

Identificación de nuevas fuentes de resistencia a antracnosis en el germoplasma de frijol arbustivo del altiplano de Guatemala

Identification of new sources of resistance to anthracnose in bush type bean germplasm from the highlands of Guatemala

Carlos Maldonado Mota*, María G. Tobar Piñón, Julio C. Villatoro Mérida

Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), Guatemala

*Autor al que se dirige la correspondencia: c.maldonado@icta.gob.gt

Recibido: 25 de agosto 2020 / Revisión: 09 de mayo 2023 / Aceptado: 17 de mayo 2023

Resumen

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es el segundo grano más importante cultivado en Guatemala y es la principal fuente de proteína de origen vegetal para el guatemalteco. El cultivo se ve afectado por la antracnosis, una enfermedad causada por el patógeno *Colletotrichum lindemuthianum*, (Sacc. and Magnus) Briosi y Cavara, un hongo que puede afectar el rendimiento del grano, hasta un 100%. El Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), Guatemala, cuenta con una colección de frijol arbustivo de la región del altiplano del país, la cual ha presentado resistencia bajo presión natural de la enfermedad. Sin embargo, no se había evaluado con razas de *C. lindemuthianum* previamente reportadas. El programa de mejoramiento de frijol en Guatemala necesita identificar fuentes de resistencia a razas del patógeno que se han reportado en la zona, esto es posible cuando se dispone de un germoplasma diverso. En este se identificaron fuentes de resistencia a antracnosis utilizando como inóculo aislamientos de las razas del patógeno 585 y 3981, e inoculadas a 216 accesiones de la colección de frijoles arbustivos. En total, el 10% de las accesiones resultaron resistentes (escala 1-3) a ambas razas del patógeno evaluando su severidad con base en una escala visual estándar de 1 a 9. Las fuentes de resistencia encontradas en frijol para *C. lindemuthianum* pueden ser utilizadas en el programa de mejoramiento de frijol en Guatemala o a nivel mundial.

Palabras clave: *Colletotrichum lindemuthianum*, frijol común, *Phaseolus vulgaris* L., resistencia

Abstract

Dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is the second main crop in Guatemala and is the main source of vegetable protein for the Guatemalan. However, this pulse is affected by anthracnose, a disease caused by the pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*, (Sacc. and Magnus) Briosi y Cavara, this fungus can affect grain yield up to 100%. The Institute of Agricultural Science and Technology (ICTA) has a germplasm of bush type beans in the highland region of the country, it has shown resistance to the disease under natural conditions. However, it was not evaluated using races of *C. lindemuthianum* reported before. The dry bean breeding program of Guatemala needs to identify resistant sources to the pathogen reported in the region, this is possible whenever a diverse germplasm is available. This research identified resistant sources to anthracnose using the inoculum of races 585 and 3981 of the pathogen, it was sprayed onto 216 accessions of the bush type bean. Ten percent of the accessions were resistant (scale of 1-3) to both races of the pathogen and the severity was measured using a scale 1 to 9. Resistant sources found for *C. lindemuthianum* can be useful in the dry bean breeding program in Guatemala or worldwide

Keywords: *C. lindemuthianum*, dry bean, *Phaseolus vulgaris* L. genetic resistance



Introducción

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las leguminosas más consumidas en el mundo. La producción supera los 23 millones de toneladas y casi un tercio es producido por pequeños productores de países en vías de desarrollo de África y América Latina (Broughton et al., 2003). Guatemala es el país con la más alta desnutrición crónica en Latinoamérica (Gragnolati & Marini, 2003), esta desnutrición afecta principalmente a niños menores de cinco años (Osorno, 2015). En el altiplano de Guatemala, el frijol es importante porque se considera un componente principal en la dieta de la población. Es considerado un grano básico, con un consumo per cápita de 9.4 kg (Legume Innovation Lab, 2014) y es la fuente más importante de proteína más importante del país (Akibode & Maredia, 2012).

El germoplasma nativo de frijol se utiliza en los programas de mejoramiento para generar o incrementar la resistencia a enfermedades y otras características de importancia económica para el cultivo. La antracnosis es una enfermedad causada por *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. and Magnus) Briosi y Cavara; es un hongo hemibiotrófico que daña el cultivo de frijol a nivel mundial, la enfermedad afecta varias partes de la planta. Además, puede causar pérdidas en el rendimiento de hasta un 100% cuando la semilla está infectada y las condiciones son favorables para el desarrollo de la enfermedad (Markell et al., 2012). Desafortunadamente, el problema se ve agravado debido a que los productores no cuentan con otras alternativas para controlar la enfermedad. En Guatemala, el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), mantiene una colección de frijol arbustivo colectados en varias regiones del país, y en años anteriores se ha determinado que algunos poseen resistencia a las enfermedades de la región (Cojulún, 1976). Sin embargo, no se habían utilizado razas del patógeno de *C. lindemuthianum* de manera sistemática para la detección de resistencia a este hongo. La coevolución del frijol común y el agente causal de la antracnosis se ha demostrado basada en la variabilidad genética entre las poblaciones del hospedero y el patógeno. Esta coevolución ha demostrado la existencia de un sistema que reconoce a ambos acervos genéticos del frijol, Andinos y Mesoamericanos (Balardin & Kelly, 1998). La mutación, el flujo genético de una población, y la recombinación, son mecanismos que influyen en la diversidad genética, tanto para el hospedero, como para el patógeno. Una presión de selección recíproca entre el hospedero, el patógeno y las

