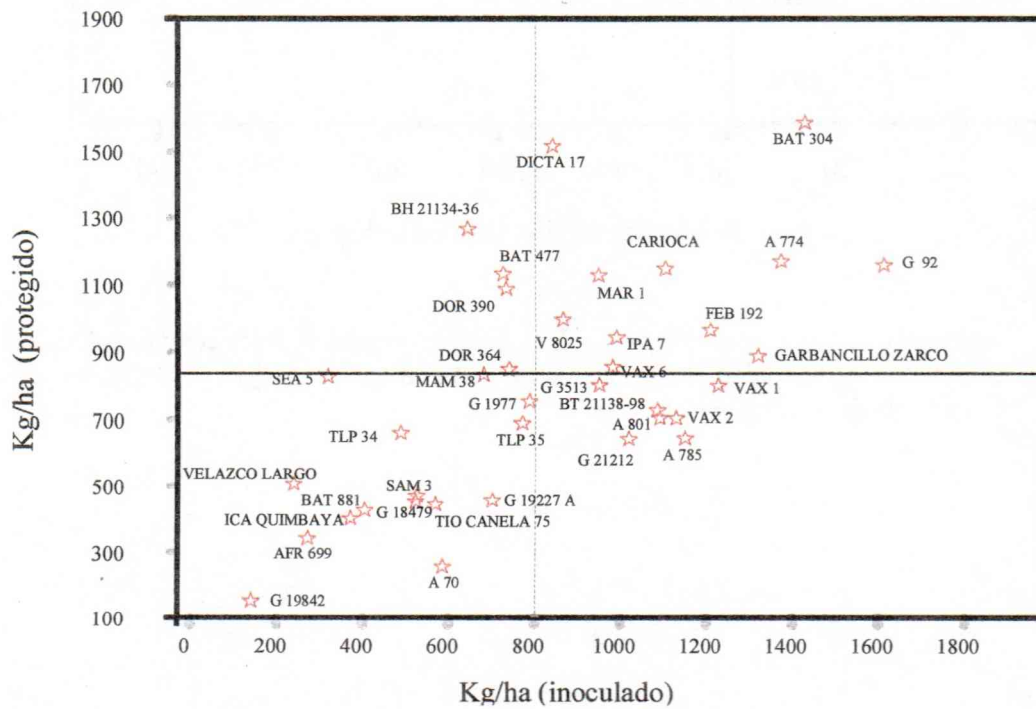


Figura 48. Rendimiento de 36 genotipos de frijol del vivero de baja fertilidad y sequía después de la inoculación con *Macrophomina phaseolina* o la protección con tres fungicidas

Evaluaciones de invernadero. Entre las 10 variedades utilizadas como progenitores en el mejoramiento respecto a la sequía, solamente SEA 5 fue altamente resistente a *M. phaseolina*, en tanto que DOR 390 presentó una respuesta intermedia. Los demás genotipos fueron susceptibles (Cuadro 47).

Cuadro 47. Respuesta a la inoculación con *Macrophomina phaseolina* de genotipos de frijol común utilizados como progenitores en el mejoramiento respecto a la tolerancia de la sequía.

Entrada	Genotipo	Respuesta a la inoculación con <i>Macrophomina phaseolina</i>	
		Severidad de la enfermedad	% Incidencia de la enfermedad
1	SEA 5	1.11	3.70
2	SEA 20	7.90	96.67
3	SEA 19	8.10	100
4	SEA 21	8.73	96.67
5	SEA 22	7.96	96.15
6	SEA 15	8.38	96.55
7	SEA 23	9.00	100
8	MD 23-24	8.07	100
9	Tío Canela 75	6.79	96.67
10	DOR 390	4.10	46.67
	A 70 (testigo)	8.63	96.67
	BAT 477 (testigo)	1.00	0

Conclusiones: Se observó una marcada correlación entre los genotipos que han sido reportados como tolerantes de la sequía (SEA 5, BT 21138-98, Carioca y BAT 447) y el desempeño de los mismos en condiciones de inoculación con *M. phaseolina*. Estas líneas fueron altamente resistentes a *M. phaseolina*. Linas pocas líneas (p. ej., G 92, DICTA 17, etc.) presentaron una alta incidencia de *M. phaseolina* y rendimientos altos, lo que indica que estos genotipos toleran el efecto de este hongo. Estos resultados indican que estos genotipos (G 92 y DICTA 17) son tolerantes de los efectos de *M. phaseolina* y esto puede estar bajo el efecto de genes cuantitativos. En consecuencia, la selección de genotipos exclusivamente con base en la incidencia o severidad de *M. phaseolina* puede excluir otros genotipos parecidos a G 92. El rendimiento es un criterio importante que debe ser considerado, por cuanto puede identificar genotipos que presentan rendimientos aceptables a pesar de soportar niveles altos de la enfermedad.

## Actividades adicionales no financiadas por PROFRIJOL

### Actividad 3.3.7 Caracterización y seguimiento de la diversidad de los agentes patógenos y los insectos

#### Aspectos destacados:

- Se observó que se mantiene la alta diversidad genética en *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, pero que esta diversidad no se estructura geográficamente.
- Se observó que las variantes de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap y Xapf) están lo suficientemente diferenciadas desde el punto de vista genético para ser clasificadas en grupos diferentes.

#### 3.3.7.1. Caracterización molecular del agente patógeno de la bacteriosis común, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, de diferentes regiones productoras de frijol

**Introducción:** La bacteriosis común (BC) del frijol es causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap). Esta bacteria se presenta en dos formas: la forma que no produce pigmento, *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) y su variante productora de pigmento pardo, *X. axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans* (Xapf). Ambas causan síntomas similares y son transmitidas por semilla, pero Xapf ha demostrado ser más agresiva que Xap. Xapf produce un pigmento similar a la melanina en un medio de tiroxina, originado por la secreción y oxidación del ácido homogenístico, un producto intermedio en la vía catabólica de la tiroxina (Goodwin y Sopher, 1994). En la cepa no fuscans (Xap), está presente una vía catabólica completa que permite el uso de la tiroxina como nutrimento (Goodwin y Sopher, 1994). La interrelación entre Xap y Xapf ha sido tema de gran controversia y varios investigadores han propuesto que Xap y Xapf sean consideradas especies diferenciadas de *Xanthomonas*. Por ejemplo, el análisis de electroforesis de geles de campos de pulsos de los cromosomas enteros (Chan y Goodwin, 1999) reveló que el tamaño promedio del genoma de Xap (3850.6 + 48.9 kb) fue significativamente mayor que el de Xapf (3584.3 + 68.1 kb). El RFLP del ADN genómico digerido por XbaI utilizando genes de Hrp y liasa de pectato como sondas indicó que Xap y Xapf eran diferentes (Chan y Goodwin, 1999). Sin embargo, la mayor parte del trabajo en genética de Xap y Xapf se basa en muestras pequeñas, casi siempre de menos de 50 aislamientos, y de una o dos regiones. No ha habido ninguna gestión para brindar información concluyente sobre la diversidad genética existente dentro de Xap y Xapf y entre ambas variantes, utilizando muestras más grandes recolectadas de regiones diversas y diferentes donde la BC es una limitación de la producción. Esta información aportará elementos sobre la interrelación de las dos formas de Xap, indicar el nivel de diversidad genética que se mantiene en Xap y Xapf, así como brindar elementos básicos para seleccionar aislamientos para evaluar genotipos de frijol que han sido reportados por su interacción diferencial con Xap. Este estudio se realizó para establecer el nivel de diversidad genética dentro y entre Xap y Xapf

de diferentes regiones productoras de frijol y establecer si Xap y Xapf están lo suficientemente diferenciadas genéticamente para ser clasificadas como especies diferenciadas. Esta información servirá de base para seleccionar aislamientos para la evaluación de genotipos de frijol que, según informes, presentan interacción diferencial y para confirmar si existe, en realidad, la interacción hospedero/agente patógeno en el patosistema BC/frijol común.

**Materiales y Métodos:** En este estudio se emplearon 412 cepas bacterianas recolectadas de hojas y semillas infectadas de frijol, y de diferentes regiones de cultivo de frijol (Cuadro 48). Los aislamientos se verificaron respecto a su patogenicidad por medio de su respuesta en un cultivar de frijol susceptible, BAT 41. Se incluyeron todos los aislamientos patógenos para la caracterización genética (Cuadro 49). Además, estos aislamientos también se caracterizaron en 6 genotipos de *Phaseolus* que incluyeron accesiones de *Phaseolus acutifolius* (G 40006, OAC y G 4000IR) y cultivares de *P. vulgaris* mejorados respecto a su resistencia a BC (XAN 112, XAN 159 y VAX 6). Todas las líneas mejoradas portan genes de diferentes accesiones de *P. acutifolius*, que posee genes mayores de resistencia a BC.

**Amplificación de RCP/RFLP de genes ribosómicos bacterianos 16S:** Se preparó ADN genómico empleando un protocolo en pequeña escala (CIAT, 1999). El gen 26S, incluyendo la región espaciadora entre los genes 23S y 16S, se amplificó utilizando los iniciadores conservados 27F y FGPS-132, que se anclan en el extremo 5' de los genes ribosómicos 16S y 23S, respectivamente. El fragmento fue amplificado por RCP (35 ciclos a 95°C, 1 min; 65°C, 1 min; 72°C, 3 min; y una extensión final a 72°C durante 10 min), empleando 30 ng de ADN genómico, 0.4 uM de cada iniciador (27F, 5' - AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG (Dunbar et al., 2000)-3' y FGPS-132, 5' - CCG GGT TTC CCC ATT CGG-3' (Laguerre et al., 1996), 0.2 mM de dNTP, 2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 2 U Taq polimerasa (Promega) en reacciones de 50 uL (MJ Thermo Cycler). Las amplificaciones se visualizaron mediante electroforesis antes de la digestión con MboI, Rsa I y HaeIII. Los perfiles de la banda de ADN generados por análisis de RFLP se visualizaron por electroforesis en geles de agarosa al 1.5% y se utilizó como marcador molecular una escala de 100 pb. Las imágenes de geles se captaron empleando el sistema de documentación de geles Eagle Eye (Stratagene) y se determinó la posición de bandas utilizando el software científico Quantity One, versión 4 (BIO-RAD).

**Amplificación Rep-RCP:** Se llevaron a cabo protocolos Rep-PCR según se describe en Louws et al. (1994), utilizando los iniciadores correspondientes a los elementos del consenso intergénico repetitivo enterobacterial (ERIC, su acrónimo en inglés) y las secuencias correspondientes a los elementos palindrómicos extragénicos repetitivos (REP, su acrónimo en inglés) (Versalovic et al., 1991) y BOXA, una subunidad del elemento BOX (Martin et al., 1992). Las imágenes de geles se captaron empleando el sistema de documentación de geles Eagle Eye (Stratagene) y la posición de las bandas se determinó utilizando el software científico Quantity One, Versión 4 (BIO-RAD).

Cuadro 48. Origen y número de cepas de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* y *X. axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans* utilizadas en este estudio.

Región	País	Cepas Xap		Total
		Xapf	Xap	
América del Sur	Argentina	6	11	17
	Brasil	10	33	43
	Colombia	30	50	80
	Paraguay	4	29	33
	Perú	1	0	1
	Uruguay	0	4	4
				178
América Central	Costa Rica	5	20	25
	Guatemala	12	7	19
	Honduras	5	14	19
	Nicaragua	4	2	6
	El Salvador	3	6	9
				88
Caribe	Cuba	1	12	13
	República Dominicana	0	15	15
	Haití	3	22	25
	Jamaica	0	1	1
	Puerto Rico	4	19	23
				77
Africa	Burundi	1	4	5
	Malawi	6	1	7
	Sudáfrica	0	1	1
	Uganda	0	2	2
	Zambia	0	2	2
		7	10	17
América del Norte	México	6	10	16
	Estados Unidos	7	15	22
	Canadá	1	2	3
				41
Oriente Medio	Irán	0	7	7
	Turquía	1	6	7
				14
Europa	España	0	2	2
Australia	Australia	1	4	5
Total		111	301	412

**Cuadro 49.** Respuesta de 412 aislamientos de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* en 6 genotipos de *Phaseolus* que portan diferentes genes de resistencia a BC.

Genotipo de <i>Phaseolus</i> <sup>a</sup>	No. de aislamientos con interacción compatible	No. de aislamientos con interacción incompatible
XAN 112	118	225
G 40006	320	23
XAN 159	117	226
OAC	166	177
G 4000IR	6	337
VAX 6	0	343
BAT 41	343	0 (69) <sup>b</sup>

<sup>a</sup> XAN 112, XAN 159 y VAX 6 son líneas mejoradas de *Phaseolus acutifolius* que contienen genes de resistencia a BC. VAX 6 fue desarrollada mediante piramidación de varios genes de resistencia de diferentes fuentes de *P. acutifolius* y líneas mejoradas de *P. vulgaris*. G 40006, OAC y G 40001R son genotipos de *P. acutifolius* que portan diferentes genes mayores de resistencia a BC. BAT 41 es una línea mejorada de *P. vulgaris* de la cual no se ha reportado resistencia a BC.

<sup>b</sup> El número entre paréntesis significa xanthomonadas no patógenas.

**Resultados y Discusión:** De los 412 aislamientos evaluados, 343 infectaron BAT 41, en tanto que los demás (69) no fueron patógenos (Cuadro 49). Como resultado, solamente 343 aislamientos se incluyeron en análisis posteriores empleando técnicas moleculares. Además, los 343 aislamientos no fueron patogénicos en VAX 6, la variedad más resistente que fue desarrollada en CIAT mediante hibridación interespecífica y técnicas de rescate de embriones, seguida de la piramidación de varios genes con resistencia a BC (Singh y Muñoz, 1999).

