

Identificación de genotipos resistentes al virus de mosaico dorado amarillo del frijol (BGYMV) mediante el uso del marcador molecular bgm-1

Resumen

El frijol común es uno de los cultivos de mayor importancia en América Latina, por el alto contenido de proteínas que incorpora a la dieta alimenticia de la población, sin embargo, su producción se ha visto limitada por la presencia de múltiples enfermedades, destacándose entre ellas el Mosaico Dorado. El mejoramiento genético ha permitido el uso eficiente del material genético disponible, incorporando nuevos genes de resistencia a esta enfermedad tanto en la región como en nuestro país, con el fin de generar cultivares con alta resistencia genética. La tecnología de los Marcadores Moleculares (M.M) ha revolucionado estos programas, sirviendo como herramienta fundamental en la identificación y selección de estos genes para el mejoramiento de los cultivos. En este trabajo se empleó un Marcador Molecular tipo SCAR para identificar la presencia o no del gen de resistencia a mosaico dorado amarillo (bgm-1) en líneas y variedades de frijol, el resultado de este nos permitió seleccionar un grupo de variedades con presencia de este gen, así como realizar un estudio a más de 100 progenies procedentes de cruces diferentes. Este trabajo constituye el primer estudio donde se emplea la Selección Asistida por Marcadores Moleculares en el mejoramiento genético del cultivo del Frijol en Cuba.

Introducción

El frijol común (*Phaseolus vulgaris*) es uno de los cultivos de mayor aceptación por la población, incorpora a la dieta alimenticia altos porcentos de proteína vegetal (15-35%) y hasta 340 calorías/ 100g. Es originario de América, en la zona tropical y subtropical, se producen más de cuatro millones de toneladas al año, con un consumo de 10- 20 kg/per cápita (Morales, 2000

c). Anualmente se cultivan más de 700 000 hectáreas de diferentes variedades de este grano en los países de Centroamérica y el Caribe. A pesar del área dedicada al cultivo de este grano, la productividad no alcanza a satisfacer la demanda interna de los principales países consumidores. Esto se debe a la baja productividad del cultivo, lo cual está asociado a diversos factores, dentro de los cuales se destacan los bióticos y entre éstos las enfermedades causadas por los virus transmitidos por mosca blanca (*Bemisia tabaci*), ocupando uno de los primeros lugares, por el daño económico que ocasiona, el mosaico dorado del frijol (BGMV) (Morales, 1992 y 2000 c).

Estos virus son actualmente clasificados como especies del género Begomovirus (siglas Bean golden mosaic virus) (Morales, 2000 a). En estudios de caracterización de este geminivirus a nivel molecular se demostró que el BGYMV de Puerto Rico, era genéticamente diferente al BGYMV de Brasil. Otros dos aislados de BGYMV provenientes del Caribe (República Dominicana) y de la América Central (Guatemala), fueron también caracterizados molecularmente, comprobándose que son similares al BGYMV- Puerto Rico. (Faria et al., 1994).

El control del virus del mosaico dorado amarillo del frijol (BGYMV) ha sido difícil, debido a las altas poblaciones de la mosca blanca, al abuso indiscriminado de pesticidas para el control de la mosca y a la patogenicidad extrema del virus. Dentro del manejo implementado para la protección del cultivo del frijol común se incluye la utilización de variedades mejoradas genéticamente y el uso racional de plaguicidas para reducir los niveles del insecto vector (Dard on, 1993). Una de las características importantes de este virus, a tener en cuenta al imple-

mentar los manejos integrales, es su amplia variabilidad genética (Cancino et al., 1997).

En 1974 se inició un proyecto que permitió continuar con la búsqueda de resistencia genética para solucionar el problema del mosaico dorado amarillo del frijol en América Central, se destacaron los materiales de grano negro de origen mesoamericano, especialmente Turrialba 1, Porrillo 70, ICA- Tuí, Porrillo Sintético e ICA-Pijao (Yoshii et al., 1979). De diversos cruzamientos realizados entre estas variedades, salieron las primeras líneas DOR: DOR 41 (Porrillo Sintético X ICA-Pijao), DOR 42 (ICA-Pijao X Turrialba1) y DOR 44 (línea hermana de ICA-Pijao X Turrialba1), estas variedades presentaban un nivel de resistencia al BGYMV notable, por lo que tuvieron una buena aceptación dentro de los productores de este tipo de frijol negro (Morales, 2000 b).