condiciones ambientales son las responsables de favorecer la frecuencia de genes de resistencia y virulencia (Pastor-Corrales et al., 1993). Los aislamientos de *C. lindemuthianum* colectados demostraron que existe una mayor variabilidad en la región Mesoamericana, y que existen razas del patógeno que se encontraron en esta región, pero no en la región Andina, sugiriendo que las razas coevolucionan con cultivares de una misma región (Pastor-Corrales, 1996).

Pastor-Corrales (1991) propuso un sistema estándar de 12 variedades de frijol diferenciales y con un sistema binario, con genes conocidos y cada uno pertenece a alguno de los acervos genéticos. Solo cuando la variedad diferencial muestre susceptibilidad en una escala (1-9) (Tabla 1) se asigna un valor binario, la designación de una raza es la adición del valor binario de las variedades susceptibles (Tabla 2). En la actualidad más de 100 razas de *C. lindemuthianum* se han reportado (Ferreira et al., 2013; González et al., 2015) y 21 genes de resistencia (*Co*) para antracnosis se han logrado identificar en los acervos genéticos Andino y Mesoamericano distribuidos a través de los once cromosomas del frijol, estos están localizados en el mapa genético y denominados (Pv01-Pv11) según la nomenclatura actual (Assefa et al., 2019; Ferreira et al., 2013; Zuiderveen, 2015). Guatemala por su ubicación es considerado un país fuente de alta diversidad, tanto en cultivos como en los patógenos más comunes que afectan dichos cultivos. En un estudio reciente se reportó la presencia de la raza 585, la más frecuente en el altiplano de Guatemala, y la raza 3981 de *C. lindemuthianum* en el departamento de Chimaltenango, esta última, se considera la raza más severa reportada hasta el momento en Guatemala (Maldonado-Mota, 2017).

Por lo tanto, fue necesario que el programa de mejoramiento genético del cultivo de frijol en Guatemala identificara fuentes de resistencia a razas del patógeno reportadas anteriormente para poder utilizarlas en los viveros de cruza para generación de variedades.

Materiales y métodos

Ubicación geográfica

La inoculación del patógeno a las plantas se realizó en invernaderos del Centro de Investigación del Altiplano Central (CIALC), en Chimaltenango, Chimaltenango. El inóculo del patógeno se elaboró en ICTA Central, km 21.5 carretera hacia el pacífico, Bárcena, Villa Nueva, Guatemala.

Material vegetal

En este estudio 216 accesiones de frijol arbustivo se evaluaron para poder identificar nuevas fuentes de resistencia para las razas 585 y 3981 de *C. lindemuthianum* reportadas en el altiplano de Guatemala, se utilizaron estas razas porque una es la más frecuente en varias localidades del altiplano y la otra es la más virulenta (Maldonado-Mota, 2017). Del conjunto de las plantas diferenciales estandarizadas para cuantificar la severidad de antracnosis de frijol (Tabla 2) fueron usadas las siguientes: Testigo resistente, la variedad Michigan Dark Red Kidney (MDRK) y testigo susceptible la variedad Cornell 49242 (Pastor-Corrales, 1991).

Aislamientos de *C. Lindemuthianum*

Las razas 585 y 3981 de *C. lindemuthianum* utilizadas en la evaluación para identificar plantas con resistencia al patógeno, corresponden a una colecta realizada el 2016 en el altiplano de Guatemala (Maldonado-Mota, 2017).

Crecimiento de micelio y esporulación

Para reactivar el micelio proveniente de una sola hifa, se colocó una pieza del micelio en cajas Petri medio agar + agua (20 g L⁻¹), y estreptomycin (0.01%). Las cajas Petri se incubaron durante 4-7 días en la oscuridad a 22 °C, hasta que se observó crecimiento del micelio (Castellanos et al., 2016). Después de que se reactivó el micelio, una sección del medio del cultivo que contenía al patógeno se colocó en una nueva caja Petri estéril que contenía agar + agua y hojas de frijol jóvenes esterilizadas; lo anterior con la finalidad de mejorar la esporulación del patógeno. Cada raza de *C. lindemuthianum* fue colocada en caja Petri de forma separada, la caja conteniendo el micelio y la hoja estéril se incubaron en oscuridad a 22 °C durante 15 días.