La amplificación de RCP del gen 16S y la secuencia espaciadora dio lugar a un fragmento de aproximadamente 2.5 kb. Los perfiles más informativos de RFLP se obtuvieron utilizando las enzimas de restricción Mbo I, Rsa I y Hae III, que permiten la diferenciación de las cepas Xap de las de Xapf y las xanthomonadas no patógenas (Figura 49). Por ejemplo, el análisis de RFLP empleando Rsa I reveló dos fragmentos de aproximadamente 1.1 kb y 1.2 kb en los aislamientos de Xapf solamente, en tanto que tres fragmentos de cerca de 500 pb, 600 pb y 800 pb estaban presentes solamente en aislamientos de Xap (Figura 49). Se observó un patrón similar para Mbo I y Hae III. Estos fragmentos pueden convertirse potencialmente en sondas de diagnóstico específicas para finalidades de cuarentena. El proyecto ha clonado algunos de los fragmentos y actualmente los está evaluando como candidatos potenciales para la detección específica de Xap y Xapf en semilla de frijol.

El análisis Rep-PCR generó huellas dactilares genómicas complejas con los tres conjuntos de iniciadores de cada aislamiento Xap y Xapf. Los aislamientos Xap se podían diferenciar claramente de Xapf y de las xanthomonadas no patógenas con base en sus perfiles Rep-RCP. Se evaluaron 63 fragmentos polimorfos utilizando el software científico Quantity One, versión 4 (BIO-RAD). Los análisis de conglomerados y de correspondencia múltiple de los perfiles que resultan de los perfiles generados por las tres enzimas y Rep-RCP, en forma individual o juntos, mostraron que Xap y Xapf se diferencian genéticamente (Figura 50). Los aislamientos se agruparon en dos amplios grupos correspondientes a Xap y Xapf. La similitud genética promedio entre los dos grupos fue de 0.45. Sin embargo, se encontró más variación dentro de Xap (coeficiente promedio de similitud de 0.80) que en Xapf (0.89).

El análisis de varianza molecular de RFLP combinado de ADNr 16S y Rep-RCP no indicó diferenciación geográfica para Xapf ( $Gst = 0.013$ ) o Xap ( $Gst = 0.017$ ). No obstante, fue evidente la significativa diferenciación genética entre Xap y Xapf ( $Gst = 0.58$ ), lo que indica el nivel de diferenciación genética entre las dos formas de *X axonopodis* pv. *phaseoli*. La falta de diferenciación geográfica es prueba de que pueden usarse los genes de resistencia disponibles para manejar eficazmente *X axonopodis* pv. *phaseoli* en diversas regiones.

Conclusiones: Se está manteniendo suficiente diversidad genética dentro de Xap y Xapf, pero la cantidad de variación genética dentro de cada grupo es menos que la que existe entre un grupo y el otro. No hubo evidencia de diferenciación geográfica en el agente patógeno de BC. En consecuencia, es probable que los genes de resistencia disponibles sean eficaces en diversas zonas geográficas. El RFLP del ADNr de 16S específico para Xap y Xapf, observado en este estudio, puede ser desarrollado y usado para la detección específica de Xap y Xapf en ensayos de semilla y en cuarentena. Algunos de los fragmentos han sido clonados y están siendo evaluados respecto a su potencial para detectar específicamente *A! axonopodis* pv. *phaseoli* en tejido vegetal y en semillas. Nuestro estudio, junto con otros estudios (Chan y Goodwin, 1999; Birch et al., 1997; Gabriel et al., 1989), parecen indicar que Xap y Xapf son genéticamente distintos y pueden pertenecer a diferentes especies de *Xanthomonas*. Actividades futuras estarán orientadas hacia la selección de genotipos andinos y mesoamericanos que han sido reportados mostrando interacción diferencial con *X. axonopodis* pv. *phaseoli* y su variante fuscans, utilizando aislamientos recolectados de fuentes diferentes, con el fin de determinar si se presenta interacción diferencial en el patosistema *X axonopodis* pv. *phaseoli*/frijol común.

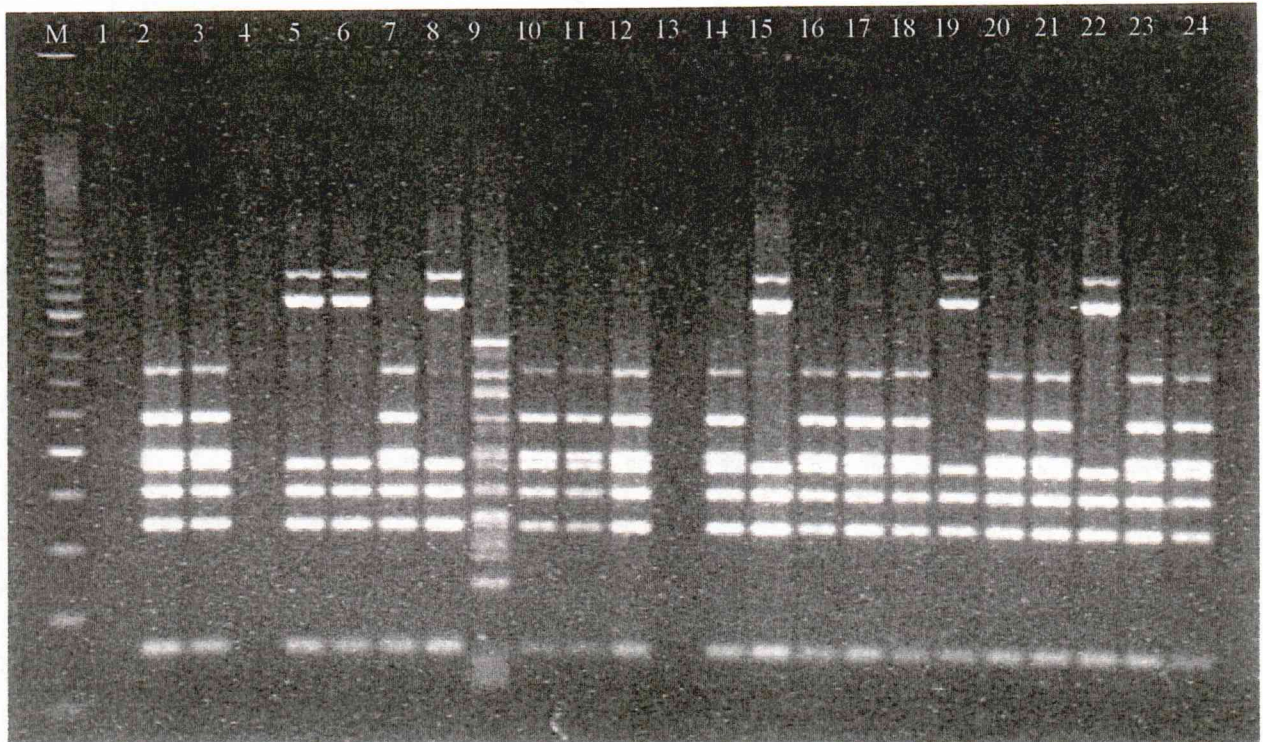


Figura 49. Perfiles RFLP-ADNr 16S después de la digestión del fragmento amplificado ADNr 16S con Rsa I. La banda M es el marcador molecular de 100 pb de tamaño; la banda 1 es el testigo negativo; las bandas 2-4, 7, 10-14, 16-18, 20-21 y 23-24 corresponden a *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*; las bandas 5-6, 8, 15, 19 y 22 corresponden a *X. axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans*; la banda 9 es un aislamiento de xanthomonada no patógena.

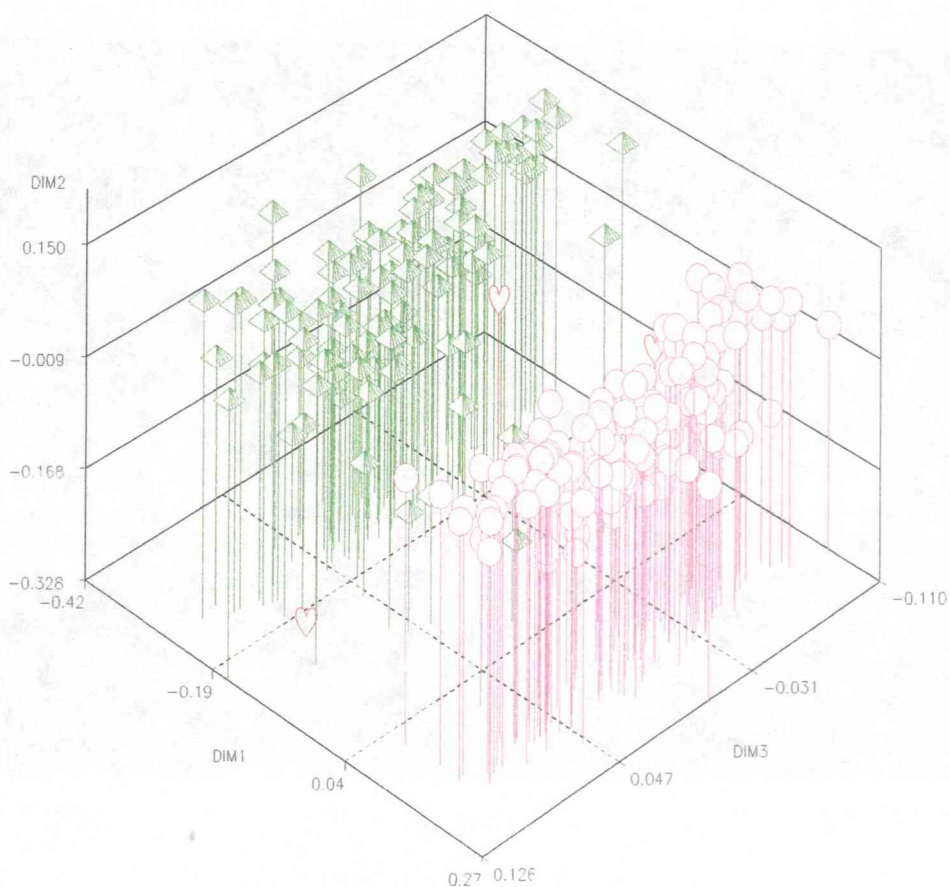


Figura 50. Gráfica tridimensional basado en el análisis de correspondencia múltiple de perfiles combinados Rep-RCP y RFLP de ADNr 26S y diagramado utilizando la plataforma de rotación del programa JMP en SAS. Las barras verdes representan *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, en tanto que las barras púrpuras representan *X. axonopodis* pv. *phaseoli* var. *fuscans*. Los símbolos rojos en forma de corazón representan algunos aislamientos Xap que no se agruparon con el resto de los aislamientos Xap.

## Genetic variability within *Phaeoisariopsis griseola* from Central America and its implications for resistance breeding of common bean

G. S. Mahuku\*<sup>t</sup>, C. Jara, J. B. Cuasquer and G. Castellanos

**Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Apartado Aereo 6713, Cali, Colombia**

The genetic and virulence variability of 112 isolates of *Phaeoisariopsis griseola*, collected from various locations in Central America, were studied using seven random amplified polymorphic DNA (RAPD) primers and 12 common-bean differential genotypes. Broad molecular diversity ( $H = 0.92$ ) among isolates was found using RAPD markers. Fifty pathotypes were identified on 12 differential bean genotypes, 29 of which were represented by only one isolate. Only 18 pathotypes were found in two or more countries. Pathotype 63-63 was the most virulent and caused leaf spots on all 12 common-bean differential genotypes. Comparison of virulence phenotypes and RAPD profiles to known Andean *P. griseola* isolates confirmed that all isolates belonged to the Mesoamerican group. Pairwise comparison between individual RAPD loci showed that the majority were in gametic phase linkage disequilibrium, revealing that *P. griseola* maintains a genetic structure that is consistent with asexual reproduction. The molecular and virulence diversities of *P. griseola* isolates from Central America imply that using single resistance genes to manage angular leaf spot is inadequate and stacking resistance genes may be necessary to manage the disease effectively.

**Keywords:** bean angular leaf spot, genetic variation, *Phaeoisariopsis griseola*, *Phaseolus vulgaris*, virulence diversity

### Introduction

Angular leaf spot (ALS), caused by the fungus *Phaeoisariopsis griseola*, is one of the most widely distributed and damaging diseases of common bean (*Phaseolus vulgaris*) in tropical and subtropical countries (Correa-Victoria, 1988; Saettler, 1991; Liebenberg & Pretorius, 1997; Wortmann *et al.*, 1998). Yield losses on susceptible varieties can be as high as 80% (Schwartz *et al.*, 1981; Guzman *et al.*, 1995). Because the use of fungicides is beyond the means of most small-scale farmers, the most practical and preferred means of ALS management has been the use of resistant varieties. However, host resistance is difficult to maintain because the abundant virulence (pathotype) diversity of *P. griseola* renders varieties that are resistant in one location or year susceptible in another (Pastor-Corrales *et al.*, 1998). Thus, the use of a wide diversity of host resistance genes and knowledge of the pathogen's genetic diversity for virulence and other markers are useful tools in developing and deploying bean varieties with durable ALS resistance.

\*To whom correspondence should be addressed.

fE-mail: g.mahuku@cgiar.org

Accepted 10 May 2002

Little is known about the extent of pathotype variability for *P. griseola* in Central America. Characterizing the *P. griseola* population from this region using both molecular and virulence markers will provide information on the amount of genetic variation that is maintained in this pathogen and the geographical distribution of the different pathotypes. Comparison of pathotype structure and molecular diversity may provide insights into the speed at which new virulent pathotypes will occur. In addition, comparative studies between diversity in virulence and neutral molecular markers may provide a rational hypothesis about the mechanism of pathogen variation and provide information on evolutionary factors generating and maintaining genetic diversity in the ALS pathogen population (Milgroom & Fry, 1997).