Otro resultado relevante fue la línea A 429 (tipo Pinto, proveniente de Garrapato, de raza Durango), con un color de semilla diferente al negro, seleccionado por su arquitectura, demostró poseer un alto nivel de resistencia al BGYMV en condiciones de campo (Singh et al., 1991). En investigaciones posteriores, se describió el gen *bgm-1* como responsable de la resistencia al amarillamiento en A 429 (Blair y Beaver, 1993). Las técnicas moleculares utilizadas en el mejoramiento genético del frijol por su resistencia a geminivirus del frijol han permitido la identificación y el uso de marcadores (Random Amplified Polymorphic DNA) ligados a los diferentes genes de resistencia a geminivirus los cuales acortarían considerablemente el tiempo requerido para la detección y selección de genotipos resistentes.

En Cuba el frijol común es uno de los cultivos de mayor importancia para el pueblo, debido a que constituye uno de los alimentos básicos de su alimentación. En todas las zonas donde se cultiva, se encuentra presente el virus del mosaico dorado amarillo, reportándose la mayor incidencia en la zona oriental. En las campañas de los años 1989-90 y 1990-91, los porcentajes de infección alcanzaron el máximo valor, siendo necesario destruir más de 1000 ha. del cultivo. En este mismo periodo se observó un incremento de esta virosis en la provincias centrales, mientras las occidentales mantuvieron niveles de infección más bajos, situación que se mantuvo en la campaña de 1991- 92. El Programa de Mejoramiento Genético del frijol de nuestra institución ha venido desarrollando numerosas investigaciones en colaboración con otros Programas Nacionales de la Región, dentro del

marco del proyecto suizo PROFRIJOL, con la finalidad de incorporar nuevos genotipos con buena adaptación agronómica y resistencia al mosaico dorado del frijol a nuestro país. Más recientemente se ha incorporado la Selección Asistida por Marcadores Moleculares como herramienta fundamental en la identificación y selección de este gen (*bgm-1*), para el mejoramiento genético de este cultivo, esta investigación ha tratado de dar respuesta a esta problemática siendo necesario:

- Aplicar la selección asistida por marcadores moleculares en el Programa de Mejoramiento Genético del frijol común.
- Identificar aquellos genotipos con resistencia genética al virus del mosaico dorado del frijol (BGYMV).

Materiales y métodos

- Selección del material a estudiar.

El trabajo de evaluación y muestreo se desarrolló en las áreas de campo del Instituto de Investigaciones Hortícolas “Liliana Dimítrova” ubicado en la provincia de La Habana. Inicialmente fueron seleccionadas las mejores variedades uniformes y líneas avanzadas provenientes de cruza con padres donantes del marcador *bgm-1*, esta selección se realizó teniendo en cuenta el grado de reacción de cada material frente a la incidencia natural del BGYMV en campo. La escala utilizada fue la propuesta por Van Schoonhoven y Pastor - Corrales, 1991, 1-2-3 se consideran resistente, 4-5-6, intermedios y 7-8-9 susceptibles

- Identificación de las líneas en campo

El trabajo continuo con la preparación y confección de marbetes debidamente identificados, con los cuales se marcó en el campo cada una de las líneas (plantas individuales), y variedades que posteriormente fueron muestreadas.

- Cada marbete debe tener la siguiente información:

planta

placa

Fila

Esta identificación se realizó en el campo a los 13 días de haber germinado las plantas. La toma de muestras se realizó después de esta identificación.

Toma de muestras

Luego de realizada la identificación en el campo, se procedió a realizar la toma de muestras, siguiendo el orden de los marbetes ubicados previamente en el campo.

Los materiales necesarios para realizar el muestreo en el campo fueron:

- Placa Elisas.
- Servilletas
- Sacabocados (ponchadora 1 orificio)
- Pinza de laboratorio
- Termo de poliespuma grande con hielo
- Termo pequeño de poliespuma
- Tabla de trabajo de campo

Procedimiento para la toma de muestras

Fueron seleccionadas las hojas más jóvenes de la planta.