Siembra del germoplasma de frijol arbustivo del altiplano de Guatemala

Se sembraron tres plantas de cada uno de los genotipos. Los dos genotipos diferenciales y las 216 accesiones del germoplasma de frijol arbustivo fueron sembradas en bandejas de 25 x 50 cm, en medio de crecimiento (turba) y se mantuvieron en invernadero, en condiciones climáticas adecuadas para su crecimiento,

hasta que las plantas mostraron la primera hoja trifoliada (etapa vegetativa V2) (Fernández et al., 1986).

Inoculación de *C. lindemuthianum* en genotipos de frijol

Después de que la esporulación de *C. lindemuthianum* se presentó en las cajas Petri que contenían hojas de frijol estéril, se obtuvo una suspensión con esporas del patógeno de la siguiente forma: Con ayuda de una piseta se aplicaron 10 mL de agua destilada se aplicaron con una piseta en la caja petri que contenía las esporas, el medio fue frotado con una espátula estéril. La suspensión se filtró con gaza para separar partículas innecesarias (residuos de agar, etc.) de la colonia y se vertió en un beaker (Castellanos et al., 2016). Se utilizó el hemocitómetro para contar el número de esporas según el protocolo descrito por Bastidas (2017) y la concentración se ajustó a 1.2×10^6 conidias por mL. La aplicación de la suspensión en las plantas se hizo por medio de un nebulizador (o compresor de aire), y se suspendió hasta que las hojas y los tallos estuvieran mojados. Después de la inoculación las plantas se mantuvieron en una cámara húmeda (> 80%) durante un periodo de 48 h.

Después de las 48 h en cámara húmeda, las plantas se trasladaron al invernadero y los síntomas de antracnosis se observaron 10 días después, la toma de datos se realizó por la mañana para tener una mejor observación de los síntomas. La severidad de la enfermedad se calculó por medio de la escala visual estándar (1-9) para la enfermedad (van Schoonhoven & Pastor-Corrales, 1987). Las plantas resistentes se cuantifican con un valor de 1-3 y las plantas susceptibles de 4-9 (Tabla 1).

Procesamiento y análisis de información

Los datos de severidad fueron tomados en el CIALC, en Chimaltenango, Chimaltenango. Para la identificación de resistencia del germoplasma a antracnosis se utilizó el modelo estadístico bloques completamente al azar: $y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$ donde: y_{ij} : variable de respuesta observada o media en la ij -ésima unidad experimental, μ : es la media general. τ_i : es el efecto del i -ésimo nivel del tratamiento en la variable dependiente, β_j = efecto del j -ésimo bloque en la variable dependiente. ε_{ij} = error experimental asociado a la ij -ésima unidad experimental. El número de repeticiones fue de tres y cada repetición estaba conformada por

Tabla 1*Escala para evaluar la severidad de antracnosis*

Escala	Fenotipo	Síntomas
1	Resistente	No visible
2	Resistente	Lesiones muy pequeñas en tallo, hojas y venas
3	Resistente	Lesiones pequeñas en tallo, hojas y venas.
4-5	Susceptible	Presencia de varias lesiones pequeñas en tallo, hojas y venas
6-7	Susceptible	Numerosas lesiones en tallo, hojas y venas, evidente lesión necrótica
8	Susceptible	Daño necrótico severo en tallos, hojas y venas
9	Susceptible	Necrosis severa y muerte de la planta

11 bandejas plásticas (cada bandeja con veinte genotipos) y cada bandeja contenía un testigo susceptible y un testigo resistente. La unidad experimental estaba constituida por tres plantas de cada genotipo. Se hizo un experimento independiente con 216 accesiones de frijol arbustivo con cada raza de *C. lindemuthianum*. La variable de respuesta cuantificada fue la severidad de la enfermedad.

Para el análisis estadístico de la resistencia a antracnosis se utilizó una media de mínimos cuadrados (LSMeans), sobre el resultado de la variable severidad, se utilizó el software Infostat® y se determinó que accesiones son resistentes a cualquiera de las dos razas del patógeno (A1).

Resultados

Determinación de fuentes de resistencia del germoplasma arbustivo

De un total de 216 accesiones inoculadas con la raza 585 de *C. lindemuthianum*, 67 presentaron resistencia de acuerdo la escala estándar visual de severidad (escala 1-3) para antracnosis (A1), 71 fueron moderadamente resistentes (escala 4-6) y 78 fueron susceptibles (escala 7-9). Lo que significa que el 31% del germoplasma es resistente para esta raza del patógeno. Con la raza 3981 de *C. lindemuthianum* el ger-

moplasma de frijol arbustivo reaccionó de la siguiente forma: 21 accesiones presentaron resistencia (escala 1-3), 47 fueron moderadamente resistentes (escala 4-6) y 148 susceptibles (escala 7-9); esto significa que el 9.7% del germoplasma es resistente para esta raza del patógeno (A1). El total de accesiones resistentes (escala 1 de severidad) a ambas razas del patógeno fueron 11 (Tabla 3), representando el 5%, las cuales, no presentaron síntomas visibles.