Previous studies have revealed high levels of pathotypic variation in *P. griseola* (Correa-Victoria, 1988; Guzman *et al.*, 1995; Maya *et al.*, 1995; Pastor-Corrales & Jara, 1995; Boshoff *et al.*, 1996; Chacón *et al.*, 1997; Pastor-Corrales *et al.*, 1998). For example, Marin-Villegas (1959) identified 13 pathotypes among 33 isolates from Colombia, while with Brazilian isolates, Paula & Pastor-Corrales (1996) identified 21 pathotypes among 27 isolates and Aparicio (1998) identified 30 pathotypes among 66 isolates. Despite the high pathotype diversity, all *P. griseola* pathotypes have frequently been

divided into Andean and Mesoamerican groups that correspond to the two common-bean gene pools (Singh *et al.*, 1991; Pastor-Corrales & Jara, 1995; Boshoff *et al.*, 1996; Chacón *et al.*, 1997; Pastor-Corrales *et al.*, 1998). The Andean group consists of *P. griseola* isolates recovered from large-seeded common-bean genotypes of Andean origin that infect Andean genotypes only; the Mesoamerican group contains isolates that are more virulent on Mesoamerican bean genotypes (CIAT, 1995; Pastor-Corrales & Jara, 1995; Pastor-Corrales *et al.*, 1998).

A practical consequence of *P. griseola*/common-bean coevolution is that pyramiding of resistance genes from Andean and Mesoamerican gene pools might lead to effective and durable disease management. Such a strategy requires a thorough understanding of the population structure of the pathogen in the region in question. However, there is limited information on the population structure of *P. griseola* from Central America, one of the centres of common-bean domestication. In addition, characterizing the virulence of *P. griseola* populations to bean genotypes will provide important information that can be used to identify broadly effective resistance genes, develop effective resistance in varieties destined for production in this region, and deploy resistant varieties in ways that prolong their durability.

The work reported here was conducted to investigate the variation in populations of *P. griseola* in Central America using differential bean genotypes and molecular markers inferred from the random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. The objectives of this study were: (i) to evaluate the virulence variability and geographical distribution of *P. griseola* pathotypes in Central America; and (ii) to assess the relationship between molecular diversity and virulence variability, in order to contribute to the development and deployment of durable resistance to *P. griseola*.

## Materials and methods

### Fungal isolation, purification and inoculum production

One hundred and twelve single-spore isolates of *P. griseola* from Central America were used in this study (Table 1). The isolates were collected from infected bean leaves from commercial or smallholder farms between 1997 and 1999. An additional 25 isolates (six from Ecuador and 19 from Colombia) were included to elucidate the relationship between *P. griseola* isolates collected from Andean bean genotypes and those from Mesoamerican genotypes. Pathogen isolation, monospore isolate production and inoculum preparation were performed as described previously (Pastor-Corrales *et al.*, 1998). Isolates were maintained on V8 juice agar medium at 4°C (short-term), or lyophilized and stored at 4°C for long-term storage.

### Determination of virulence phenotypes of *P. griseola*

To determine the virulence phenotype and pathotype of each *P. griseola* monospore isolate, a set of differential genotypes consisting of six Mesoamerican and six Andean bean lines (identified during the first ALS workshop held at CIAT, 1995) (Table 2) were sown in the glasshouse and inoculated with *P. griseola*. Five seeds of each genotype were sown per pot and thinned to three plants. There were three replicates of one pot each (a total of nine plants) for each genotype and the experiment was repeated. The first trifoliate leaf of each plant was inoculated 17 days after planting by spraying  $2 \times 10^4$  conidia mL<sup>-1</sup> with a DeVilbiss air compressor at 1/3 horsepower (hp) until plants were wet. Inoculated plants were placed in a humid chamber at approximately 22°C and >95% relative humidity with a 12 h/12 h dark/light cycle. After 4 days in the humid chamber, plants were put on tables in the glasshouse and the temperature maintained at 24–30°C.

Table 1 Virulence phenotypes of 137 *Phaeoisariopsis griseola* isolates from Central America, Ecuador and Colombia

Pathotype	Differential genotype <sup>5</sup>												Country of origin <sup>6</sup> (number of isolates)	
	Andean						Mesoamerican							
	A	B	C	D	E	F	G	H	i	J	K	L		
31-15	a	b	c	d	e		g	h	i	i				NIC(1), PRI(1), ELS(2)
31-47	a	b	c	d	e		g	h	i	i			1	CRI(6), HND(1), MEX(2), PAN(2)
31-39	a	b	c	d	e		g	h	i				1	CRI(3), HND(1), PRI(1)
63-47	a	b	c	d	e	f	g	h	i	i			1	CRI(3), HND(2), ELS(1)
63-63	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k		1	HND(1), NIC(1)
31-43	a	b	c	d	e		g	h	i				1	CRI(2), NIC(2), PAN(1), ELS(1)
23-43	a	b	c		e		g	h		i			1	CRI(1)
31-11	a	b	c	d	e		g	h		i				HND(1), ELS(1)
15-11	a	b	c	d			g	h		1				HND(1)
63-11	a	b	c	d	e	f	g	h		j				HND(1)
63-43	a	b	c	d	e	f	g	h		i			1	HND(2)
15-47	a	b	c	d			g	h	i	j			1	CRI(3), ELS(1)
15-43	a	b	c	d			g	h		j			1	HND(2)
7-43	a	b	c				g	h		i			1	CRI(1), HND(1), NIC(1)

Table 1 *continued*

Pathotype	Differential genotype*												Country of origin <sup>0</sup> (number of Isolates)	
	Andean						Mesoamerican							
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L		
7-47	a	b	c				g	h	i	i		l	CRI(1)	
15-55	a	b	c	d			g	h	i		k	l	MEX(1)	
15-63	a	b	c	d			g	h	i	j	k	l	HND(1)	
15-59	a	b	c	d			g	h		i	k	l	HND(1), MEX(2)	
31-59	a	b	c	d	e		g	h		i	k	l	MEX(1)	
63-31	a	b	c	d	e	f	g	h	i	i	k		HND(1), NIC(1), ELS(2)	
63-27	a	b	c	d	e	f	g	h		i	k		CRI(1), HND(1), ELS(2)	
31-27	a	b	c	d	e		g	h		j	k		HND(2), ELS(2)	
31-19	a	b	c	d	e		g	h			k		CRI(2), ELS(1)	
29-27	a		c	d	e		g	h		i	k		CRI(1)	
31-63	a	b	c	d	e		g	h	i	i	k	l	CRI(2), MEX(1), HND(1)	
31-55	a	b	c	d	e		g	h	i		k	l	MEX(1)	
23-63	a	b	c		e		g	h	i	i	k	l	GTM(1)	
31-31	a	b	c	d	e		g	h	i	j	k		CRI(1), MEX(3), ELS(2), NIC(1)	
15-31	a	b	c	d			g	h	i	j	k		MEX(1), ELS(1)	
31-51	a	b	c	d	e		g	h			k	l	NIC(1)	
63-51	a	b	c	d	e	f	g	h			k	l	HND(1), NIC(1)	
63-59	a	b	c	d	e	f	g	h		i	k	l	HND(1)	
63-19	a	b	c	d	e	f	g	h			k		NIC(1)	
63-3	a	b	c	d	e	f	g	h					CRI(1)	
31-7	a	b	c	d	e		g	h		i			PRI(2)	
63-7	a	b	c	d	e	f	g	h		i			PRI(1)	
15-7	a	b	c	d			g	h		i			PRI(2)	
5-43	a		c				g	h		j		l	CRI(1)	
5-35	a		c				g	h				l	CRI(1)	
1-19	a						g	h			k		CRI(1)	
1-11	a						g	h		i			CRI(1)	
1-3	a						g	h					CRI(1)	
7-55	a	b	c				g	h		i		k	l	GTM(1)
7-39	a	b	c				g	h		i		l	CRI(1)	
7-19	a	b	c				g	h			k		ELS(1)	
7-17	a	b	c				g	h			k		CRI(1)	
5-23	a		c				g	h		i	k		CRI(1)	
7-31	a	b	c				g	h		i	k		MEX(1)	
17-17	a				e		g	h			k		CRI(1)	
17-63	a				e		g	h		i	j	k	l	MEX(1)
12-0			c	d									COL(2)	
13-0	a		c	d									ECU(1)	
14-0		b	c	d									COL(3), ECU(1)	
15-0	a	b	c	d									COL(1)	
28-0			c	d	e								COL(1)	
29-0	a		c	d	e								COL(1), ECU(1)	
30-0		b	c	d	e								COL(2), ECU(1)	
31-0	a	b	c	d	e								COL(1), ECU(2)	
46-0		b	c	d		f							COL(1)	
47-0	a	b	c	d		f							COL(1)	
61-0	a		c	d	e	f							COL(1)	
62-0		b	c	d	e	f							COL(1)	
63-0	a	b	c	d	e	f							COL(4)	

\*Andean differential genotypes: A, Don Timoteo; B, G 11796; C, Bolon Bayo; D, Montcalm; E, Amendolm; F, G5686. Mesoamerican differential genotypes: G, PAN 72; H, G2858; I, Flor de Mayo; J, Mexico 54; K, BAT 332; L, Cornell 49-242.

<sup>0</sup>Country of isolate origin: CRI, Costa Rica; PAN, Panama; GTM, Guatemala; NIC, Nicaragua; PRI, Puerto Rico; ELS, El Salvador; HND, Honduras; MEX, Mexico; COL, Colombia; ECU, Ecuador. The number in parenthesis is the total number of isolates from that country in the designated pathotype.

<sup>1</sup>Lower case letters a to i indicate susceptibility of the respective common-bean differential genotype to the specific pathotype of *P. griseola*.

**Table 2** Characteristics of the common-bean differential genotypes used to characterize *Phaeoisariopsis griseola* pathotypes and the binary value used to assign isolates to pathotypes

Differential genotype	Seed size <sup>a</sup>	Bean gene pool	Bean race <sup>b</sup>	Phaseolin type	Binary value assigned to each genotype <sup>c</sup>
A: Don Timoteo	G	Andean	C	H	1
B:G 11796	G	Andean	P	T	2
C: Bolón Bayo	G	Andean	P	H	4
D: Montcalm	G	Andean	NG	B	8
E: Amendoin	G	Andean	NG	T	16
F: G 5686	G	Andean	NG	H	32
G: PAN 72	P	Mesoamerican	M	B	1
H:G 2858	M	Mesoamerican	D	B	2
I: Flor de Mayo	P	Mesoamerican	J	B	4
J: Mexico 54	M	Mesoamerican	J	B	8
K: BAT 332	P	Mesoamerican	M	B	16
L: Cornell 49242	P	Mesoamerican	M	S	32

<sup>a</sup>Seed size: G, large; M, medium; P, small.

<sup>b</sup>Andean common bean races: C, Chile; P, Perú; NG, Nueva Granada. Mesoamerican races: M, Mesoamerica; D, Durango; J, Jalisco.

<sup>c</sup>Binary value used to designate pathotypes of *P. griseola*. For example, if an isolate infects Andean cultivars B and C (binary values 2 and 4) and the Mesoamerican variety K (binary value 16), the race of the isolate is 6-16; the phenotype of this race is bck.

Disease evaluations were conducted 10, 12, 14 and 17 days after inoculation, using a 1-9 visual scale (van Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987) as follows: 1, no symptoms; 3, lesions on 5-10% of the leaf area of the plants; 5, lesions and sporulation on 20% of the leaf area; 7, lesions and sporulation, associated with chlorosis and necrosis, on up to 60% of the leaf area; and 9, lesions, frequently associated with early loss of leaves and plant death, on 90% of leaf area. The disease reaction scores recorded 17 days after infection were used to determine isolate x cultivar compatibility or incompatibility. To designate pathotypes, rating scores of 1-3 were considered incompatible or resistant, while ratings > 3 were considered compatible or susceptible. Pathotype designation was performed by summing the binary values of the differential varieties that were compatible with the respective *P. griseola* isolate (Table 2). For example, for pathotype 31-63 (virulence phenotype abcde-ghijkl), the first value was obtained by summing the binary values of the susceptible Andean differential varieties abcde (1 + 2 + 4 + 8 + 16 = 31) and the second value was obtained by summing the binary values of the susceptible Mesoamerican varieties ghijkl (1 + 2 + 4 + 8 + 16 + 32 = 63) (Pastor-Corrales *et al.*, 1998).

In addition, the area under disease progress curve (AUDPC) was calculated for each inoculated plant from the disease reaction scores at 10, 12, 14 and 17 days after inoculation for each cultivar-isolate combination as:

$$\text{AUDPC} = \frac{1}{2} [(D_1 + D_2) \times (t_2 - t_1)]$$

where D is the disease score using the 1-9 severity scale and *t* corresponds to days after inoculation, with *i* = 10, 12, 14 or 17 days (Shaner & Finney, 1977). AUDPC was used to measure the rate of disease progression, compare aggressiveness of isolates to the various bean genotypes,

and ascertain the relative resistance of each plant genotype to the different isolates. Aggressiveness refers to the severity of disease induced by an isolate for a particular host-pathogen interaction (Andrison, 1993).

#### DNA extraction

To produce *P. griseola* mycelium, Erlenmeyer flasks (200 mL) containing 60 mL of liquid V8 juice medium were inoculated with 10 disks of 1 cm diameter collected from the edges of actively growing cultures. The cultures were placed on a rotary shaker (115 r.p.m.) and incubated at room temperature (-21 °C) for 12 days. Mycelia were harvested by filtration through cheesecloth and freeze-dried. Mycelia (0-25 mg) were ground to a fine powder in liquid nitrogen using a mortar and pestle. Ground mycelium was transferred to a 2-mL microcentrifuge tube and DNA extracted using the SDS method as described by Möller *et al.* (1992). Following washing with 70% ethanol and drying, the pellet was resuspended in 1 x TE buffer containing 10 mg mL<sup>-1</sup> RNase A. Tubes were incubated at 37°C for an hour, the DNA re-precipitated with 1/10 volume 3 M NaAc (pH 5-2) and two volumes of 95% ethanol. The pellet was dried and finally resuspended in 0-1 x TE buffer. Electrophoresis through 0-7% agarose gels was used to determine the quality of the extracted DNA. The DNA concentration was measured using a fluorometer (Hoefer® DyNA Quant 2000, Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, USA) using Lambda DNA as a standard and adjusted to 5 ng /rL<sup>-1</sup> in 0-1 x TE buffer.

