

Rendimiento y Reacción a *Colletotrichum lindemuthianum* en Cultivares de Fríjol Voluble (*Phaseolus vulgaris* L.)

Yield and Reaction to *Colletotrichum lindemuthianum* in Cultivars of Climbing Beans (*Phaseolus vulgaris* L.)

Carolina Gallego G.¹; Gustavo Adolfo Ligarreto Moreno²; Luz Nayibe Garzón Gutiérrez³; Oscar Arturo Oliveros Garay⁴ y Linda Jeimmy Rincón Rivera⁵

Resumen. Bajo condiciones de la sabana de Bogotá (Colombia), se evaluaron 32 cultivares de frijol voluble por componentes del rendimiento y por su reacción a una mezcla de aislamientos de *Colletotrichum lindemuthianum* procedentes de Boyacá y Cundinamarca. Los genotipos que presentaron un buen comportamiento en rendimiento y una reacción en campo a la resistencia de la enfermedad fueron: D. Moreno y 3198. Los que expresaron una reacción de resistencia a la antracnosis fueron: 3180, 3182, 3177 y G-2333. Aquellos que mostraron un buen comportamiento en componentes de rendimiento fueron: 3164, 3159, 3176 y Radical. Estos genotipos podrían usarse como posibles candidatos parentales ó sobresalientes en el programa de mejoramiento de frijol. También se realizó análisis de dos marcadores moleculares tipo SCAR ligados a los genes **Co-4** y **Co-5** que confieren resistencia a *C. lindemuthianum*, ninguno de los materiales de evaluación a excepción del testigo resistente G-2333, amplificó los marcadores SCAR, asociados a los genes de resistencia de interés.

Palabras clave: Antracnosis, reacción a enfermedad, rendimiento, SCAR.

Abstract. Under Bogotá plateau (Colombia) conditions, 32 cultivars of climbing bean were evaluated by components of yield and by reaction with a mixture of isolations of *Colletotrichum lindemuthianum* coming from Boyacá and Cundinamarca. The cultivars that presented a good behavior in yield and resistance reaction to the disease were: D. Moreno and 3198. Those that expressed a resistant reaction to the anthracnose were: 3180, 3182, 3177 and G-2333. Finally those that showed a good behavior in yield components were 3164, 3159, 3176 and Radical. These genotypes could be used as excellent candidates in the breeding program of common bean. It was also carried out a test for each cultivar, by means of two markers molecular type SCAR tied to resistance genes to anthracnose **Co-4** and **Co-5**. Any of the evaluation materials amplified for the couple of genes, except for the resistant control G-2333.

Key words: Anthracnose, disease reaction, yield, SCAR.

El frijol común es la leguminosa comestible más importante en la dieta alimenticia de la población colombiana. En el país se estima que participan 65.000 familias en la producción, con área de siembra cercana a 115.000 ha/año (Pachón, Gracia y Ligarreto, 2009), una producción alrededor de 130.000 t y un consumo por persona año de 3,5 kg (Ligarreto, 1997). El frijol tipo voluble en sistema de monocultivo es el más predominante; con un aporte cercano al 65% en el total de la producción nacional (Santana y Mahuku, 2002).

La antracnosis cuyo agente causal es el hongo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Mag.) es considerada como la enfermedad más limitante en el cultivo del frijol (Pastor-Corrales *et al.*, 1994; Molano, Otoy y Pastor-Corrales, 1996). Esta enfermedad ocasiona pérdidas en el rendimiento que oscilan entre 38 y 95%, según la susceptibilidad del cultivar (Guzmán, Donado y Gálvez, 1979; Tamayo, 1995) y afecta principalmente la calidad de las vainas y el grano (Santana y Mahuku, 2002).