Identificación de parentales con resistencia a antracnosis

Según el análisis realizado para ambas razas 585 y 3981 de *C. lindemuthianum*, las líneas que presentaron valores de 1 a 3 según la escala estándar visual de severidad para antracnosis, son resistentes. Ya que la raza 3981 del patógeno, es más virulenta que la raza 585, los parentales seleccionados fueron aquellos que presentaron resistencia (1-3) a ambas razas según la escala visual estándar (Tabla 2).

De las accesiones que resultaron resistentes para ambas razas, varias fueron seleccionadas debido a sus características agronómicas (Tabla 4): La accesión Guate-1339 presenta 56 días a floración y 128 días a cosecha (Cojulún, 1976), son un poco más tardíos que los testigos comerciales de frijol arbustivo del ICTA para el altiplano, pero el peso de 100 semillas (35.4g) es superior a los testigos comerciales. La accesión Vaina

Blanca, es una línea con 41 días a floración y 95 días a cosecha y se puede comparar con el testigo ICTA Texel, el más precoz de los testigos comerciales para el altiplano. En peso de 100 semillas de Vaina Blanca, es similar a ICTA Texel. La accesión Guate-560, es superior en peso de 100 semillas (28.4 g) a todos los testigos comerciales de ICTA, es más tardío en su floración (60 días), pero en días a cosecha es precoz (95 días). La accesión La Estancia-89, presenta precocidad similar al testigo ICTA Texel, y presenta un peso de 100 semillas superior (28.4 g) a los testigos comerciales. Rabinal-118, tiene un peso de 100 semillas superior (31 g) a los testigos comerciales, en días a floración es tardío (48 días) en comparación a los

testigos, pero en días a cosecha es precoz (101 días). La accesión Guate-542, también tiene un peso de 100 semillas superior (33.4 g) a los testigos comerciales del ICTA, pero es tardío a floración (68 días), aunque según los registros, la cosecha se hace a los 93 días. Guate-546, con un peso de 100 semillas superior (29.4 g) a los testigos comerciales tiene 62 días a floración y 95 días a cosecha muy similares a Guate-542, esto significa que estas dos accesiones son precoces para la cosecha en comparación a los testigos del ICTA. Por último, la accesión Guate-167 tiene un peso de 100 semillas superior (27.2 g) al testigo ICTA Texel, pero es similar en precocidad para floración (40 días) y cosecha (70 días).

Tabla 2

Líneas diferenciales, código binario, genes de resistencia, acervo genético, cromosomas, de los cultivares utilizados para caracterizar las razas de Colletotrichum lindemuthianum

Líneas diferenciales	Código binario*	Genes de resistencia	Acervo genético**	Cromosoma
Michelite	1	<i>Co-11</i>	MA	Pv03
Michigan Dark Red Kidney	2	<i>Co-1</i>	A	Pv01
Perry Marrow	4	<i>Co-1³</i>	A	Pv01
Cornell 49-242	8	<i>Co-2</i>	MA	Pv11
Widusa	16	<i>Co-1⁵</i>	A	Pv01
Kaboon	32	<i>Co-1²</i>	A	Pv01
Mexico 222	64	<i>Co-3</i>	MA	Pv04
PI 207262	128	<i>Co-3³, Co-4³</i>	MA	Pv04, 08
TO	256	<i>Co-4</i>	MA	Pv08
TU	512	<i>Co-5</i>	MA	Pv07
AB 136	1024	<i>Co-6, co-8</i>	MA	Pv07, ND
G2333	2048	<i>Co-4², Co-3⁵, Co-5²</i>	MA	Pv04,08, 07

Nota. *Código binario: La designación de la raza es el resultado de la adición del valor binario de cada diferencial susceptible. ** MA: Mesoamericano; A: Andino. ND: No disponible.

Tabla 3

Genotipos resistentes (escala 1) del germoplasma de frijol arbustivo de Guatemala a las razas 585 y 3981 de C. lindemuthianum

Orden	Entrada	LS Mean Raza 585	LS Mean Raza 3981	Color de grano
81	Guate-547	1	1	Negro
89	Guate-560	1	1	Negro
154	Guate-1339	1	1	Negro
163	Vaina Blanca	1	1	Negro
197	Tac Tic-110	1	1	Negro
209	Kaka Kinac	1	1	Rojo
83	Guate-550	1	1	Negro
136	Guate-681	1	1	Negro
190	La Estancia-89	1	1	Negro
202	Rabinal-118	1	1	Negro
78	Guate-542	1	1	Negro