#### RAPD analysis

Seven RAPD primers (OPA2, OPA11, OPA18, OPB15, OPC5, OPF1 and OPH8) (Operon Technologies, Inc.,

Alameda, CA, USA) that produced polymorphisms and yielded reproducible and easily scorable banding patterns with separate DNA extractions and amplifications, were used to amplify DNA from all *P. griseola* isolates. DNA amplification was performed in a MJ Research Thermal Cycler (MJ Research, Watertown, MA, USA) with one cycle at 94°C for 5 min, followed by 35 cycles at 94°C for 1 min, 36°C for 1 min and 72°C for 2 min, and a final cycle at 72°C for 10 min. Reactions were carried out in 25- $\mu$ l volumes containing 1 x DNA polymerase buffer (50 mM Tris-HCl [pH 8-5], 2-0 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM KCl, 0-1% Triton X-100), 0-2 mM each dNTP, 0-4 *jiu* primer, 1 U AmpliTaq DNA polymerase (PE Biosystems, Foster City, CA, USA) and 20 ng of genomic DNA. DNA amplification products were separated in T2% agarose gels at a constant 60 V in 1 x TBE buffer for 5-6 h at room temperature. Fragments were visualized under 300-nm UV light after staining with ethidium bromide, and photographed.

Gel images were captured using the Eagle Eye gel documentation system (Stratagene, La Jolla, CA, USA) and band position was determined using the Quantity One scientific Software, Version 4 (Bio-RAD, Hercules, CA, USA). RAPD fragments of the same size were scored as identical and bands included in the final analysis ranged in size from 0-2 to 2 kb.

#### Statistical analysis

The disease reaction scores after 17 days were analysed with the Kruskal-Wallis nonparametric variance analysis PROC NPAR1WAY (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) (SAS, 1989) and used to determine compatible and incompatible isolate-cultivar interaction. AUDPCs were calculated for each plant before being averaged over all replicates within a cultivar x isolate pair. The resulting AUDPCs were log-transformed and subjected to analysis of variance (ANOVA) with isolates and cultivars as fixed factors. Duncan's multiple range test was used to compare mean values of the variable log(AUDPC) ( $P < 0-05$ ) for each factor: isolates and cultivars and the interaction isolate x cultivar. The epidemic growth rate ( $r$ ) for each isolate was obtained by linear regression of transformed AUDPC values against time. Duncan's multiple range test was used to compare the regression coefficients and determine the aggressiveness of each isolate.

#### Multiple correspondence and cluster analysis

Virulence and RAPD data were analysed separately. A data matrix was generated from the virulence phenotypes by considering incompatible interactions (rating 3) as the absence of a virulence marker (0) and compatible interactions (rating > 3) as the presence of a marker (1) and each differential as a different marker. Similarly, RAPD markers were scored as either present (1) or absent (0); only strong and reproducible bands were scored, while faint bands were discarded. Genetic

distances between isolates were calculated using Dice's coefficient. The resulting distance matrix was used for multiple correspondence analysis (MCA) using SAS statistics, which determined the positions of isolates on a three-dimensional graph that was drawn by the 'spin' platform of JMP software (SAS, 1995) to provide a visual representation of the associations. The number of clusters based on a consensus among three clustering statistics (local peaks for the cubic clustering criterion and pseudo-F statistics combined with a small value of the pseudo-t<sup>2</sup> statistics and a larger  $t'$  for the next cluster fusion) were assigned by the average linkage method (SAS). The relative genetic distances between clusters were determined. The cluster consistency index (CCI), which represents percentage matches for each cluster, was obtained with 1000 resampling cycles. A phenogram generated by the unweighted pair grouping by mathematical averaging (UPGMA) (NTSYS-pc version T8) using composite data was used to represent the relationship among isolates. Statistical support for phenogram branching in qualitative analyses was obtained using 1000 bootstrapped analysis in WINBOOT (Nelson *et al.*, 1994; Yap & Nelson, 1996). Isolates that were placed in the same cluster in more than 90% of the 1000 resampling and cluster analysis iterations were considered to represent a distinct genetic lineage. Correlation between virulence and RAPD lineages was determined using Spearman's rank correlation coefficients (Snedecor & Cochran, 1967).

#### Analysis of genotype diversity

Genetic diversity ( $H$ ), or the average probability that two randomly chosen alleles at a locus are different (Nei, 1973), was calculated for the entire population, as well as for the different groups identified using MCA, employing the following formula:

$$H = 1 - \sum_{i=1}^t \frac{x_i^2}{n}$$

where  $x_k$  is the frequency of the  $k$ th allele in the population. A genetic diversity of 1 indicates a very high genetic diversity, where any two alleles at a locus sampled from a population are different, while a genetically uniform population will have a diversity of 0, since any two individuals will be identical.

To estimate gametic phase linkage disequilibrium within *P. griseola* populations, RAPD bands were considered as putative loci with absence or presence of a band as alleles. Linkage disequilibrium was calculated using the GENEPOP version 3T computer program (Raymond & Rousset, 1995). The probability test (Fisher's exact test) for each contingency table was performed using the Markov chain method (Raymond & Rousset, 1995). The parameter settings for the Markov chain analysis were 1000 dememorizations, 50 batches and 1000 iterations per batch. An association between loci was considered significantly different from zero if the exact test gave a probability less than 0-05.

**Table 3** Number of isolates and pathotypes identified among *Phaeoisariopsis griseola* isolates from each country

Country	Number of isolates	Number of pathotypes	Unique pathotypes*
Costa Rica	37	23	13
Guatemala	2	2	2
Honduras	22	17	6
Mexico	14	10	5
Nicaragua	10	9	2
Panama	3	2	0
Puerto Rico	7	5	3
El Salvador	17	12	1
Total	112		32

\*Unique pathotypes were only recovered in the country of origin.

## Results

### Distribution of *P. griseola* pathotypes in Central America

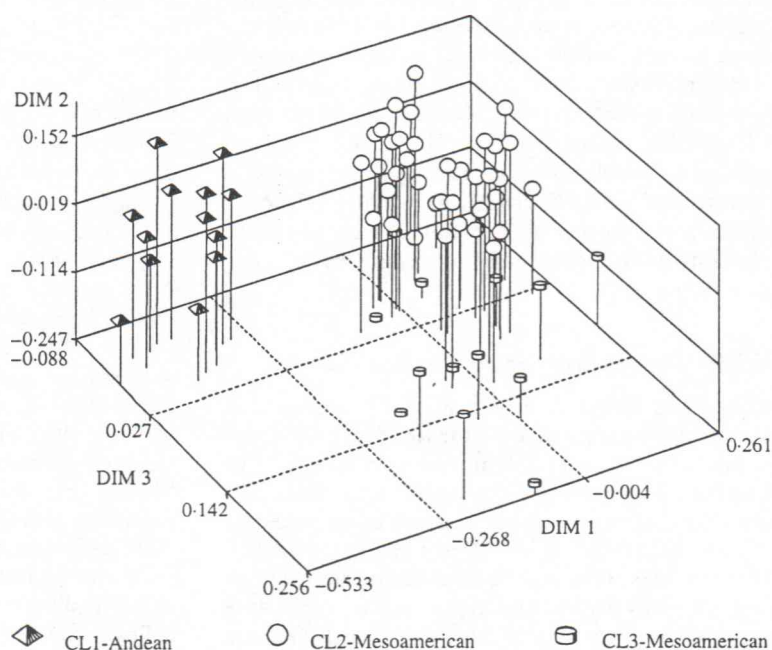
Interactions between *P. griseola* isolates and 12 differential bean genotypes were highly significant (Kruskal-Wallis test:  $P < 0.0001$ ). Fifty pathotypes were defined among 112 isolates from Central America, while 14 pathotypes were identified among 25 Andean isolates from Ecuador and Colombia (Table 1). None of the pathotypes constituted more than 10% of the sample and most were represented by only one isolate (Table 1). For Central America, 32 (64%) of the pathotypes described were unique to a country, while 18 (38%) were found in two or more countries (Table 3). No pathotype was found in all countries.

Cluster and multiple correspondence analysis separated isolates into three virulence groups (Fig. 1). Group 1

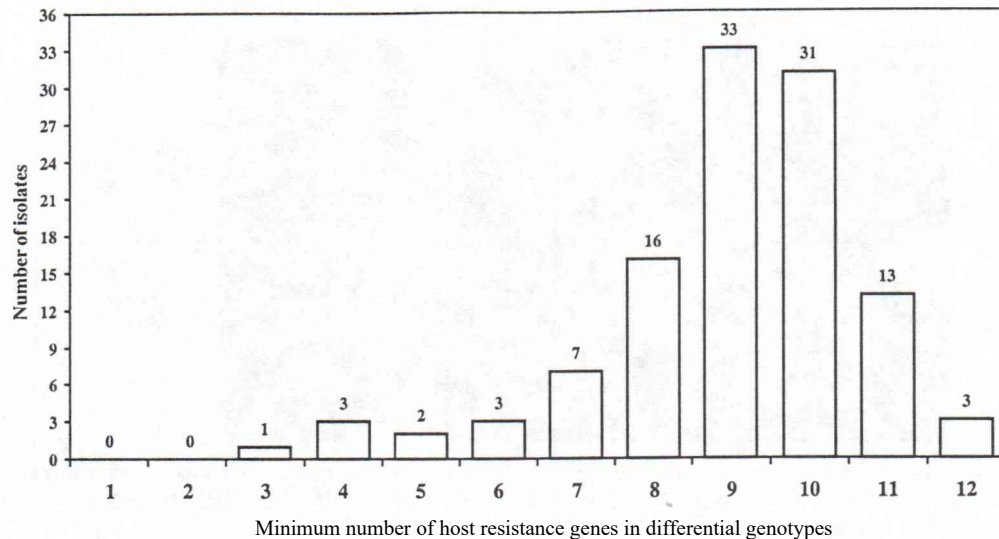
consisted of isolates collected from Andean genotypes in Colombia and Ecuador, which infected only bean differential genotypes of Andean origin. Isolates from Central America were distributed into groups 2 and 3 and these isolates infected some differential genotypes from both the Andean and Mesoamerican gene pools. None of the isolates in group 2 infected either the Andean differential genotype G5686 or the Mesoamerican differential genotype Flor de Mayo. Based on virulence, group 1 (Andean) isolates showed only 42% similarity to Mesoamerican isolates. Within each group, there was no apparent structuring of isolates according to country of origin (Table 1). For example, pathotype 31-39 was recovered from Puerto Rico, Honduras and Costa Rica. Interestingly, two isolates belonging to pathotype 63-63 were recovered from two countries, Honduras and Nicaragua (Table 1). These isolates had overcome the resistance found in all the differential genotypes. Linear regression of transformed AUDPC values against time for each cultivar x isolate interaction to determine epidemic growth rate ( $r$ ) showed values in the range  $r = 0.50-0.99$ . Under the experimental conditions described here, isolates from Nicaragua and Honduras were the most aggressive, with pathotype 63-63 having an  $r$ -value of 0.99.

### Virulence diversity and distribution

With respect to virulence, the reaction of the different isolates varied greatly. Isolates collected from the Mesoamerican region (Middle America and the Caribbean) were the most virulent, infecting both Andean and Mesoamerican differential bean genotypes (Table 1). Isolates collected from the Andean region (Colombia and Ecuador) were the least virulent, inducing susceptible reactions only on



**Figure 1** Three-dimensional graph based on multiple correspondence analysis of pathogenicity data from the interaction of *Phaeoisariopsis griseola* isolates on 12 differential bean genotypes and plotted using the spin platform of the JMP program in SAS. Symbols indicate positions of strains within each cluster.



**Figure 2** Abundance distribution of virulence genes (avr-) in the overall Central American population of *Phaeoariopsis griseola*, as determined by compatibility with differential lines.

Andean differential bean genotypes (Table 1). All Mesoamerican *P. griseola* isolates infected PAN 72 (Mesoamerican) and Don Timoteo (Andean), whereas only 25 of the isolates were able to overcome the resistance found in the Andean variety G5686 (Table 1).

No differential variety contained resistance gene(s) effective against all the isolates in this study. Assuming that each differential variety contains a single major gene for resistance, the genetic composition of the *P. griseola* population from Central America is very complex (Fig. 2). The minimum number of virulence genes per pathotype (i.e. the number of host genes the pathotype overcame) varied from 3 to 12. Most isolates (92%) contained complex virulence gene patterns (more than seven virulence genes) and no simple isolates (with zero, one or two virulence genes) were found. Among the common pathotypes, there was no correlation between the number of virulence genes in a pathotype and the frequency of detection. The distribution of the minimum number of virulence genes among all isolates was significantly skewed to the right, with more isolates containing a complex number of virulence genes (Fig. 2).

#### RAPD analysis

To test the extent of genetic variation in the genome of *P. griseola*, RAPD profiles were generated for the 137 isolates using the selected seven RAPD primers. Examples of the comparative banding profiles of DNA of some isolates using primer H8 are shown in Fig. 3. A total of 54 polymorphic RAPD fragments were detected among *P. griseola* isolates using the seven primers. Cluster and multiple correspondence analyses defined 113 haplotypes among the 137 isolates analysed, distributed into four groups (Fig. 4). Group 1 contained all isolates collected from

Andean genotypes from Colombia and Ecuador and the average similarity within this group was 92%. All the Mesoamerican isolates were distributed in groups 2, 3 and 4, with within-group similarities of 84, 65 and 68%, respectively. The Andean isolates (group 1) showed 38% similarity to Mesoamerican isolates (groups 2, 3 and 4), revealing significant differentiation of these two groups according to the two gene pools defined for common bean. A three-dimensional plot of RAPD data (Fig. 4) clearly showed this separation, as well as showing that Mesoamerican isolates were more diverse (average similarity coefficient = 0.64) than Andean isolates (average similarity coefficient = 0.92). Spearman's rank correlation analysis showed a significant correlation ( $r = 0.60$ ) between *P. griseola* groups (Andean and Mesoamerican) and RAPD markers. However, within each group, there was no correlation ( $r = 0.021$ ) between profiles generated by RAPD and virulence markers. In addition, isolates belonging to the same pathotype were observed to have completely different RAPD profiles, revealing the lack of congruency between RAPD and virulence phenotypes.