¹ Ingeniera Agrónoma. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Facultad de Agronomía. Carrera 45 No. 26-85, Bogotá, Colombia. <cgallegog@unal.edu.co>

² Profesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Facultad de Agronomía. Carrera 45 No. 26-85, Bogotá, Colombia. <galigarretom@unal.edu.co>

³ Estudiante de Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Facultad de Agronomía. Carrera 45 No. 26-85, Bogotá, Colombia. <lgarzong@unal.edu.co>

⁴ Profesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Facultad de Agronomía. Carrera 45 No. 26-85, Bogotá, Colombia. <oaoliverosg@unal.edu.co>

⁵ Estudiante Doctorado en Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Facultad de Agronomía. Carrera 45 No. 26-85, Bogotá, Colombia. <ljinconr@unal.edu.co>

Recibido: Agosto 31 de 2009; Aceptado: Febrero 2 de 2011.

Dentro de las técnicas de manejo de la enfermedad, la resistencia varietal es considerada la más deseable y práctica de emplear (Cobo y Pastor-Corrales, 1987). En este aspecto se han venido adelantado numerosos estudios encaminados a la búsqueda de fuentes de resistencia a partir de técnicas clásicas como inoculaciones en campo e invernadero (Schwartz, Pastor-Corrales y Sing, 1982; Singh, 1998; Santana y Mahuku, 2002; Santana *et al.*, 2004), así como también con técnicas modernas como la selección asistida por medio de marcadores moleculares (Santana *et al.*, 2004; Garzón, Blair y Ligarreto, 2007). Actualmente se han diseñado marcadores moleculares cada vez más específicos como los SCAR (Regiones Amplificadas Caracterizadas y Secuenciadas) utilizados para la selección por resistencia a antracnosis en fríjol (Garzón, Blair y Ligarreto, 2007).

La información obtenida sugiere que en el fríjol común, la resistencia a la antracnosis es controlada por un pequeño grupo de genes independientes (Melotto y Kelly, 1998). Se conocen once genes de resistencia al patógeno, la mayoría identificados en las variedades diferenciales (*Co-1-Co-7*, *co-8*, *Co-9-Co-11*) (Goncalves-Vidigal *et al.*, 2007; Kelly y Vallejo, 2004). Todos los genes son de naturaleza dominante con la excepción del gen *Co-8*, el cual es recesivo; de ellos solo el *Co-1* es de origen Andino, los demás son del acervo Mesoamericano (Kelly y Vallejo, 2004).

Los estudios relacionados con la diversidad y estructura genética de las poblaciones del patógeno, han mostrado una amplia variación patogénica del hongo en América Latina, siendo los aislamientos procedentes de esta región muy virulentos (Pastor-Corrales, Otoy y Maya, 1993). Sin embargo, muchos de los datos no son comparables por la variación en el uso de las variedades diferenciales (Pastor-Corrales, 1985). Sólo hasta el año de 1989, en la primera reunión de fríjol en América Latina, se estandarizó la caracterización de las razas, acordando emplear el sistema binario proveniente del juego de las 12 variedades diferenciales (Riascos, 2001).

Rincón (2007) evaluó 127 aislamientos monospóricos de *C. lindemuthianum* provenientes de diferentes departamentos de Colombia: Cundinamarca, Boyacá, Santander, Antioquia, Cauca y Valle. Este estudio permitió establecer 35 patotipos (razas) de las cuales la raza 3 fue la que se encontró con mas frecuencia (30,4%) y se identificó en todos los departamentos. Las razas 0, 1, 7, 13, 133, 137, 139, 521 y 645 se identificaron en dos o más departamentos. Antioquia,

Cauca y Cundinamarca presentaron los valores más altos de variabilidad para este patógeno (índices de Shanon 2,62; 2,51 y 2,17 respectivamente). Las razas identificadas con mayor frecuencia varían en cada departamento, de esta manera por ejemplo para los departamentos de Antioquia, Boyacá y Cauca, las razas que se presentaron con mayor frecuencia fueron la 13, 1 y 521.