Discusión

Determinación de fuentes de resistencia del germoplasma arbustivo

La raza 585 es la más frecuente en el altiplano de Guatemala y es virulenta a los genes de resistencia *Co-2*, *Co-3*, *Co-5*, y *Co-11*. La raza 3981 es la más virulenta reportada en Guatemala, a los genes de resistencia *Co-13*, *Co-2*, *Co-3^s*, *Co-3⁵*, *Co-4*, *Co-4²*, *Co-Co-4³*, *Co-5*, *Co-6*, *Co-8*, *Co-11*, supera casi a todos los genes de resistencia del acervo genético Mesoamericano conocido en las diferenciales estándar (Maldonado-Mota, 2017). Es importante señalar que esta raza es virulenta a la diferencial Perry Marrow, la cual contiene *Co-1³* un gen del acervo genético Andino (Melotto & Kelly, 2000), y también fue virulenta a G2333 una diferencial estándar de antracnosis que es muy utilizada para brindar una amplia resistencia a razas de *C. lindemuthianum* de origen mesoamericano (Pastor-Corrales et al., 1994). La raza 3981 también fue virulenta a Jalo Listras Pretas (*Co-13*), Corinthiano (*Co-15*), Paloma (*Co-Pa*), Amendoim Cavallo (*Co-AC*) y Perla

(*Co-Pe*) (Maldonado-Mota, 2017). Es de mencionar que la raza 3981 de *C. lindemuthianum* es menos virulenta con la diferencial México 222 (Mexique 1), la cual contiene *Co-3*.

El germoplasma de frijol arbustivo se ha mantenido almacenado en la estación experimental del ICTA, en el Centro de Investigación del Altiplano Central (CIALC), ubicado en La Alameda, Chimaltenango, pero sin haber sido evaluado con alguna raza de *C. lindemuthianum* de una forma sistematizada, para poder determinar potenciales fuentes de resistencia. Después de haber caracterizado la resistencia de los genotipos se puede deducir que, debido a la reacción de las diferenciales estándar de antracnosis, los únicos genes disponibles para la resistencia de la raza 3981 del patógeno, son genes de origen Andino, que contengan *Co-1*, *Co-1²*, *Co-1⁴*, *Co-1⁵*, *Co-12*, *Co-14*, y *Co-18* (Alzate-Marin et al., 2003; Balardin & Kelly, 1998; Freyre et al., 1998; Gonçalves-Vidigal et al., 2003; Melotto & Kelly, 2000; Mendoza et al., 2001; Schwartz et al., 1982; Vallejo et al., 2003).

Las líneas que presentan resistencia serán evaluadas posteriormente para poder determinar el locus que esté involucrado, lo anterior, con la ayuda de

Tabla 4

Características de líneas resistentes del germoplasma de frijol arbustivo de Guatemala y líneas comerciales de ICTA

Orden	Entrada	Severidad Raza 585 ³	Severidad Raza 3981	Color de Grano	DAF ¹	DAC ²	Habito de crecimiento	Peso 100 granos (g)
81	Guate-547	1	1	Negro	63	95	II	24.6
89	Guate-560	1	1	Negro	60	95	I	28.4
154	Guate-1339	1.11	1	Negro	56	128	II	35.4
163	Vaina Blanca	1	1	Negro	41	95	-	27.2
197	Tac Tic-110	1.39	1	Negro	38	100	III	20.2
209	Kaka Kinac	1.28	1	Rojo	-	-	-	22.0
83	Guate-550	1.25	1.1	Negro	50	93	I	27.4
53	Guate-421	1.83	1.21	Negro	59	93	II	20.7
136	Guate-681	1	1.21	Negro	50	128	I	26.0
200	Salamá-116	2.33	1.21	Rojo	48	98	II	27.6
190	La Estancia-89	1	1.22	Negro	46	101	I	28.4
202	Rabinal-118	1	1.42	Negro	48	98	II	31.0
78	Guate-542	1	1.46	Negro	68	93	I	33.4
23	Guate-161	1	2.66	Negro	78	160	I	28.0
90	Guate-561	1.11	2.67	Negro	60	95	I	25.0
80	Guate-546	2.39	2.93	Negro	62	95	II	29.4
24	Guate-167	1	2.97	Rojo	40	70	I	27.2
-	ICTA Altense	9	9	Negro	50	120	II	26.3
-	ICTA Hunapú	9	9	Negro	50	120	II	28.2
-	ICTA Texel	9	9	Negro	40	100	III	27.1
-	ICTA Superchiva	9	9	Negro	45	120	II	22.4

Nota. ¹DAF = Días a floración; ²DAC = Días a cosecha; ³La severidad de las razas de *C. lindemuthianum* está en la escala 1-9 donde 1 es completamente resistente y 9 completamente susceptible.

marcadores moleculares ligados a genes de resistencia reportados (Kelly & Vallejo, 2004). Los marcadores moleculares pueden ser utilizados para realizar un tamizado de los genotipos que mostraron resistencia, para determinar la existencia de un locus *Co* reportado con anterioridad o un posible locus que no haya sido re-

portado. En Pv01 se han reportado regiones genómicas que están involucradas en la resistencia de patógenos, éstas son útiles para determinar la existencia de genes *Co* de origen Andino (Gepts, 1988; Kelly & Vallejo, 2004), mientras que en los demás cromosomas se ha reportado la existencia de genes *Co* de origen Meso-