#### Genetic diversity

Genetic diversity in the *P. griseola* population under study ranged from 0.88 to 0.98 for the RAPD groups defined by MCA analysis. The genetic diversity for the entire population was estimated to be 0.989, showing that the majority (98.9%) of the genotypes present within the *P. griseola* population were unique. Analysis of genetic diversity ascribed 74% of the total diversity to differences between pathotypes in a group, compared with 26% ascribed to differences between them. Similarly, diversity calculated using virulence data ranged from 0.89 to 0.95 for each of the virulence groups defined by MCA analysis and the

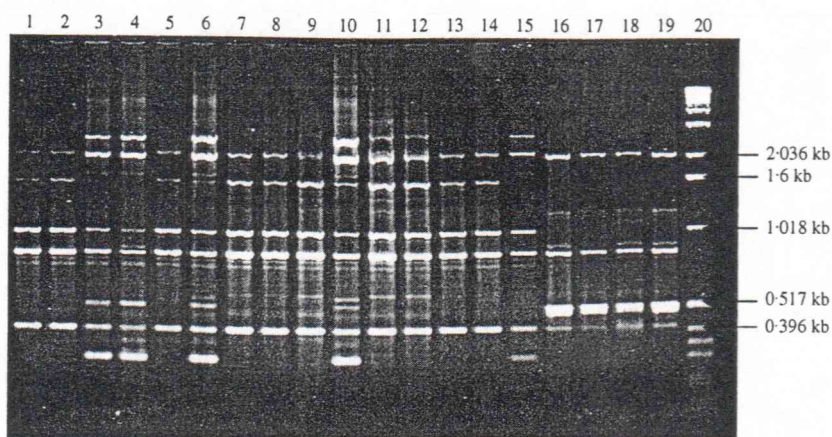


Figure 3 Examples of DNA from some isolates of *Phaeoisariopsis griseola* from Central America, amplified with the random amplified polymorphic DNA (RAPD) primer, H8. Lanes 1-19: *P. griseola* isolates (3 MEX, 4 MEX, 12MEX, 15 MEX, 16MEX, 17-1 MEX, 4 NIC, 5 NIC, 6 NIC, 4 HND, 20 HND, 22 HND, 29 HND, 10 CRI, 11 CRI, 5 ELS, 7 ELS, 9 ELS and 17 ELS, respectively); lane 20: 1-kb DNA marker.

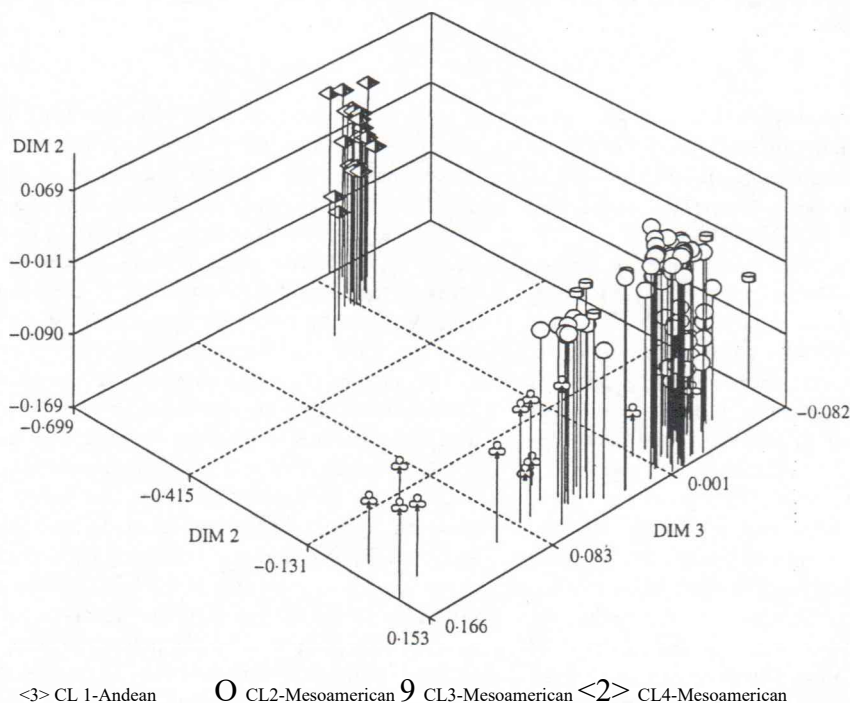


Figure 4 Three-dimensional graph based on multiple correspondence analysis of random amplified polymorphic DNA (RAPD) data for *Phaeoisariopsis griseola* and plotted using the spin platform of the JMP program in SAS. Symbols indicate positions of strains within each cluster.

average pathotype diversity was 0.92. The pathotype diversity for the entire *P. griseola* population was very high (97%). Most of the diversity (81%) resulted from differences within pathotypes in a group, compared with 19% that resulted from differences existing between pathotypes in different groups. Most of the differences between groups resulted from inherent differences between Andean and Mesoamerican isolates.

When considered as a single population, pairwise comparisons of 54 polymorphic RAPD loci gave 1155 (81%) disequilibrium values that were all significantly

different from zero (Fisher's exact test,  $P < 0.05$ ). The number of contingency tables (loci combinations) was  $54(54 - 1)/2 = 1431$ . Disequilibrium values could not be calculated for 276 pairs of loci in which one or other of the loci was not polymorphic. When considering the 113 unique genotypes as a single population, no differences were obtained in the number of linked loci. Subdividing isolates or haplotypes into Mesoamerican and Andean groups did not change the number of loci that showed significant linkage disequilibrium (data not shown).

## Discussion

In this study, pathotype and RAPD polymorphism were examined to evaluate genetic relatedness and diversity in an attempt to understand the distribution of genetic variation and the virulence structure of *P. griseola* from Central America. Twenty-five isolates collected from bean genotypes belonging to the Andean gene pools and known to belong to the Andean group were included to elucidate the relationship between Andean and Mesoamerican isolates. The results obtained show that isolates from Central America belong to the Mesoamerican group of *P. griseola* and exhibit a wider range of genetic diversity than isolates collected from Andean bean genotypes. MCA of RAPD data grouped 112 Mesoamerican isolates into three putative genetic lineages and Andean isolates into a single group, confirming previous observations that the Mesoamerican group contains a diverse and complex population of *P. griseola* isolates (Maya *et al.*, 1995; Pastor-Corrales 8c Jara, 1995; Chacón *et al.*, 1997).

Of the 50 pathotypes described among 112 isolates from the Mesoamerican region, not one was common to all the countries under study, despite all countries cultivating beans of Mesoamerican origin. Only 18 pathotypes were recovered from more than one country. Most of the isolates exhibited different virulence patterns, even for isolates originating from the same location, highlighting the existence of a great diversity of pathotypes. An interesting result was the characterization of pathotype 63-63, which overcame resistance in all the differential genotypes. Apart from Honduras and Nicaragua, this pathotype has also been reported in Brazil (Sartorato, 2000). As a gene-for-gene relationship has been demonstrated for the *P. griseola*-common bean pathosystem (Sartorato *et al.*, 1991) the observed virulence diversity reflects significant allelic diversity in virulence genes.

Both virulence and molecular analysis revealed high levels of genetic variation between Central American *P. griseola* isolates. The level of genotype diversity was 99% using RAPD analysis and 97% using virulence markers, showing that the majority of the isolates were unique genotypes. The origin of this wide molecular and virulence diversity is not clear, especially for a pathogen like *P. griseola*, with no known sexual cycle (Liebenberg & Pretorius, 1997). It is known that the basic mechanisms that generate variation in pathogen populations are mutation, recombination (whether sexual or asexual) and migration. This variation is shaped by the forces of selection and genetic drift (Leung *et al.*, 1993; McDonald & McDermott, 1993; Peever & Milgroom, 1994; Zeigler *et al.*, 1995). Major selective forces may be imposed by the degree of specialization in host-pathogen interactions, control measures or more general environmental constraints. These factors act to generate differences in the distribution of phenotypic and genotypic variation among plant pathogen populations that can lead to high genetic variation. It is possible that any one of these factors alone or in combination may be interacting to give rise to new

pathotypes, leading to high levels of genetic diversity, as observed in the Central American *P. griseola* population.

Statistical analysis of loci associations found significant gamete phase disequilibrium at all possible pairwise combinations among the 54 RAPD loci in the 137 isolates, showing that *P. griseola* maintains a genetic structure that is consistent with asexual reproduction (McDonald *et al.*, 1995). Gametic phase disequilibrium can arise from founder effects, selection pressures, chromosomal linkage or nonrandom mating, including asexual reproduction (McDonald *et al.*, 1994). The known biology of *P. griseola* indicates that asexual reproduction is a major mode of reproduction for this fungus (Liebenberg & Pretorius, 1997), correlating well with the observed linkage disequilibrium. Because two distinct lineages have been documented for *P. griseola* (Maya *et al.*, 1995; Pastor-Corrales 8c Jara, 1995; Guzman *et al.*, 1999), recombination might be common within a group, although rare between populations, because of geographical, ecological or biological barriers to gene exchange. Linkage disequilibrium values calculated for each group were significantly different from zero, revealing that *P. griseola* is clonal at all levels. However, the relatively small number of isolates used for the Andean population (25) limits the strength of this conclusion. Nevertheless, these results support the observation that sexual reproduction is absent in *P. griseola*.

Complex virulence patterns were observed among the Central American population of *P. griseola*. These isolates infected both Andean and Mesoamerican bean genotypes and no simple isolates (i.e. isolates with zero, one or two virulence gene combinations) were recovered during this study. Given that the coevolution of *P. griseola* with its common bean host has been shown previously (Maya *et al.*, 1995; Pastor-Corrales 8c Jara, 1995; Guzman *et al.*, 1999), the results obtained here may suggest the presence of both Middle American and Andean virulence factors within Mesoamerican pathotypes. This hypothesis is supported by the work of Beebe *et al.* (2000), who described a group of bean accessions, considered to be land races from Mexico, that possessed several RAPD bands typical of the Andean beans, and concluded that these were products of introgression from Andean beans. Similar results have been reported for the bean rust pathogen, *Uromyces appendiculatus* (Sandlin *et al.*, 1999) and the bean anthracnose pathogen, *Colletotrichum lindemuthianum* (Kelly, 1995; Balardin & Kelly, 1998), where pathotypes with virulence factors to both host gene pools were described. Because of extensive common-bean breeding activities, some varieties have some level of introgression in them and the pathogen has evolved to colonize and adapt to such varieties.

No correlation was observed between pathogenicity patterns on bean differential genotypes and RAPD data. *Pbaeoisariopsis griseola* isolates belonging to the same pathotype (i.e. with similar virulence phenotypes) were observed to have very different molecular profiles. These results are consistent with other findings that isolates of the same pathotype are not necessarily closely related (Jacobson & Gordon, 1990; Woo *et al.*, 1996; Sicard

*et al.*, 1997; Balardin *et al.*, 1999). The results of the present study show that virulence must have arisen independently in different geographical areas at different times and independent of the genetic background.

The vast virulence diversity of the ALS pathogen in Central America means that using a single location to test the resistance of a developed variety or source of ALS resistance is not sufficient, since different pathotypes were described in different locations and countries. Pyramiding resistance genes into appropriate backgrounds is a strategy with potential for maintaining long-term durable disease resistance (Nelson, 1978; Leung *et al.*, 1993; Kelly, 1995; Young 6C Kelly, 1996). For example, the bean anthracnose differential genotype G2333 contains three resistance genes (Co-4<sup>2</sup>, Co-5 and Co-7) and, so far, only one pathotype from Costa Rica (CIAT, 1995) has been found to infect this genotype, demonstrating the effectiveness of pyramiding resistance genes (Pastor-Corrales *et al.*, 1994; Young *et al.*, 1998).

The information gained in this study has significant implications for regional ALS resistance breeding and resistance gene deployment. The pathogen structure of *P. griseola* appears consistent with asexual reproduction, and resistance-gene pyramiding into well-adapted bean varieties constitutes an appropriate deployment strategy that is most likely to give durable resistance. In addition, the information on pathogen population structure and distribution of pathotypes obtained for Central America will help in identifying sources of resistance and targeting or deploying resistance genes.

#### Acknowledgements

We are grateful to Maria Antonia Henriquez, Jorge Fory, Maria del Carmen Hernadez and Patricia Zamorano for technical assistance and help with this manuscript. The assistance in isolate collection of scientists from the Central American National Research Organization is greatly appreciated.