- Se cortaron discos de hojas de 6 mm de diámetro.
- Se acomodaron los discos en las placas Elisas de manera que queden ajustados en el fondo de cada pozo.
- Finalmente se almacenaron las placas a -20 o -80°C hasta la extracción de ADN.

Extracción alcalina del ADN

Las muestras colocadas en freezer a -20 o -80°C , fueron sacadas con antelación y colocadas sobre hielo para que el tejido perdiera congelación.

Materiales necesarios para realizar la extracción de ADN

- Pistilos azules o removedores de cristal con un diámetro adecuado que permita la maceración en la placa Elisa
- Multipipeta de 8 canales para la aplicación de las soluciones
- Colector para multipipeta
- Palillos de madera utilizados para acomodar las muestras en el fondo de los pozos de las placas Elisas.
- Termo de poliespuma pequeño con hielo
- Soluciones para extracción de ADN

Procedimiento para la extracción de ADN

Éste se desarrolló por los siguientes pasos.

- Agregar 40 ul de NaOH 0.25 M
- Calentar a 100°C por 30 segundos
- Macerar con los pistilos 5 veces a la derecha y 5 veces a la izquierda
- Neutralizar con 40ul de HCl 0.25M y agregar 20ul de 0.5M de Tris HCl ph 8
- Calentar a 100°C por 2 minutos

Se hizo reflujó al tomar el extracto de ADN crudo para hacer dilución 1: 2 con agua estéril posteriormente se almacenó los ADN a -20 o $^{\circ}\text{C}$.

Amplificación mediante la técnica de PCR

Una vez realizada la dilución del extracto de ADN crudo se procedió a preparar las microplacas para los termocicladores. En cada pozo de las microplacas se agregaron 5ul de ADN y 20 ul de mezcla de PCR. Como cada placa tiene 96 pozos, se calculó el volumen final para 100 reacciones quedando un total de 2000 ml. de solución de PCR por placa. Después que se agregó el ADN y la solución de PCR a la microplaca se llevaron éstas al termociclador para realizar la amplificación de la banda o gen *bgm-1*.

Programa del termociclador

- 92°C por 15 seg.
- 55°C por 15 seg.
- 72°C por 15 seg.
- 34 ciclos a 1 minuto cada uno
- 72°C por 5 minutos
- 4°C indefinidamente
- fin.

Duración aproximada del programa.

Termociclador en "U"-----1: 40 h.

Termociclador en "V" -----1: 15 h.

Una vez culminado el proceso de amplificación de la banda de *bgm-1*, se le agregó a cada pozo o tubo eppendorf 5 ul de buffer de carga (blue juice).

- a. Se preparó un gel de agarosa al 1.5 % con 210 ml. de 0.5 X TBE con 3 gramos de agarosa y 2ul de Bromuro de Etidio.
- b. Se fundió al horno y posteriormente se vertió en una cubeta hasta que se enfrió totalmente.

Esta cubeta se colocó en la cámara de electroforesis que contenía buffer de corrida TBE 0.5 X.

- c. Posteriormente se sembraron 15 ul de reacción en cada pozo del gel, dejando espacios intermedios para sembrar los testigos (marcador de banda, en este caso la variedad MD 30 75).
- d. Se conectó la cámara de electroforesis (cámara grande) a la fuente dejando correr las bandas sobre el gel e 230 volt durante 1 hora, en cámara pequeña correr a 110 volt durante 30 minutos.
- e. Se leyó el gen en el transiluminador para verificar la presencia o no de las bandas del gen.
- f. Se tomaron las fotos al gel.

Una vez tomadas las fotos se analizó cada una de las electroforesis correspondientes a los materiales muestreados, lo cual conjuntamente con otras características agronómicas como color del grano, valor comercial con escala del 1 al 5 propuesta por Van Schoonhoven y Pastor - Corrales, 1991, nos permitió realizar la selección de los mejores genotipos. Se presenta además los valores de rendimiento en kg/ ha. de las mejores líneas y variedades seleccionadas.