americano (Kelly & Vallejo, 2004). El germoplasma evaluado en este estudio proviene de frijoles arbustivos de origen Mesoamericano y es posible que la diversidad en estos genotipos tenga genes existentes en Pv01 que no han sido estudiados, o que existan genotipos que hayan sido introducidos con anterioridad y sean de origen Andino (Beebe et al., 2000; Singh et al., 1991). También es probable que exista un nuevo locus involucrado en la resistencia que aún no ha sido reportado. En virtud de que el centro de origen del frijol es Mesoamérica, es posible que en este germoplasma existan genotipos a nivel nacional con regiones conservadas del acervo genético Andino que ofrezcan resistencia a patógenos en la región del cromosoma Pv01. O bien, la coevolución entre el hospedero y el patógeno permitió que la planta fijara genes de resistencia. Esta investigación demuestra que el germoplasma de frijol arbustivo de Guatemala se puede explotar para encontrar resistencia contra *C. lindemuthianum*. Por lo tanto, se recomienda que el germoplasma sea evaluado con otros factores bióticos y abióticos que afectan la producción del cultivo. También es recomendable que se realice un estudio para determinar la variabilidad genética de este germoplasma.

Identificación de parentales con resistencia a antracnosis

Las líneas que presentaron una amplia resistencia, color de grano negro opaco y con semilla de tamaño aceptable, fueron seleccionadas y podrían utilizarse en los bloques de cruzamiento de frijol del ICTA. En la Tabla 4 se observa que hay 9 genotipos de frijol arbustivo de grano negro con valores de 1 o cercano (resistente), y dos de color rojo con el mismo valor de resistencia. Los otros genotipos con valor por encima de dos se considera que siguen siendo resistentes.

En la actualidad, para el altiplano de Guatemala existen cuatro variedades comerciales de frijol arbustivo (ICTA Hunapú, ICTA Texel, ICTA Superchiva, ICTA Altense) y ninguna de ellas es resistente a las dos razas del patógeno utilizadas en este estudio.

Es recomendable evaluar en campo las accesiones identificadas como posibles parentales, para poder corroborar los datos anteriormente mencionados, también los datos de arquitectura de planta y rendimiento ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$) previo a ser utilizados en los bloques de cruas.

Una de las fuentes de resistencia utilizadas en bloques de cruzamientos en el ICTA, ha sido la dife-

rencial estándar de antracnosis G2333, que contiene los genes *Co-4²*, *Co-5²* y *Co-3⁵*, también conocida como Colorado de Teopisca, procedente de Chiapas, México, es una planta de hábito de crecimiento tipo IV (frijol de enredo), con semilla de color rojo brillante y tamaño pequeño (Pastor-Corrales et al., 1994). Sin embargo, al utilizar un genotipo de frijol voluble (tipo IV) y un frijol arbustivo (tipo II), en un bloque de cruas, se presentan ciertos inconvenientes, la sincronía floral es un problema, el frijol tipo IV tiene una floración más tardía en comparación a un frijol con hábito de crecimiento tipo II (White & Singh, 1991). Sin embargo, en las nuevas fuentes de resistencia encontradas en este estudio, la floración es similar, entonces esto evita problemas con la sincronía floral de los materiales a cruzar. Otra ventaja de las accesiones seleccionadas es que presentan grano de color negro opaco, el color negro en la semilla de frijol está definido por el gen *P* mientras que el gen *V* en presencia del gen *P* determina el color morado de la flor, por lo tanto, un cruzamiento entre plantas con granos de color negro provenientes de flores moradas únicamente segregará semillas de color negro. El brillo de la semilla está definido por el gen *Asp* si este gen se encuentra en forma homocigota recesiva la semilla será opaca. (Beninger et al., 2000; McClean et al., 2002) Esto significa que habrá más posibilidades de obtener genotipos con resistencia y con grano que tenga características de interés. Por lo tanto, la línea G2333 podría seguir utilizándose para realizar cruzamientos con genotipos de frijol tipo IV (enredo) y utilizar las nuevas fuentes de resistencia para cruzamiento de genotipos arbustivos tipo II. Así mismo, se recomienda no utilizar solo una fuente de resistencia contra el agente causal de antracnosis, para evitar la pérdida de resistencia a través del tiempo.

Se recomienda realizar más evaluaciones con otras razas del patógeno *C. lindemuthianum* en los genotipos resistentes con valor 1 según la escala visual de severidad, para determinar la amplitud de la resistencia, asimismo empezar estudios para identificar el gen que confiere la resistencia y utilizar las plantas resistentes en cruas útiles para el mejoramiento del frijol común en Guatemala. Los resultados obtenidos en este estudio, nos permite establecer que el germoplasma de frijol arbustivo del altiplano de Guatemala es una potencial fuente de resistencia contra la virulencia de las dos razas del patógeno evaluadas. Se sugiere usar poblaciones de líneas endogámicas recombinadas o F2 y utilizar selección asistida por marcadores moleculares (SAM), para la determinación del locus involucrado en la resistencia de los genotipos. También es necesario

realizar la secuenciación del germoplasma de frijol arbustivo del altiplano de Guatemala para determinar regiones genómicas asociadas a la resistencia de patógenos. Las líneas de frijol resistentes a las dos razas de *C. lindemuthianum* seleccionadas en esta investigación, pueden ser utilizadas para hacer introgresión de resistencia en líneas de interés, no solo del programa de mejoramiento de frijol común de Guatemala, sino en otros programas de mejoramiento a nivel mundial.