#### References

- Andrivo D, 1993. Nomenclature for pathogenicity and virulence: the need for precision. *Phytopathology* 83, 889-90.
- Aparicio BHE, 1998. *Characterization de la Diversidad Molecular y la Virulencia de Aislamientos del Hongo Phaeoisariopsis griseola de Brasil Y Bolivia*. PhD thesis. Cali, Colombia: Universidad de Valle.
- Balardin RS, Kelly JD, 1998. Interaction between *Colletotrichum lindemuthianum* pathotypes and gene pool diversity in *Phaseolus vulgaris*. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 126, 1038-47.
- Balardin RS, Smith JJ, Kelly JD, 1999. Ribosomal DNA polymorphism in *Colletotrichum lindemuthianum*. *Mycological Research* 103, 841-8.
- Beebe S, Skroch PW, Tohme J, Duque MC, Pedraza F, Nienhuis J, 2000. Structure of genetic diversity among common bean landpathotypes of Middle American origin based on correspondence analysis of RAPD. *Crop Science* 40, 264-73.
- Boshoff WHP, Swart WJ, Pretorius ZA, Liebenberg MM, Crous PW, 1996. Isozyme variability among isolates of *Phaeoisariopsis griseola* in southern Africa. *Plant Pathology* 45, 344-9.
- Chacón MI, Jara C, Castellanos G, Posso CE, Buruchara R, Cuasquer JB, Pastor-Corrales MA, 1997. Genetic diversity and relation between common bean-angular leaf spot fungus isolates from Africa and South America: genetic improvement implications. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 40, 127-8.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical), 1995. *Annual Report, Bean Program 1995*. Cali, Colombia: CIAT.
- Correa-Victoria FJ, 1988. *Pathogenic Variation, Production of Toxic Metabolites, and Isoenzyme Analysis in Phaeoisariopsis griseola (Sacc) Per*. PhD thesis. Michigan, USA: Michigan State University.
- Guzman P, Gepts P, Nodari R, Temple SR, Mkwandire ABC, Gilbertson RL, 1999. Detection and differentiation of *Phaeoisariopsis griseola* isolates with the polymerase chain reaction and group specific primers. *Plant Disease* 83, 37-42.
- Guzman P, Gilbertson RL, Nodari R, Johnson WC, Temple SR, Madela D, Mkwandire ABC, Gepts P, 1995. Characterization of variability in the fungus *Phaeoisariopsis griseola* suggests coevolution with the common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Phytopathology* 85, 600-7.
- Jacobson DL, Gordon TR, 1990. Variability of mitochondrial DNA as an indicator of relationships between populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Mycological Research* 94, 734-44.
- Kelly JD, 1995. Use of random amplified polymorphic DNA markers in breeding for major gene resistance to plant pathogens. *Hortscience* 30, 461-5.
- Leung H, Nelson RJ, Leach JE, 1993. Population structure of plant pathogenic fungi and bacteria. *Advances in Plant Pathology* 10, 157-205.
- Liebenberg MM, Pretorius ZA, 1997. A review of angular leaf spot of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *African Plant Protection* 3, 81-106.
- Marin-Villegas J, 1959. *Variabilidad del Isariopsis griseola Sacc. Agente Causal de la Mancha Angular del Frijol (Phaseolus vulgaris L.)*. Tesis Ing. Agr. Manizales, Colombia: Universidad de Caldas.
- Maya M, Otoy M, Mayer J, Pastor-Corrales MA, 1995. Marcadores moleculares RAPD confirman la diversidad y evolución de *Phaeoisariopsis griseola* en América Latina. *Fitopatología Colombiana* 19, 1-6.
- McDonald BA, McDermott JM, 1993. Population genetics of plant pathogenic fungi. *Bioscience* 43, 311-9.
- McDonald BA, Miles J, Nelson LR, Pettway RE, 1994. Genetic variability in nuclear DNA in field populations of *Stagonospora nodorum*. *Phytopathology* 84, 250-5.
- McDonald BA, Pettway RE, Chen RS, Boeger JM, Martinez JP, 1995. The population genetics of *Septoria tritici* (teleomorph *Mycosphaerella graminicola*). *Canadian Journal of Botany* 73, S292-301.
- Milgroom MG, Fry WE, 1997. Contributions of population genetics to plant disease epidemiology and management. *Advances in Botanical Research* 24, 1-30.
- Móller EM, Bahnweg G, Sandermann H, Geiger HH, 1992. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues. *Nucleic Acids Researh* 20, 6115-6.

- Nei M, 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Science, USA* 70, 3321-3.
- Nelson RR, 1978. Genetics of horizontal resistance to plant diseases. *Annual Review of Phytopathology* 16, 359-78.
- Nelson RJ, Baraoidan MR, Vera Cruz CM, Yap IV, Leach JE, Mew TW, Leung H, 1994. Relationship between phyto-geny and pathotype for the bacterial blight pathogen of rice. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 3275-83.
- Pastor-Corrales MA, Erazo OA, Estrada EI, Singh SP, 1994. Inheritance of anthracnose resistance in common bean accession G 2333. *Plant Disease* 78, 959-62.
- Pastor-Corrales MA, Jara C, 1995. La evolución de *Phaeoisariopsis griseola* con el frijol común en América Latina. *Fitopatología Colombiana* 19, 15-24.
- Pastor-Corrales MA, Jara C, Singh S, 1998. Pathogenic variation in, source of, and breeding for resistance to *Phaeoisariopsis griseola* causing angular leaf spot in common bean. *Euphytica* 103, 161-71.
- Paula TJ, Pastor-Corrales MA, 1996. Estudo da diversidade genética de *Phaeoisariopsis griseola* no Brasil. In Reuniao Nacional de Pesquisa de Feijao, Goiania. *EMBRAPA* 1, 239-41.
- Peever TL, Milgroom MG, 1994. Genetic structure of *Pyrenophora teres* populations determined with random amplified polymorphic DNA markers. *Canadian Journal of Botany* 72, 915-23.
- Raymond M, Rousset F, 1995. GENEPOP (version 31): population genetics software for exact tests and ecumenism. *Journal of Heredity* 86, 248-9.
- Saettler AW, 1991. Angular leaf spot. In: Hall R, ed. *Compendium of Bean Diseases*. St Paul, MN, USA: APS Press, 15-6.
- Sandlin CM, Steadman JR, Araya CM, Coyne DP, 1999. Isolates of *Uromyces appendiculatus* with specific virulence to landpathotypes of *Phaseolus vulgaris* of Andean origin. *Plant Disease* 83, 108-13.
- Sartorato A, 2000. Pathogenic variability in *Phaeoisariopsis griseola* from Brazil. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 43, 180-1.
- Sartorato A, Rava CA, Menten JOM, 1991. Resistencia vertical do feijoeiro común (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Isariopsis griseola* Sacc. *Fitopatología Brasileira* 16, 43-6.
- SAS Institute Inc, 1989. *SAS/IML Software: Usage and Reference, Version 6*, 1st edn. Cary, NC, USA: SAS.
- SAS Institute Inc, 1995. *SAS/JMP Statistical Discovery Software, Version 31*. Cary, NC, USA: SAS.
- van Schoonhoven A, Pastor-Corrales MA, 1987. *Standard System for the Evaluation of Bean Germplasm*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Schwartz HF, Correa VF, Pineda DDA, Otoyá MM, Katherman MJ, 1981. Ascochyta, angular and white fly leaf spots in Colombia. *Plant Disease* 65, 494-6.
- Shaner G, Finney RE, 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* 67, 1051-6.
- Sicard D, Mickalakis Y, Dron M, Neema C, 1997. Genetic diversity and pathogenic variation of *Colletotrichum lindemuthianum* in the three centers of diversity of its host, *Phaseolus vulgaris*. *Phytopathology* 87, 807-13.
- Singh SP, Gepts P, Debouck DG, 1991. Pathotypes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). *Economic Botany* 45, 379-96.
- Snedecor GW, Cochran WG, 1967. *Statistical Methods*, 6th edn. Ames, IA, USA: Iowa State University Press.
- Woo SL, Zoina A, Del Sorbo G, Lorito M, Nanni B, Scala F, Novielio C, 1996. Characterization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* by pathogenic pathotypes, VCGs, RFLPs and RAPD. *Phytopathology* 86, 966-73.
- Wortmann CS, Kirkby RA, Eledu CA, Allen DJ, 1998. *Atlas of Common Bean (Phaseolus vulgaris L.) Production in Africa*. Cali, Colombia: CIAT.
- Yap I, Nelson RJ, 1996. *WinBoot: a Program for Performing Bootstrap Analysis of Binary Data to Determine the Confidence Limits of UPGMA-based Dendrograms*. IRRI Discussion Paper Series no. 14. Manila, Philippines: International Rice Research Institute.
- Young RA, Kelly JD, 1996. Characterization of the genetic resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean differential varieties. *Plant Disease* 80, 650-4.
- Young RA, Melotto M, Nodari RO, Kelly JD, 1998. Marker-assisted dissection of the oligogenic anthracnose resistance in the common bean variety, 'G 2333'. *Theoretical and Applied Genetics* 96, 87-94.
- Zeigler RS, Cuoc LX, Scott RP, Bernardo MA, Chen DH, Valent B, Nelson RJ, 1995. The relationship between lineage and virulence in *Pyricularia grisea* in the Philippines. *Phytopathology* 85, 443-51.

## **APOYO A PROFRIJOL POR PARTE DEL CIAT**

**Apoyo brindado a los programas de mejoramiento de los SNIA, las redes regionales y las asociaciones de agricultores, mediante el suministro de germoplasma y de conocimientos técnicos**

### **Aspectos destacados:**

- El programa nacional costarricense ha recibido una cantidad considerable de poblaciones F<sub>4</sub>, incluyendo la raza local Sacapobres combinada con otras fuentes de caracteres deseables.
- Los diversos socios colaboradores, incluyendo los SNIA y el Programa de Laderas del CIAT, están dirigiendo más atención hacia el trabajo sobre sequía en la región centroamericana.
- Se está consolidando la colaboración con una ONG en Haití, donde se está evaluando un mayor número de materiales.
- El apoyo a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria en el proceso de selección del frijol ‘Cargamanto’ con resistencia a BCMV es una tarea en curso que ha ayudado a reorientar la estrategia de mejoramiento. El apoyo brindado al Programa Salvadoreño de Frijol, mediante el suministro de recursos y de materiales genéticos mejorados con resistencia a BCMV y BGYMV, ha hecho posible la caracterización y liberación de nuevos genotipos de frijol de grano rojo en esa región.
- Se distribuyeron varios viveros y germoplasma a los socios colaboradores de la red de frijol.

### **> Poblaciones desarrolladas, distribuidas y seleccionadas**

**Justificación:** El mejoramiento ha sido, tradicionalmente, una gestión colaborativa entre el CIAT y los programas nacionales, que combina las fortalezas de las diversas instituciones. El CIAT ha sido una fuente de poblaciones segregantes y de líneas fijas. La reducción presupuestal ha hecho que sea necesario diseñar sistemas eficaces que aprovechen las ventajas comparativas. Entre las fortalezas del CIAT están la variabilidad genética albergada en el banco de germoplasma, las novedosas combinaciones de genes que se han desarrollado y la capacidad para generar grandes cantidades de poblaciones.

**Materiales y métodos:** Se desarrollaron poblaciones que incluían genotipos parentales que habían demostrado su valor en diferentes sitios, y en condiciones de estrés múltiple en los ensayos del CIAT y en el vivero internacional para esta finalidad. Entre los genotipos se incluyen A774 y VAX 1. La mayoría de las poblaciones se derivan de cruza múltiples. Algunos países reciben poblaciones como poblaciones F<sub>2</sub> derivadas de F<sub>i</sub> dentro del esquema de selección de gametos; otros países no están familiarizados con este esquema y trabajan con poblaciones másales F<sub>2</sub>.

El trabajo colaborativo con los programas nacionales se realiza durante conferencias así como en las visitas de campo.

### **Resultados:**

Costa Rica: Las líneas con tolerancia de la baja fertilidad del suelo, derivadas de la línea DICTA 17 tolerante a la baja oferta de P, demostraron inestabilidad respecto al hábito de crecimiento en todos los ambientes. La selección se había practicado en un sitio de altitud media con buena intensidad luminosa, y cuando las líneas se probaron en un ambiente más húmedo y caliente con baja intensidad luminosa, casi todas las líneas presentaron un crecimiento excesivo con un índice de cosecha bajo. El reto específico consistirá en combinar un hábito de crecimiento aceptable y estable con la tolerancia de la baja oferta de P en el suelo, ya que los materiales más tolerantes son casi todos de hábito de crecimiento 3 (es decir, postrados).

Los costarricenses han recibido un gran número de poblaciones F5 derivadas de la raza nativa Sacapobres. Una cruce sencilla de Sacapobres x Tío Canela, de la cual se habían derivado líneas avanzadas, había indicado que estos progenitores presentaban una buena combinación, y serán seleccionadas nuevamente cruces triples de estos dos progenitores más un tercer progenitor que agrega variabilidad adicional. Sacapobres es relativamente menos susceptible a una cepa local del virus y, por tanto, es un componente importante del programa de mejoramiento en ese país.

Cuba: El trabajo en Cuba se lleva a cabo en colaboración con dos instituciones nacionales: la Estación Experimental Liliana Dimitrova que se enfoca hacia la horticultura y la Estación Experimental La René que trabaja en suelos. Como se explicó en informes anteriores, gran parte del trabajo realizado en los últimos años ha girado alrededor de la adaptación de genotipos a la baja fertilidad del suelo: la fijación biológica de nitrógeno (FBN) y la adaptación a la baja oferta de fósforo en el suelo. Este trabajo de selección se ha centrado en una población determinada, BAT 477 x DOR 364. Un estudiante cubano a nivel de maestría está examinando un conjunto de líneas endogámicas recombinantes (LERs) derivadas de esta cruce para determinar la relación entre la tolerancia de la baja oferta de P, la sequía y la capacidad de FBN.

Los científicos cubanos han seleccionado líneas élite de los viveros regionales y tienen candidatos para validación, siendo los mejores: DOR 526, 802 y 806 (rojos); DOR 673 y 676 (negros), así como las líneas completamente desarrolladas de negros, rojos y blancos seleccionados a partir de poblaciones enviadas desde el CIAT. Las líneas de grano negro presentan ventajas en cuanto a arquitectura de porte erecto, madurez precoz y alto rendimiento de tipo 3.

El Salvador: El agrónomo-mejorador de El Salvador visitó el CIAT en junio de 2002 para ponerse al día respecto a los materiales disponibles con tipo de grano rojo claro aceptable para El Salvador. También seleccionó varias poblaciones F4 desarrolladas por su tolerancia de la sequía. Estos materiales se sembraron en un ambiente de baja altitud, sequía y altas temperaturas en la región oriental de El Salvador. En este sitio, la línea CIAT SEA 21 y las

poblaciones derivadas de ésta fueron los únicos materiales que presentaron formación de vainas. Las líneas avanzadas que no habían sido seleccionadas respecto a la sequía en ensayos de rendimiento regionales y nacionales abortaron todas las flores. Por tanto, parece que SEA 21 tiene componentes de tolerancia de la sequía que pueden ser útiles en condiciones menos severas.