Resultados y discusión

En la Tabla 1 se presentan algunas de las evaluaciones realizadas a las mejores variedades uniformes de grano de color rojo y negro del Ensayo Nacional de Rendimiento. En las evaluaciones de los síntomas foliares frente a la incidencia del BGYMV se aprecia que de forma general todos los materiales mantienen un grado de reacción en el rango de 4 a 6 intermedio, destacándose las variedades CUT 45, CUT 53 y DOR 628 de granos de color negro además de DOR 526 de grano de color rojo con reacciones de 4 grados, superando a los testigos Tomeguín 93 (DOR 390) y MD 30-37 con 6 grados de reacción frente a la incidencia de este virus. También se presentan las evaluaciones del valor comercial del grano destacándose con una mayor calidad del grano las variedades CUT 45, CUT 53 y DOR 628 de grano de color negro y DOR 804 de grano rojo, a su vez los valores de

rendimiento nos permiten afirmar que de forma general todos los materiales presentaron altos valores en sus rendimientos, superiores a los testigos tanto de grano de color negro como de granos de color rojo.

En la tabla 2 se presentan las evaluaciones realizadas a las mejores líneas avanzadas del Programa de Mejoramiento de Frijol para el carácter resistencia a BGYMV, en las evaluaciones realizadas a cada uno de estos materiales por la incidencia natural de este virus se observa que todos los materiales presentaron grado de reacción de 6 intermedio incluyendo al testigo regional MD 30-75. Sin embargo se aprecia una ligera diferencia en la calidad comercial del grano destacándose dos de estas líneas con grado 1: CUL 105 y CUL 106, seguidas de CUL 91, CUL 115 y CUL 116 con valor comercial del grano evaluado de 2, debemos tener en cuenta los valores obtenidos en el rendimiento por estos materiales, de los cuales resaltan las variedades CUL 72, CUL 105 y CUL 115 los que oscilan entre 1400 y 1500 kg/ ha.

Para el Programa de Mejoramiento Genético Nacional estos resultados son de suma importancia ya que mediante este estudio se han logrado identificar genotipos tanto de granos de color negro, como de granos de color rojos, con altos valores de rendimiento, calidad comercial de sus granos y resistencia intermedia al virus de mosaico dorado amarillo de frijol común, enfermedad de gran importancia en nuestro país por las pérdidas que ocasiona en este cultivo.

La aplicación de la Selección Asistida por Marcadores Moleculares permitió corroborar los resultados, a continuación se presentan en la figura 1 las hibridaciones de los ADN genómicos de las variedades uniformes del Ensayo Nacional de Rendimiento con las sondas del marcador bgm-1. Se distinguen con claridad las diferencias existentes entre los materiales analizados, donde se aprecia la presencia de la banda + del marcador bgm-1 para la resistencia BGYMV en las variedades DOR 809, DOR 832 y DOR 628; se destacan además tres variedades con bandas heterocigóticas: DOR 526, CUT 53, CUT 45 y la variedad DOR 673 sin presencia de banda.

La presencia de la banda positiva en estos materiales resistentes pudo haber influido directamente en la reducción del amarillamiento por efecto de este virus en la expresión de los síntomas foliares, en las evaluaciones realizadas en condiciones de campo, esto facilitó realizar una primera selección de dichas variedades.

Identificación	BGYM V	Banda	Fuente Genética	Color grano	Valor comercial	Rendimiento kg/ha
DOR 673	6	0	?	N	3	2 060
CUT 45	4	+	?	N	2	2 376
CUT 53	4	h	DOR 41	N	2	1979
DOR 628	4	+	DOR 500	N	2	2089
Tomeguín 93 (T)	6	---	Porrillo Sintético	N	2	1956
DOR 832	4	+	DOR 483	R	3	1940
DOR 804	5	0	DOR 483	R	2	1961
DOR 809	5	+	DOR 483	R	3	1934
DOR 526	4	h	DOR 364/ A429	R	3	1985
MD 30-37 (T)	6	+	DOR 483	R	3	1945

TABLA 1. VARIEDADES UNIFORMES DE GRANO DE COLOR NEGRO Y ROJO DEL ENSAYO NACIONAL DE RENDIMIENTO (ENAR).