Agradecimientos

Esta investigación fue cofinanciada por Digi-Usac 2019, proyecto: 4.8.63.4.46. Agradecemos la colaboración de las siguientes personas: Ángela Miranda, José Carlo Figueroa, Daniel Coc, Tomás Yancos, Roberto Carlos Argueta.

Contribución de los autores

Coordinación, elaboración y revisión del Documento: CMM, MGTP

Diseño de la recolección de datos o del trabajo en campo: CMM

Recolección o contribución de datos o realización del trabajo de campo: CMM

Limpieza, sistematización, análisis o visualización de datos: MGTP

Participación en análisis de datos, estructura y en la escritura del documento: JCVM

Materiales suplementarios

Los materiales suplementarios de este artículo se encuentran en la página web de la revista a través <https://doi.org/10.36829/63CTS.v10i1.1003>

Referencias

- Akibode, C. S., & Maredia M. K. (2012, October 12). *Global and regional trends in production, trade and consumption of food legume crops* (Staff Paper No. 2012-10). Michigan State University, Department of Agricultural, Food and Resource Economics. <https://doi.org/10.22004/ag.econ.136293>
- Alzate-Marin, A. L., Costa, M. R., Arruda, K. M., De Barros, E. G., & Moreira, M. A. (2003). Characterization of the anthracnose resistance gene present in Ouro Negro (Honduras 35) common bean cultivar. *Euphytica*, *133*(2), 165-169. <https://doi.org/10.1023/A:1025551006444>
- Assefa, T., Mahama, A. A., Brown, A. V., Cannon, E. K., Rubyogo, J. C., Rao, I. M., Blair, M. W. & Cannon, S. B. (2019). A review of breeding objectives, genomic resources, and marker-assisted methods in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Molecular Breeding*, *39*(2), 20. <https://doi.org/10.1007/s11032-018-0920-0>
- Balardin, R. S., & Kelly, J. D. (1998). Interaction between *Colletotrichum lindemuthianum* races and gene pool diversity in *Phaseolus vulgaris*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *123*(6), 1038-1047. <https://doi.org/10.21273/JASHS.123.6.1038>
- Bastidas, O. (2017). *Cell counting with Neubauer Chamber basic hemocytometer usage* (Technical note). <https://mural.uv.es/basgaros/Cell-counting-Neubauer-chamber.pdf>
- Beebe, S., Skroch, P. W., Tohme, J., Duque, M. C., Pedraza, F., & Nienhuis, J. (2000). Structure of genetic diversity among common bean landraces of Middle American origin based on correspondence analysis of RAPD. *Crop Science*, *40*(1), 264-273. <https://doi.org/10.2135/cropsci2000.401264x>
- Beninger, C. W., Hosfield, G. L., Bassett, M. J., & Owens, S. (2000). Chemical and morphological expression of the B and Asp seedcoat genes in *Phaseolus vulgaris*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *125*(1), 52-58. <https://doi.org/10.21273/JASHS.125.1.52>
- Broughton, W. J., Hernandez, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., & Vanderleyden, J. (2003). Beans (*Phaseolus spp.*) – model food legumes. *Plant and Soil*, *252*(1), 55-128. <https://doi.org/10.1023/A:1024146710611>
- Castellanos, G., Jara, C., & Mosquera, G. (2016). *Bean pathogens: Practical guide for lab and greenhouse work* (2a. ed.). Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Cojulún, R. (1976). *Libro de campo evaluación de germoplasma de frijol arbustivo y voluble*. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas.
- Fernández, O., Fernando, O., Gepts, P. L., López Genes M., & Arregocés, O. (1986). *Stages of*