México: El CIAT trabaja con el programa nacional mexicano en un proyecto especial financiado por el gobierno de Bélgica para aumentar la FBN. La Universidad Católica de Lovaina suministra cepas modificadas de *Rhizobium* con genes específicos que permiten mayor nodulación, y el CIAT busca identificar los genes en la línea de frijol BAT 477 que contribuyen a una mayor fijación. Posteriormente, se estudiará la interacción de los genes bacterianos y los genes de la planta hospedante. Está pendiente la liberación de dos variedades de grano negro en el sur de México: DOR 445 en el Estado de Veracruz y DOR 454 en Chiapas.

En 2001 se sembró el Vivero Internacional de Sequía en México en tres sitios diferentes. Como en el pasado, las líneas tolerantes adaptadas a las condiciones del trópico presentaron un desempeño deficiente en las tierras altas de México. Aunque los genes de tolerancia de Durango (una raza de tierras altas) han sido adaptados para condiciones de cultivo en tierras bajas en algunos pocos genotipos élite, como SEA 15, estos mismos genotipos no se adaptan a los altiplanos. Parece que la adaptación general desempeña un papel tan importante como o más importante que el papel que desempeñan los genes que son específicos a la sequía cuando se comparan ambientes tan contrastantes como las tierras altas mexicanas y las tierras bajas.

Nicaragua: Se pronosticó una sequía por el fenómeno del Niño para las siembras de mayo en toda América Central, y en Nicaragua se organizaron campañas de información pública para desmotivar la siembra de cultivos por el temor a la pérdida total. En efecto, la precipitación fue abundante en la mayoría de las regiones. La humedad adecuada puso al descubierto diversos problemas en las líneas mejoradas de frijol que no se habían percatado antes en los últimos años que han sido secos: mustia hilachosa, algo de añublo común y, en especial, un hábito de planta tipo enredadera y/o maduración tardía. La selección en condiciones menos favorecidas probablemente había reducido la proporción de líneas que fueron aceptables en condiciones favorecidas, pero podría identificarse líneas suficientes para ser trabajos futuros.

Se sembraron poblaciones del CLAT adaptadas a condiciones de sequía en 2 sitios en Nicaragua. En los ambientes de tierras bajas de América Central muchas poblaciones presentaron hábito tipo enredadera y pocas vainas, pero probablemente serán útiles en elevaciones mayores (por encima de los 800 m.s.n.m.). En los otros sitios se seleccionaron poblaciones con una mejor carga de vainas y menor desarrollo de guías para selección futura. Se desarrolló un proyecto con el programa nacional nicaragüense y se presentó al gobierno alemán para financiar esfuerzos colaborativos de colaboración en el desarrollo de líneas tolerantes de la sequía.

Haití: El CIAT ha coordinado un proyecto de ayuda para desastres en Haití, que sirve para canalizar germoplasma de diversos cultivos y especies forrajeras hacia los ensayos en las fincas. Como las limitaciones de producción del frijol en Haití son similares a las

limitaciones con las que se han trabajado en América Central (especialmente BGYMV), se han probado materiales élitos resistentes de esta región, incluyendo: DOR 390, ICTA Ostua, DOR 364 y Tío Canela. Esta última variedad es de la Escuela Agrícola Panamericana (EAP)-Zamorano y presenta buenos rendimientos. Otro material ampliamente difundido, BAT 304, también presenta muy buen desempeño; BAT 304 tiene una maduración relativamente precoz y la variedad ha arrojado buenos resultados en Costa Rica, Cuba y Brasil.

Este año, se establecieron los primeros viveros en el norte del país. La presión de BGYMV fue aparentemente mayor en estos viveros aunque Tío Canela sigue presentando buenos rendimientos, junto con DOR 390.

Se sembró el Vivero Internacional de Sequía en este sitio, y el análisis de datos está pendiente.

Honduras (Proyecto de Laderas, Yorito): Las poblaciones de sequía se sembraron en el SOL (Supermercado de Opciones para Laderas), cerca de Yorito, Honduras. La precipitación no permitió la selección respecto a tolerancia pero se practicó la selección respecto a la carga de vainas y al hábito de crecimiento. Los agricultores en los comités de investigación agrícola local (CIAL) utilizarán estas poblaciones segregantes para la selección *in situ* en condiciones de sequía.

Aparte de compartir poblaciones segregantes con el Proyecto de Laderas, también hemos planificado un ensayo de líneas con tolerancia de la baja fertilidad del suelo, con el fin de estudiarlas en condiciones de sequía tanto en Honduras como en Nicaragua. Este estudio servirá para dilucidar el grado de interacción entre la fertilidad del suelo y la sequía en América Central y determinar hasta qué punto contribuye la tolerancia de la baja fertilidad a la resistencia a la sequía.

Honduras (EAP-Zamorano): La escuela en Zamorano cuenta con uno de los programas de mejoramiento más activos en la región y participa en el proyecto CRSP Frijol/Caupí, financiado por la USAID. El CIAT colabora muy de cerca con el fitogenetista en Zamorano, intercambiando material parental y viveros. Los planes se coordinan en la reunión anual de PROFRIJOL. Se coordinó una visita de campo en Costa Rica con el fitogenetista de EAP para revisar los avances *in situ*.

**Conclusiones:** Aunque los programas nacionales no cuentan con el mismo apoyo que en años anteriores, la mayoría sigue funcionando, realizando ensayos y liberando variedades. Nuestro trabajo sobre tipos mesoamericanos de grano pequeño se ha centrado en los tipos de grano pequeño rojo y negro, que tienen gran demanda en América Central y los tipos de grano negro tienen buena acogida en casi todos los países de tierras bajas en el trópico. Las poblaciones para tolerancia de la sequía han sido muy bien acogidas y, en la medida en que estén disponibles líneas tolerantes a la sequía, éstas encontrarán gran aceptación. También se han hecho avances en la introducción de la tolerancia de la baja fertilidad del suelo.

## **> Ayuda a los programas nacionales en la selección y promoción de la liberación de nuevos cultivares de frijol con resistencia a enfermedades virales**

En el Valle de Zapotitán, El Salvador, el problema del mosaico dorado amarillo del frijol también está siendo abordado como parte del Proyecto Tropical de Mosca Blanca, financiado por DFID (Departamento para el Desarrollo Internacional, Reino Unido). Este valle solía ser una de las zonas más importantes de producción de frijol de este país, pero la incidencia de BGYMV desalentó a la mayoría de los agricultores de sembrar frijol, especialmente durante el semestre seco del año (noviembre-mayo). El proyecto está diseñado para introducir nuevos cultivares de frijol que posean altos niveles de resistencia al BGYMV y reducir el número de aplicaciones de insecticida, una práctica común realizada por los agricultores en este valle. Durante el primer ensayo de este año, se sembraron parcelas de demostración con la línea nativa local, Rojo de Seda; la última variedad liberada en El Salvador, DOR 364 (CENTA-Cuscatleco); y una línea nueva, EAP 9510-77, desarrollada por la Escuela Panamericana de Honduras, utilizando una nueva fuente de resistencia al BGYMV (Pompadour J) identificada originalmente en la República Dominicana y algunas de las fuentes tradicionales de resistencia suministradas por CIAT, entre otros materiales parentales mejorados en el CIAT (las líneas Apion).

La Figura 51 muestra los resultados promedios obtenidos en estos ensayos. Básicamente, la nueva línea EAP-9510-77 arrojó los mejores rendimientos y tuvo un mayor valor comercial (buen color de grano) que la variedad comercial mejorada (CENTA-Cuscatleco) y el testigo tradicional (Rojo de Seda). Además, los rendimientos de la nueva línea se obtuvieron en condiciones de estrés biótico (mosca blanca/plagas) y abiótico (sequía), y con una sola aplicación de un insecticida sistémico en el momento de la siembra (Figura 52). El único problema que se observó fue la tendencia de la línea EAP de mostrar un porcentaje significativo (30%-40%) de resquebrajamiento de la testa debido al efecto del virus y el estrés hídrico.

Los próximos ensayos se realizarán con dos aplicaciones del insecticida sistémico con el fin de prolongar el efecto del producto químico en condiciones de sequía. Estas dos aplicaciones todavía representarían una reducción importante del uso de plaguicidas en el valle, que casi siempre asciende a más de 30 aplicaciones. La línea nativa local, Rojo de Seda, no produce en estas condiciones extremas.

Este año se enviaron al Salvador nuevas líneas de grano rojo que poseen resistencia al BGYMV para iniciar un proceso de selección de futuros materiales de mejoramiento, con la participación de los agricultores, para este país y otros países centroamericanos.

Rendimiento (kg/ha) de cultivares de frijol en condiciones de presión de BGYMV en Zapotitán, El Salvador

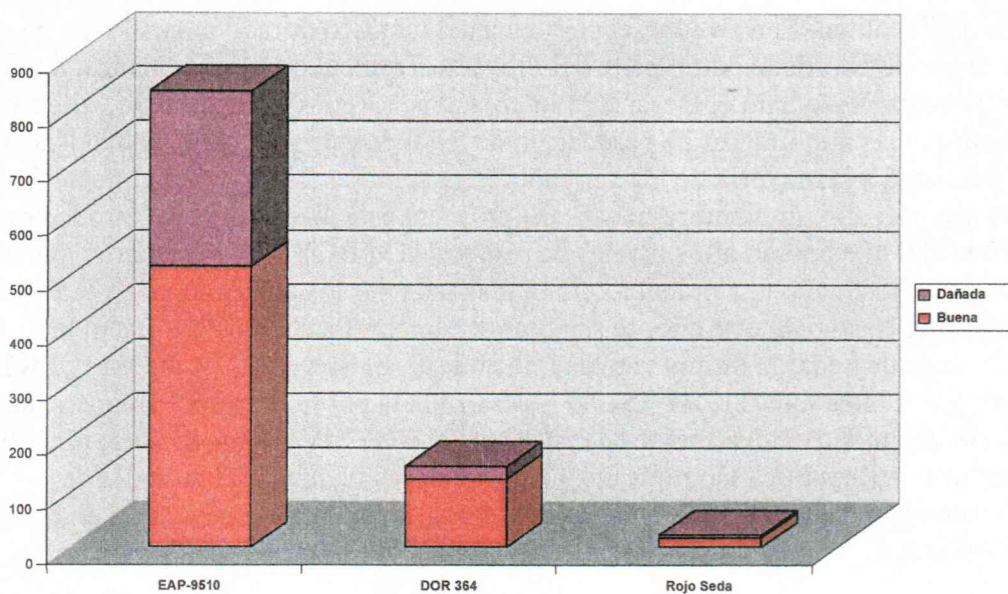


Figura 51. Características relativas de rendimiento/calidad de tres variedades de frijol en condiciones de alta incidencia del mosaico dorado amarillo del frijol en el Valle de Zapotitán, El Salvador.



Figura 52. Genotipos de frijol susceptible (Rojo de Seda) y resistente (EAP 9510-77), en condiciones de presión del mosaico dorado amarillo del frijol.

> Distribución de semilla a los socios colaboradores

a. Viveros de mejoramiento de frijol

Vivero	País	No. de líneas	Institución/Colaborador
Líneas avanzadas con <i>bc3</i>	El Salvador	3	CENTA, C.A. Pérez
	Honduras	3	EAP, J.C. Rosas
Línea avanzada (RAB 655)	Costa Rica	1	UCR, R. Araya
Líneas negras y rojas 2001 y 2002	Haití	226	PADF, G. Joseph
Líneas negras y rojas F <sub>6</sub>	Costa Rica	115	MAG, J.C. Hernández
	Guatemala	115	ICTA, F. Aldana
	Haití	115	PADF, G. Joseph
	Honduras	115	EAP, J.C. Rosas
	Nicaragua	115	CENIA-INTA, J. Molina
Líneas trepadoras (negras) resistentes a <i>Ascochyta</i>	Guatemala	9	ICTA, F. Aldana
Poblaciones F <sub>4</sub> de sequía	El Salvador	201	CENTA, C.A. Pérez
	Guatemala	201	ICTA, F. Aldana
	Honduras	201	EAP, J.C. Rosas
	Honduras	82	CIAT-Honduras, M. Ayarza
	Nicaragua	193	CENIA-INTA, J. Obando
Poblaciones rojas F4 de sequía	Nicaragua	193	CENIA-INTA, J. Obando
Poblaciones F3 de Sacapobres rojo	Costa Rica	198	MAG, J.C. Hernández
Retrocruzadas F4 de DOR 390, DOR 500 e ICTA Ostua	Guatemala	8	ICTA, F. Aldana
Retrocruzadas F4 de DOR 364	El Salvador	2	CENTA, C.A. Pérez
	Honduras	2	EAP, J.C. Rosas
	Nicaragua	2	CENIA-INTA, J. Obando
Retrocruzadas F4 de DOR 364, DICTA 113 y DICTA 122	Honduras	34	DICTA-SRN, D. Escoto
	Honduras	34	CIAT-Honduras, M. Ayarza
Familias F5 de Rojo de seda con <i>bc3</i>	El Salvador	214	CENTA, C.A. Pérez
Líneas negras F <sub>6</sub> y F7 para 2001 y 2002	México	103	INIFAP, E. López
	México	103	INIFAP, B. Villar
Líneas rojas Fg	Honduras	61	DICTA-SRN, D. Escoto
LER de Jamapa X J 117	México	56	INFAP, R. Garza
Ensayo de rendimiento de sequía y líneas con tolerancia de baja fertilidad	Honduras	16	CIAT-Honduras, M. Ayarza
Ensayo de rendimiento de sequía y líneas con tolerancia de baja fertilidad	Nicaragua	16	CIAT-Nicaragua, Juan Bosco

## b. Caracterización de germoplasma

Vivero	País	No. de líneas	Institución/Colaborador
Ensayo de líneas avanzadas -rojo moteado caribeño 2(RMC) x 3 reps.	Puerto Rico	29	Universidad de Puerto Rico, J. Castor
Ensayo de líneas avanzadas - rojo moteado caribeño (RMC) x 3 reps.	República Dominicana	29	EDIAF, J.C. Nin
Ensayo de líneas avanzadas - rojo moteado caribeño (RMC) x 3 reps.	Haití	29	Ministerio de Agricultura, E. Prophete
Ensayo de líneas avanzadas - rojo moteado caribeño (RMC) x 2 reps.	Haití	23	HAP, E. Levael
Líneas avanzadas - rojo moteado caribeño (RMC)	Haití	16	HAP-CIAT, E. Levael
Ensayo de líneas avanzadas - rojo moteado caribeño (RMC) x 2 reps.	Haití	60	HAP-CIAT, E. Levael
Germoplasma de frijol trepador	Haití	49	HAP-CIAT, E. Levael

## c. Otros

Vivero	País	No. de líneas	Institución
Líneas RAZ	México	9	INIFAP, R. Garza-G./ M.C. Jaime Piña

## > Liberación de variedades

País de liberación	Nuevo nombre	Identificación original o código	Tipo de germoplasma <sup>3</sup>	Color de semilla o clase	Año de liberación
México	TLP 18	(EMPASC 20 x BAT 1647) x (FT83-120 x G12896)	3	Negro pequeño	2002
	Bayo INIFAP Alteño 2000	MAM 45	2	Bayo	2002
		ARA 18	2	Jalinho	2001
		DOR 454	2	Negro	2001
		DOR 445	2	Negro	2001
Nicaragua	INTA Nueva Guinea	Negro Tacana	2	Negro	2001
	INTA Cárdenas	DOR 500	2	Negro	2001
	INTA Estelí	CM-12214-25	3	Rojo	2001
	INTA Rojo	EAP-9510-77	5	Rojo	2001

a. 2 = línea del CIAT, 3 = cruza del CIAT seleccionada localmente, 5 = variedades o líneas avanzadas de los SNIA distribuidas a través de la red del CIAT.