Identificación	BGYM V	Banda	Fuente Genética	Color grano	Valor comercial	Rendimiento kg/ha
CUL 72	6	+	MD 30-75	R	3	1496
CUL 91	6	h	DOR 482/ A429	R	2	1061
CUL 105	6	h	A 429	R	1	1450
CUL 106	6	h	A 429	R	1	1148
CUL 114	6	+	DOR 482/ A429	R	2	1227
CUL 115	6	+	DOR 482/ A429	R	2	1441
CUL 116	6	+	DOR 482/ A429	R	2	1229
MD 30-37 (T)	6	+	DOR 483	R	3	1350

TABLA 2. MEJORES LÍNEAS DE GRANO DE COLOR ROJO DE VIVERO DE NACIONAL DE RENDIMIENTO

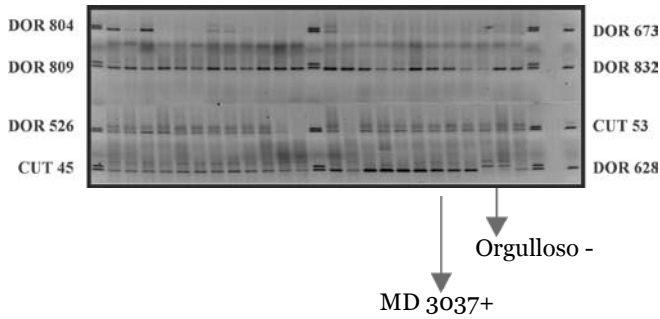
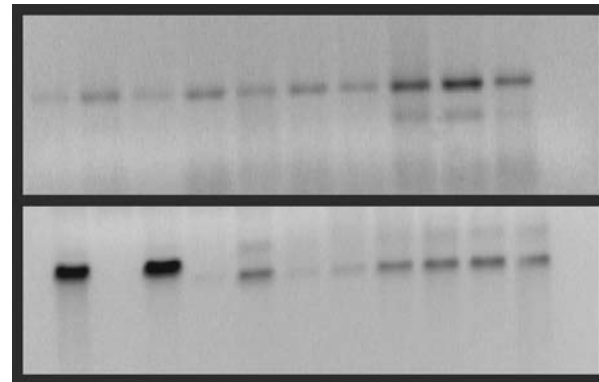


FIGURA 1: ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA AL 1.5% DE LAS VARIEDADES UNIFORMES DE FRIJOL COMÚN PREVIAMENTE SELECCIONADAS EN CAMPO POR SU REACCIÓN DE RESISTENCIA AL BGYMV.

En la figura 2 se presentan las bandas que generaron algunas líneas del Vivero Nacional de Rendimiento. Al observar los geles, podemos apreciar a un grupo de materiales con banda + del marcador, entre ellas se destacan las Cruzas 18 con las líneas desde la CUL 111 hasta CUL 116, así como la Cruza 10 con los genotipos: CUL 71, CUL 72, CUL 73 y CUL 74, también presentaron banda + del gen *bgm-1* las líneas CUL 65 a la CUL 70, de la Cruza 9. Estos genotipos tiene como fuentes genéticas las variedades DOR 482 y A 429 pertenecientes a la raza mesoamericana (ver Tabla 1 y 2), ellas fueron generadas y seleccionadas en su momento para mejorar la expresión del carácter de resistencia a BGYMV en genotipos mejorados de color de semilla diferentes al negro. En particular la variedad A 429 constituyó un paso de avance para los programas de mejoramiento regional debido a que fue el primer genotipo de grano tipo pinto que demostró tener un alto nivel de resistencia al BGYMV en condiciones de campo, Morales, 2000 b. En estudios

posteriores realizados por Blair y Beaver, 1993, se logró escribir el gen *bgm-1* como responsable de la resistencia al amarillamiento en esta variedad.

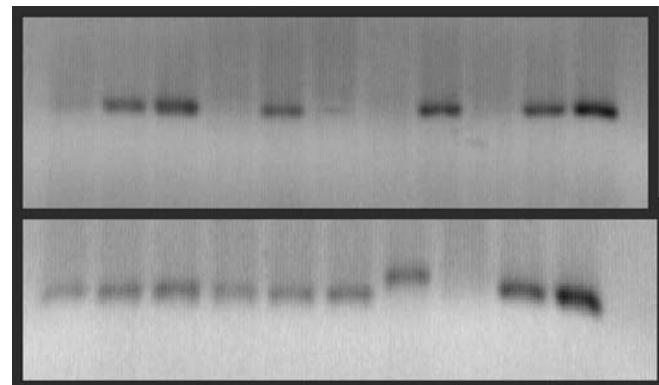
Cruza 18: DOR 482 x G 1965 ...