En el programa de mejoramiento de fríjol en Colombia, se han obtenido 4 cultivares tipo Cargamanto con reacción resistente ó intermedia a la antracnosis, los cuales son ICA Viboral, ICA-Llanogrande, Frijolica LS-3.3 y las 106 (Santana *et al.*, 2004). Sin embargo, se ha observado que la reacción resistente de estas variedades no es estable; se considera que las variedades resistentes a una o varias razas no lo son necesariamente en otra localidad o año (Pastor-Corrales, Otoy y Maya 1993). No se conoce si los cambios ocurridos en la reacción de las variedades al patógeno, se deba a modificaciones en la frecuencia de las razas existentes o a la aparición de nuevas razas por mutación o por migración (Pastor-Corrales, Otoy y Maya, 1993). Esto implica la necesidad de obtener materiales con resistencia durable (Santana *et al.*, 2004).

El objetivo de esta investigación fue evaluar 30 cultivares de fríjol voluble, tipos Bola Rojo y Crema-Rojo Moteado y dos controles, frente al rendimiento y a la reacción a antracnosis e identificar marcadores moleculares tipo SCAR (Sequence Characterised Amplified Region) ligados a los genes de resistencia a antracnosis *Co-4* y *Co-5*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Se utilizaron 30 cultivares de fríjol voluble procedentes del banco de germoplasma que administra la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA, Centro de Investigación (C.I.) Tibaitatá ubicado en el municipio de Mosquera, Cundinamarca y dos controles habichuela Lago Azul y G-2333. Estos cultivares fueron seleccionados previamente por su alto rendimiento, calidad del grano y por reacción de resistencia intermedia a la antracnosis presentada bajo condiciones de campo. Entre los materiales, 24 son líneas de mejoramiento (Tabla 1), constituidos por 21 genotipos de tipo Bola Rojo y 3 del tipo Crema-Rojo Moteado. Así mismo, se seleccionaron 6 cultivares comerciales, los cuales fueron: Cargamanto, Agrario, Radical, Bola Rojo

Comercial, Bola Rojo Pesca y D. Moreno. La variedad de habichuela Lago Azul se empleó como testigo susceptible y la variedad diferencial de frijol G-2333 como el testigo resistente.

Tabla 1. Cultivares de frijol voluble evaluados por su reacción a la antracnosis, provenientes de CORPOICA, C.I Tibaitatá.

Genotipos en evaluación			
Código	Nombre	Código	Nombre
100303157	Bola Rojo 2 M-5	100303182	Rubo Sel 12-M(5)
100303158	Bola Rojo 2-M-M	100303200	Sangre Toro (Pequeño)
100303159	Bola Rojo 5-M-M	100303134	Sangre Toro (Umbita)
100303160	Bola Rojo 6-M-M	100303115	Frijol de Cajicá
100303161	Bola Rojo 10M(3)	100303187	Rojo Simijaca 1-M(3)
100303164	Bola Rojo 18-M-M	100303188	32980-M(8) 5Cruzamiento
100303168	Bola Rojo 32M(3)	100303194	Bola Rojo
100303169	Bola Rojo 33-MM	100303198	Rosado Sabanero
100303171	Bola Rojo 39-1-M-M	100303199	Sangre Toro (Grande)
100303173	Bola Rojo 49-M-M	100303108	Radical
100303174	Bola Rojo 50M(3)	G-2333	Variedad Diferencial
100303175	Bola Rojo 52 -M-M	100303192	Agrario
100303176	Bola Rojo 1M (4)		D. Moreno
100303177	Bola Rojo 2M(3)		Bola Rojo Comercial
100303179	Bola Rojo 2-M(3)-1-M(3)		Bola Rojo Comercial
100303180	Bola Rojo 2-M(7)		Habichuela Lago Azul

Obtención del inóculo: Los aislamientos de *C. lindemuthianum* empleados en este estudio, fueron obtenidos de vainas de frijol Bola Rojo que mostraron síntomas típicos de la enfermedad en condiciones naturales. Dos muestras fueron tomadas de cultivos ubicados en Simijaca, Cundinamarca y en Pasca, Boyacá. Este fue un estudio inicial y por esta razón se uso una mezcla de razas, más que evaluaciones con razas individuales.