## **Proyectos colaborativos desarrollados y ejecutados con los SNIA y las redes regionales. Fortalecimiento de capacidades en los SNIA y en las redes regionales**

### **Aspectos destacados:**

- Los científicos del CIAT participaron en la planificación de actividades de la red de PROFRIJOL.
- Se brindó capacitación individual a los científicos nacionales.
- Se realizaron actividades colaborativas y se prepararon notas conceptuales.

### **Proyecto Regional de Frijol para América Central y el Caribe (PROFRIJOL)**

En 1980, el CIAT estableció un proyecto de investigación regional formal en América Central con financiamiento de la Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (SDC). El proyecto ha evolucionado hasta el punto en que hoy su administración operativa está en manos de un Comité Ejecutivo de cinco miembros que, a su vez, ejecuta las decisiones de la Asamblea General en la cual todos los países participantes tienen representación. El Equipo de Frijol con sede en el CIAT está representado en el Comité Ejecutivo por el Líder del Proyecto de Frijol. Además, la sede del CIAT brinda apoyo administrativo en gestión financiera.

Con respecto a la investigación, las prioridades se fijan en consulta con los SNIAs en una reunión conjunta de planificación. Todas las actividades del CIAT se coordinan con la matriz de planificación, y el CIAT entrega un plan de trabajo anual que relaciona las metas con las asignaciones presupuestales. Por tanto, las actividades del CIAT están totalmente coordinadas con la estructura de los proyectos regionales y el CIAT opera como colaborador pleno con los SNIAs.

La estructura del proyecto incluye cinco subproyectos principales:

- (1) Variedades mejoradas de frijol del acervo de genes mesoamericano, que incluye tipos de grano rojo y negro;
- (2) Variedades mejoradas de frijol del acervo de genes andino, para uso en la cuenca del Caribe y Panamá;
- (3) Apoyo a las gestiones de fitomejoramiento, que incluye el análisis de la variabilidad genética de los agentes patógenos, la expansión de la base genética de resistencia y el desarrollo de marcadores moleculares para la identificación de caracteres;
- (4) Desarrollo de técnicas mejoradas de manejo de cultivos, que incluyen la conservación del suelo y el manejo de la fertilidad; y
- (5) Estudios socioeconómicos que incluyen estudios de adopción y de impacto.

El CIAT participa directamente (con fondos de presupuestos de proyectos) en los subproyectos 1 y 3 e indirectamente (con fondos del presupuesto básico) en el subproyecto 2. Se presentan los resultados técnicos en las secciones respectivas, bajo el encabezamiento de Resultados.

En el 2002, durante la reunión del Comité Ejecutivo de Pro frijol, el Líder del Proyecto IP-1 se reunió con los representantes de COSUDE, CIMMYT y CIP para tratar el futuro de las redes

financiadas por Suiza en América Central y la propuesta para fusionar las redes de frijol, maíz y papa. La versión final de la propuesta incorporó las sugerencias hechas por el CIAT y el CIMMYT. El representante de COSUDE en Nicaragua expresó su satisfacción respecto a la manera como se preparó y se presentó la propuesta, e indicó que el SCD financiará las tres redes durante cinco años más por un monto que asciende casi a los US\$ 300,000 por producto básico por año, con una condición —es necesario establecer una organización administrativa muy simplificada y mucho menos costosa. Se está trabajando en diferentes alternativas y se espera la notificación de SDC sobre aprobación de la propuesta.

## > **Colaboración conjunta y notas conceptuales**

### Propuestas aprobadas

- “Candidate genes for tolerance of symbiotic nitrogen fixation (SNF) to phosphorus deficiency in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)”. Propuesta aprobada por *Plate-forme de recherches avancées Agropolis - 2ème appel d'offre*. (asociación colaborativa INRA, CIAT e INIFAP, México) (2001-2003).
- “Breeding staple-food crops with high micronutrient density for better human nutrition (Sub-project: Improvement of common bean).” Proyecto financiado por DANIDA y coordinado en IFPRI (1998-2002).
- “Breeding staple crops for improved micronutrient value”, una propuesta aprobada por la USAID para la investigación en biofortificación (2002-2004).
- “Estudio de la factibilidad de la selección asistida por marcadores para obtener cultivares de frijol con resistencia simultánea al virus del mosaico común y la antracnosis”, aprobado por el Ministerio de Agricultura de Colombia. Propuesta presentada por CORPOICA-Rionegro, Antioquia, con actividades realizadas en el CIAT (2002).
- “Incorporación de resistencia al mosaico común del frijol Cargamanto”, aprobado por el Ministerio de Agricultura-Colombia. Propuesta presentada por CORPOICA-Rionegro, Antioquia, con actividades realizadas en el CIAT (2002).
- “Integration of biofertilisation in bean cultivation by optimizing the use of the *Rhizobium*-bean symbiosis”, proyecto financiado por la Univ. Católica de Lovaina, Bélgica.

Virología de Frijol también ha iniciado un nuevo proyecto en Yucatán, México, donde el Proyecto de Moscas Blancas, financiado por DFID, estará orientado hacia el manejo de los virus transmitidos por la mosca blanca que afectan el frijol y otros productos básicos.

### Propuestas presentadas

- Una propuesta completa sobre “Genes, environment, and biological response: complex systems that defy understanding” fue preparada y presentada a la Fundación James S. McDonnell para obtener financiamiento. No fue aprobado el financiamiento.

- Un proyecto colaborativo con otros tres proyectos del CIAT (SB-2, PE-2 y PE-3), una red (PROFRIJOL) y un programa del sistema (PRGA) fue preparado y presentado para obtener financiamiento de BMZ-GTZ. El proyecto se titula “Bean genomics for improved drought tolerance in Central America”.
- “Bioavailability and clinical response to the consumption of high mineral beans and quality protein maize”, una propuesta presentada a la Iniciativa de Micro nutrientes para el financiamiento de la investigación sobre nutrición en Colombia. Propuesta presentada por la Universidad del Valle y el CIAT.
- “Mejoramiento de la nutrición humana en comunidades pobres de América Latina utilizando maíz (QPM) y frijol común biofortificado con micronutrientes”, una propuesta presentada a Fontagro (BID), para mejorar la nutrición en las comunidades rurales y urbanas de Colombia y Guatemala con ONG colaboradores. Propuesta presentada por FIDAR con el CIAT.
- “Angular leaf spot of common beans,” propuesta presentada a la Fundación Rockefeller.
- “Desarrollo de innovaciones tecnológicas en los sistemas de producción de maíz, frijol y papa, para pequeños y medianos productores de América Central, del sur de México y El Caribe”, propuesta presentada a COSUDE a través de PROFRIJOL-CIAT-CIMMYT-CIP.

#### Propuestas en preparación

“Seeds of Hope for Central America” Pase II. Un proyecto de 3 años para mejorar la capacidad de recuperación de la agricultura en áreas propensas a la sequía en Nicaragua

#### Notas conceptuales preparadas

Food security for Central America and the Caribbean through a regional collaborative bean research network, presentada al gobierno de España en 2001.

Seguridad alimentaria para Cuba y Nicaragua mediante mejoramiento de frijol por tolerancia a condiciones de sequía, presentada a INIA, España, en mayo de 2002.

Caracterización molecular y por virulencia de aislamientos argentinos de *Phaeoisariopsis griseola* e identificación de fuentes de resistencia en frijol común.

## **Apoyo al desarrollo del recurso humano en los sistemas nacionales de investigación agrícola y en las redes regionales**

### **Aspectos destacados:**

- Los científicos del proyecto de frijol del CIAT participan activamente en las conferencias y reuniones internacionales a las cuales asisten.
- Se brindó capacitación individual y en grupo a científicos y estudiantes nacionales e internacionales.
- Los científicos del CIAT participaron en diversos talleres regionales y conferencias internacionales.

### **> Viajes y asistencia a reuniones**

- En diciembre de 2001, el fitogenetista de frijol, el especialista en nutrición de plantas y el fitopatólogo visitaron programas nacionales y experimentos de campo en Costa Rica, Nicaragua y Honduras.
- Durante el mes de febrero, el especialista en nutrición de plantas y el fitogenetista visitaron a Cuba para evaluar los ensayos de frijol.
- En abril, el Líder del Proyecto de Frijol asistió a la reunión del Comité Ejecutivo de la Red de PROFRIJOL en República Dominicana y, junto con el fitogenetista y el fitopatólogo, asistió a la XLVIII reunión anual del Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales (PCCMCA) en República Dominicana.

El fitogenetista visitó los siguientes países:

- Costa Rica, Nicaragua y Tegucigalpa, en noviembre de 2001, para revisar los ensayos de campo.
- México, en enero, para asistir a un taller sobre biotecnología y nutrición.
- Haití, en febrero, para asistir a un ejercicio de planeación de proyectos.
- Cuba, en febrero, para revisar los ensayos de campo.
- Costa Rica, Nicaragua, Honduras y El Salvador, en julio-agosto, para visitar los programas nacionales y revisar los ensayos de campo, que incluían estudios de tolerancia de la sequía.
- México, en septiembre, para asistir a una reunión sobre el Proyecto de la Universidad Católica de Lovaina en México.

Se han realizado diversos viajes al sitio piloto de Zapotitán, El Salvador, para apoyar su gestión para seleccionar y liberar cultivares mejorados de frijol con resistencia al mosaico dorado amarillo del frijol. El Proyecto de Mosca Blanca, financiado por DFID, actualmente

apoya a CENT A, El Salvador, en el ensayo y promoción de nuevos genotipos de frijol desarrollados por la Escuela Panamericana en Honduras, a partir de materiales CIAT y otras fuentes de resistencia identificadas por el Proyecto CRSP-USAID en República Dominicana.

## > **Capacitación, estudiantes, cursos**

### Capacitación

- Amboise Garfiñe, Gardy Fleurantin y Jerome Jean Myrtho, CIAT-HAP/PADF, Haití, recibieron capacitación en mejoramiento de frijol.
- Dos científicos del Programa Nacional Salvadoreño de Investigación Agrícola, CENT A, llegaron al CLAT este año para recibir capacitación en aspectos relacionados con el mejoramiento de frijol y la protección de cultivos.

### Estudiantes de posgrado

Supervisión de trabajo de tesis a nivel de maestría

- Orlando Chaveco, estudiante cubano de M.Sc. continúa un análisis fisiológico de las líneas derivadas de la cruce de DOR 364 x BAT 477, la cual ha expresado resistencia a factores múltiples de estrés abiótico. El estudio determinará la relación fisiológica entre la resistencia a la baja oferta de P, nitrógeno y estrés por sequía.

Supervisión de trabajo de tesis a nivel de doctorado

- Oscar Gómez, estudiante de Ph.D. del Departamento de Ecología y Ciencias de la Producción de Cultivos, Univ. Sueca de Ciencias Agrícolas (SLU) en Uppsala, Suecia, y la Universidad Nacional Agraria, Nicaragua, continúa el análisis de la diversidad genética a nivel de fincas en Nicaragua, donde se desempeña como especialista en germoplasma de la Universidad.

Curso internacional: El 21 de octubre el Proyecto de Frijol inició el Primer Curso Internacional sobre Mejoramiento de Frijol a través de Técnicas Moleculares Avanzadas. Este curso fue diseñado de manera integral —combinó conferencias, prácticas de laboratorio y de campo, visitas de estudio y trabajo de campo, todo conducido por expertos. El curso estaba dirigido a la capacitación de 14 profesionales de 12 países latinoamericanos que trabajaban con programas nacionales de investigación en mejoramiento de frijol en América Latina y el Caribe (ALC); 8 de ellos provenían de Costa Rica, Cuba, República Dominicana, El Salvador, Haití, México y Nicaragua. El curso buscaba fortalecer la capacidad científica de sus participantes en áreas específicas de la genética y el mejoramiento tradicional, haciendo énfasis en la integración de las técnicas tradicionales de fitomejoramiento con el uso de técnicas de selección con la ayuda de marcadores moleculares, desarrolladas en el laboratorio. Este curso también permitió consolidar las redes de mejoramiento de frijol en ALC mediante el desarrollo de proyectos conjuntos. Este evento fue patrocinado por la Agencia Interamericana para la Cooperación y el Desarrollo (IACD), la Organización de los Estados Americanos (OEA) y el Instituto Colombiano de Crédito Educativo y Estudios Técnicos en el Exterior (ICETEX). La OEA patrocinó a 10 de los participantes y PROFRIJOL patrocinó a un participante.