CUL 111, CUL 112, CUL 113,
CUL 114, CUL 115, CUL 116.

MD 3037+

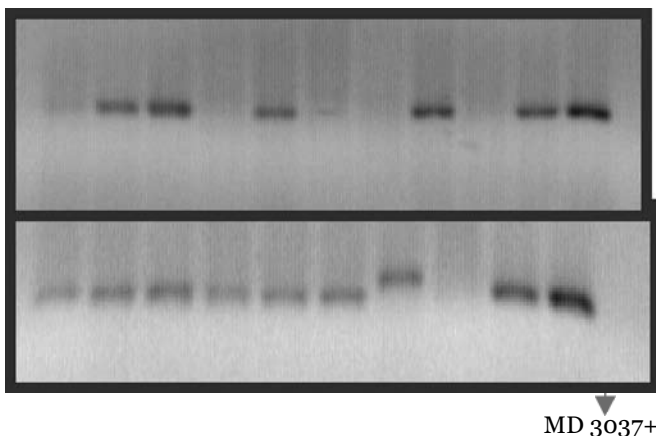
Cruza 10: MD 3075...



CUL 71, CUL 72, CUL 73, CUL 74

MD 3037+

Cruza 9: DOR 482 x ((XAN 252 ...



MD 3037+



MD 3037+

CUL 65, CUL 66, CUL 67, CUL 68, CUL 69, CUL 70

FIGURA 2: ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA AL 1.5% DE LAS LÍNEAS DE FRIJOL COMÚN EN F6 Y F7 PERTENECIENTES AL VIVERO DE NACIONAL DE RENDIMIENTO


Estos resultados en general estaban determinados en gran medida por la presencia de genes de resistencia a BGYMV en estas líneas y variedades, teniendo en cuenta que provienen de cruzamientos realizados con fuentes genéticas como DOR 482, A 429, MD 30 75, (ver Tabla 1 y 2), lo cual pudo influir positivamente en la selección de estos materiales en condiciones de campo por la ausencia de síntomas en follaje determinado por la “resistencia al amarillamiento” (Morales y Niessen, 1988), mecanismo propio de las variedades de la raza mesoamericana a la cual pertenecen estas fuentes genéticas (Morales, 2000 b).

La resistencia a BGYMV esta determinada por la información genética heredada de sus parentales, tal es el caso de DOR 809, DOR 832 con padre DOR 483; DOR 628 con padre DOR 500 y DOR 526 con padres DOR 364 – A429. Estudios realizados en el CIAT (citado por Morales, 2000 b) permitieron determinar que el principal mecanismo de resistencia que poseen estas fuentes y los materiales mejorados a partir de estos padres, es el de evitar o restringir la multiplicación de los geminivirus en los genotipos resistentes.

La presencia de las bandas heterocigóticas en las variedades CUT 53, CUT 45 y DOR 526 no disminuye la expresión de la resistencia al mosaico dorado amarillo, lo cual reafirma lo planteado por F. Pedraza (comunicación personal, 2000), ... la presencia de bandas heterocigóticas en líneas avanzadas y en variedades uniformes debían ser consideradas como bandas + de resistencia, lo cual no se cumple en líneas de poblaciones de familias en F₂ (segregantes), donde la presencia de bandas heterocigóticas pone en dudas la presencia de resistencia de a BGYMV, debiendo ser evaluadas estas líneas en posteriores generaciones o eliminadas según consideración del mejorador.....

La variedades de grano negro CUT 53 y CUT 45, que fueron evaluadas y seleccionadas por su resistencia a Bacteriosis común en otros estudios (Rodríguez et al., 2002) ahora se destacan por presentar el marcador *bgm-1* lo cual las convierte en variedades de gran importancia para el programa de mejoramiento genético nacional ya que en ellas se combinan resistencias a los dos patógenos de mayor importancia en Cuba y muchos países de la región, éstos son Virus del mosaico dorado amarillo del frijol y la Bacteriosis común.