Los aislamientos del patógeno, la obtención de cultivos monospóricos y el incremento del inóculo, se realizaron de acuerdo al protocolo elaborado por el Programa de Fitopatología del Centro Internacional de Agricultura Tropical (Araya, Pastor y Ramírez, 1991).

Ensayos de campo. La evaluación de los genotipos por días a cosecha, componentes de rendimiento y por su reacción al patógeno, se realizó bajo condiciones de la Sabana de Bogotá en los invernaderos de la

Facultad de Agronomía, de la Universidad Nacional de Colombia. La temperatura media fue de 14,5 °C, con un promedio de temperatura mínima de 4 °C y máxima de 20,5 °C y una humedad relativa media alrededor del 70%.

De cada uno de los cultivares y controles, se sembraron diez semillas en parcelas de 1 m de largo, con una distancia entre plantas de 0,1 m; entre parcelas de 0,5 m y entre surcos de 1 m. Se realizaron tres repeticiones por cultivar, con un total de 98 parcelas. El manejo del cultivo se realizó de acuerdo con las prácticas culturales propias para el monocultivo de frijol en la Sabana de Bogotá.

Los cultivares se mantuvieron bajo condiciones de campo semicontroladas en términos de humedad. La humedad relativa se aumentó al 85%, mediante la construcción de una cámara húmeda, encerrando con plástico el área del ensayo e instalando en su interior

un sistema de riego por aspersión, con una distancia entre aspersores de 1 m. Se realizaron dos riegos diarios, con una frecuencia de 15 min por riego.

Para la inoculación se utilizó una mezcla de los tres aislamientos descritos previamente. Se aplicó el inóculo a una concentración de $1,2 \times 10^6$ conidias/mL, por medio de aspersión homogénea en hojas y tallos utilizando una aspersora de espalda. Con el fin de contribuir a la diseminación de la enfermedad, quince días antes de la siembra de los genotipos, se sembró la habichuela alrededor del área del ensayo, formando un cuadrado. No se realizó control alguno para las enfermedades que se presentaron durante el estudio tales como antracnosis, roya y mildew polvoso.

La primera inoculación se realizó cuando las plantas se encontraban en fase fisiológica V4 o de tercera hoja trifoliada. En total, se realizaron 4 inoculaciones, programadas con un intervalo de 10 días. A partir de la última inoculación, se evaluó la severidad de la enfermedad, utilizando el sistema estándar de evaluación de antracnosis (Schoonhoven y Pastor-Corrales, 1987). Este sistema utiliza un rango de calificación de 1 a 9, en el cual el máximo valor corresponde a las plantas altamente susceptibles (Riascos, 2001). La evaluación de la resistencia se realizó en la etapa de floración, para cada uno de los estratos de la planta: superior, medio y bajo.

Las variables cuantitativas evaluadas fueron: días a cosecha, longitud de las vainas, ancho de las vainas, número de vainas cosechadas por planta, número de granos por vaina, peso de 100 granos y rendimiento por planta.

Análisis de datos. El análisis realizado fue un método de ordenación por componentes principales y agrupamientos jerárquicos basados en distancias euclidianas, utilizando el software SPAD 4.5 (Pagès, 2004). Los valores de las escalas de reacción a antracnosis fueron pasados a porcentajes para ser manejados como variables cuantitativas en conjunto con las variables de rendimiento.

Identificación de los genes de resistencia Co-4 y Co-5 en los genotipos con marcadores moleculares tipo SCAR. De cada uno de los 32 genotipos, se colectaron 5 hojas trifoliadas jóvenes, y se realizó la extracción del ADN mediante la metodología de extracción alcalina, la cual no utiliza solventes orgánicos altamente tóxicos como fenol

o cloroformo (Klimyuk *et al.*, 1997). Se realizaron diluciones de ADN teniendo en cuenta una razón 1:20 (ADN:agua).