- development of the common bean plant*. Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Ferreira, J. J., Campa, A., & Kelly, J. D. (2013). Organization of genes conferring resistance to anthracnose in common bean. En R. Varshney & R. Tuberosa (Eds.), *Translational Genomics for Crop Breeding, Vol I: biotic stress* (pp.151-181). Wiley-Blackwell.
- Freyre, R., Skroch, P. W., Geffroy, V., Adam-Blondon, A. F., Shirmohamadali, A., Johnson, W. C., Llaca, V., Nodari, R. O., Pereira, P. A., Tsai, S.-M., Tohme, J., Dron, M., Nienhuis, J., Vallejos, C. E. & Gepts, P. (1998). Towards an integrated linkage map of common bean. 4. Development of a core linkage map and alignment of RFLP maps. *Theoretical and Applied Genetics*, 97(5-6), 847-856. <https://doi.org/10.1007/s001220050964>
- Gepts, P. (1988). A Middle American and an Andean common bean gene pool. En *Genetic resources of Phaseolus beans* (pp. 375-390). Springer Dordrecht. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-2786-5>
- González, A. M., Yuste-Lisbona, F. J., Rodiño, A. P., De Ron, A. M., Capel, C., García-Alcázar, M., Lozano, R., & Santalla, M. (2015). Uncovering the genetic architecture of *Colletotrichum lindemuthianum* resistance through QTL mapping and epistatic interaction analysis in common bean. *Frontiers in Plant Science*, 6, 141. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00141>
- Gonçalves-Vidigal, M. C., Vallejo, V., & Kelly, J. D. (2003). *Charaterization of the anthracnose resistance in the differential cultivar Widusa*. En Bean Improvement. Cooperative (No. 46).
- Gragnotati, M., & Marini, A. (2003). *Malnutrition and poverty in Guatemala* (Vol. 2967). World Bank Publications.
- Kelly, J. D., & Vallejo, V. A. (2004). A comprehensive review of the major genes conditioning resistance to anthracnose in common bean. *HortScience*, 39(6), 1196-1207. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.39.6.1196>
- Legume Innovation Lab. 2014. *Report Feed the Future Innovation Lab for Collaborative Research on Grain Legumes: Fiscal Year 2014 Report*. United States Agency for International Development. http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PA00KR44.pdf
- Maldonado Mota, C. R. (2017). *Identification of new sources of resistance to anthracnose in climbing bean germplasm from Guatemala* [Tesis de maestría, North Dakota State University]. <https://hdl.handle.net/10365/28547>
- Markell, S., Wunsh, M., & del Rio, L. (2012). *Anthracnose of dry beans*. NDSU Extension Service. North Dakota Agricultural Experiment Station.
- McClellan, P. E., Lee, R. K., Otto, C., Gepts, P., & Bassett, M. J. (2002). Molecular and phenotypic mapping of genes controlling seed coat pattern and color in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Heredity*, 93(2), 148-152. <https://doi.org/10.1093/jhered/93.2.148>
- Melotto, M., & Kelly, J. D. (2000). An allelic series at the *Co-1* locus conditioning resistance to anthracnose in common bean of Andean origin. *Euphytica*, 116(2), 143-149. <https://doi.org/10.1023/A:1004005001049>
- Mendoza, A., Hernández, F., Hernández, S., Ruíz, D., de la Vega, O. M., Mora, G., Acosta, J., & Simpson, J. (2001). Identification of *Co-1* anthracnose resistance and linked molecular markers in common bean line A193. *Plant Disease*, 85(3), 252-255. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.3.252>
- Osorno, J. M. (2015). *Genetic improvement of Middle-American climbing beans in Guatemala* (SO1. A1). Feed the Future, Legume Innovation Lab. https://www.canr.msu.edu/legumelab/uploads/files/SO1.A1-FY2015_Annual_Technical_Progress_Report_Leg_Innovation_Lab.pdf
- Pastor-Corrales, M. A. (1991). Estandarización de variedades diferenciales y de designación de razas de *Colletotrichum lindemuthianum*. *Phytopathology*, 81(6), 694.
- Pastor-Corrales, M. A. (1996). Traditional and molecular confirmation of the coevolution of beans and pathogens in Latin America. *Bean Improvement Cooperative*, 39, 46-47.
- Pastor-Corrales, M. A., Erazo, O. A., Estrada, E. I., & Singh S. P. (1994). Inheritance of anthracnose resistance in common bean accession G 2333. *Plant*

- Disease*, 78(10), 959-961. <https://doi.org/10.1094/PD-78-0959>
- Pastor-Corrales, M. A., Otoyá, M. M., & Maya, M. M. (1993). Diversidad de la virulencia de *Colletotrichum lindemuthianum* en Mesoamérica y la Región Andina. *Fitopatología*, 17(1-2), 31-38.
- Schwartz, H. F., Corrales, M. P., & Singh, S. P. (1982). New sources of resistance to anthracnose and angular leaf spot of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica*, 31(3), 741-754. <https://doi.org/10.1007/BF00039213>
- Singh, S. P., Gepts, P., & Debouck, D. G. (1991). Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Economic Botany*, 45(3), 379-396. <https://doi.org/10.1007/BF02887079>
- van Schoonhoven, A., & Pastor-Corrales, M. A. (1987). *Standard system for the evaluation of bean germplasm*. Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Vallejo, V. A., Awale, H. E., & Kelly, J. D. (2003). Characterization of the anthracnose resistance in the Andean bean cultivar Jalo EEP558. *Bean Improvement Cooperative*, 44, 179-180.
- White, J. W., & Singh, S. P. (1991). Sources and inheritance of earliness in tropically adapted indeterminate common bean. *Euphytica*, 55(1), 15-19. <https://doi.org/10.1007/BF00022554>
- Zuiderveen, G. H. (2015). *The genetics of anthracnose resistance in common bean*. Michigan State University [Tesis de maestría, Michigan State University]. MSU Libraries Digital Repository. <https://d.lib.msu.edu/etd/3637>