Conclusiones

- Se cuentan con las variedades uniformes DOR 809, DOR 832, DOR 628; DOR 526, CUT 53 y CUT 45 con el marcador *bgm-1* que confiere resistencia al BGYMV.
- Del Vivero de Adaptación y Rendimiento fueron seleccionada las variedades CUT 72, CUT 114, CUT 115, CUT 116 con presencia del gen *bgm-1*, altos rendimientos, buen valor comercial del grano.
- La Selección Asistida por Marcadores Moleculares fue una herramienta útil, rápida y muy económica que permitió la identificación del marcador *bgm-1* en líneas y variedades seleccionadas en campo por su buen comportamiento frente a BGYMV 

Referencias Bibliográficas

- BLAIR, M. W Y BEAVER, J. S.
1993. Inheritance of bean golden mosaic resistance from bean genotype A 429. Ann. Rep. Bean Improv. Coop. 36:143.
- CANCINO, M., HIEBERT, E., PURCIFULL, D., POLSTON, J. E AND MORALES, F. J.
1995. Monoclonal antibody with broad specificity to whitefly-transmitted geminiviruses. Phytopathology 85: 484-501.
- DARDON, D.E.
1993. La mosca blanca en Guatemala p. 38-41. In: L. Hilje and O. Arboleda. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en América Central y el Caribe. CATIE. Turrialba, Costa Rica.
- FARIA, J. C., GIBERTSON, R. L., HANSON, S. F., MORALES, F. J., AHLQUIST, P. A., LONIELLO, A. M. AND MAXWELL, D. P.
1994. Bean Golden Mosaic geminivirus type Isolate from Dominican Republic and Guatemala: nucleotide sequences, infectious pseudorecombinants, and phylogenetic relationships. Phytopathology 84: 321- 329.
- MORALES F. J. G.
2000. Enfermedades del frijol causadas por geminivirus en la América latina. El mosaico dorado del Frijol. En: El Mosaico Dorado y otras enfermedades causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina, (F. J. Morales , Ed.). Impreso en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira (Valle), Colombia.

MORALES F. J. G.

2000 b. Enfermedades del frijol causadas por geminivirus en la América latina. El mosaico dorado amarillo del Frijol. En: El Mosaico Dorado y otras enfermedades causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina, (F. J. Morales , Ed.). Impreso en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira (Valle), Colombia.

2000 c. Importancia socio-económica del frijol en la América Latina. En: El Mosaico Dorado y otras enfermedades causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina, (F. J. Morales , Ed.). Impreso en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira (Valle), Colombia.

MORALES, F. J ., Y NIESSEN, A. I.

1988. Comparative responses of selected *Phaseolus vulgaris* germplasm inoculated artificially and naturally with bean golden mosaic virus. *Plant Dis.* 72: 1020- 1023.

MORALES, F. J.

1992. Annual progress report (1992) and five-year report (1988-1992). Cali, Colombia. CIAT.

RODRÍGUEZ, O.

2002. Caracterización de aislamientos de (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) y su empleo en la selección de genotipos del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) con resistencia a bacteriosis común, bajo condiciones de campo. En. Tesis para optar por el título de Maestro en Biología Vegetal. Universidad de la Habana, Cuba.

SINGH, S. P ., GEPTS, P., AND DEBOUCK, D. G.

1991. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Econ. Bot.* 45: 379- 196.

VAN SCHOONHOVEN, A. Y M, A. PASTOR - CORRALES.

1991. Sistema Estándar para la Evaluación de Germoplasma de Frijol. p. 20-46.

YOSHII, K., GALVEZ, G. E., Y LYON, H.

1979. Evaluación de germoplasma de *Phaseolus vulgaris* por tolerancia al mosaico dorado del frijol. XXV Reunión Anual de PCCMCA, Tegucigalpa, Honduras. L 25: 1- 8.

*Odile Rodríguez Miranda*¹,

*Benito Faure Álvarez*², *Roberto Benítez González*²,

*Steeve E. Beebe*³, *Constanza Quintero*³.

¹ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)

² Instituto de investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova" (IIHLD)

³ Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)