Los dos marcadores moleculares tipo SCAR utilizados fueron: SAS13 el cual hace parte del gen *Co-4*, y amplifica una banda de 950 pb (Vallejo y Kelly, 2001) y SAB3 ligado al gen *Co-5* que amplifica una banda de 400 pb (Kelly y Miklas, 1998).

Para la amplificación de los SCARs, por reacción se usó un volumen final de 15 μ L, que contenía 5 μ L de ADN diluido, 1X de buffer PCR (500 mM de KCl, 10 mM de Tris HCl pH 8,8; 1% de Tritron X-100, 1 mg/mL bovine serum albumin); 0,10 μ M de cada primer (Invitrogen Corp. San Diego, Calif.), 0,25 mM de cada dNTP, 2,5 mM de $MgCl_2$, 1 unidad de Taq y agua de calidad HPLC para completar al volumen final. La reacción en cadena de la polimerasa para amplificar el marcador SAB3 y SAS 13, se basó en el procedimiento descrito por Garzón, Blair y Ligarreto (2007). La amplificación se llevó a cabo en un termociclador Icyler Biorad. Los productos de amplificación se separaron en geles de agarosa al 1,5%, estos se corrieron en cámaras de electroforesis con buffer TBE 0,5X y posteriormente se tiñeron con bromuro de etidio, para ser visualizados sobre un transiluminador con luz ultravioleta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables agronómicas. Mediante el análisis de componentes principales utilizando el criterio de Kaiser, se seleccionaron los primeros tres componentes por presentar valores propios >1 (Franco e Hidalgo, 2003; SAS Institute, 2004). El primer componente principal, representó el 33,19% de la variación total. El segundo componente principal contribuyó con el 26,66% de la variación total explicada, mientras el tercer componente principal, representó el 16,94% de la variación total (Tabla 2). Estos componentes en conjunto explican el 72,79% de la variación total.

La distribución de los coeficientes del primer vector propio sugiere que la variable peso de 100 granos es la más discriminante, seguida en menor grado de la variable días a cosecha en sentido positivo. De otra parte, las variables número de vainas por planta y número de granos por vaina, fueron las que más contribuyeron en forma negativa al primer componente (Tabla 2). Esto indica que el primer componente, permitió distinguir los genotipos con semilla de tamaño grande, que a su vez, se diferencian

por ser los más tardíos e igualmente registran valores bajos en componentes de rendimiento como número de vainas por planta y número de granos por vaina.

De manera secundaria influyen con sentido positivo, para este componente las variables ancho de vaina y antracnosis en estrato inferior. Lo cual indica que las accesiones con semilla más grande, suelen ser tardías y tienden a

desarrollar un menor número de vainas por planta, siendo estas vainas mas anchas, como respuesta al tamaño de la semilla. Igualmente, estas accesiones fueron las que mayor severidad de la enfermedad presentaron para el estrato inferior del dosel. Posiblemente, debido que presentan mayor follaje y hojas más grandes que ocasionan un ambiente de alta humedad, favoreciendo la mayor incidencia del patógeno.

Tabla 2. Vectores de variables para los primeros tres componentes principales (CP) de reacción a antracnosis, ciclo de vida y factores de rendimiento en frijol voluble.

Variables	Componentes principales		
	1	2	3
Antracnosis en estrato inferior	0,61	-0,28	0,42
Antracnosis en estrato medio	0,45	-0,73	0,08
Antracnosis en estrato superior	0,41	-0,74	0,12
Días a cosecha	0,75	0,17	-0,21
Vainas por planta	-0,65	-0,40	0,45
Longitud de la vaina	0,11	0,63	0,53
Ancho de vaina	0,50	0,62	0,06
Granos por vaina	-0,70	0,27	0,33
Peso 100 granos	0,90	0,25	0,19
Rendimiento por planta	0,09	-0,04	0,91
Valores propios	3,3187	2,2650	1,6944
Varianza absoluta (%)	33,19	22,66	16,94
Varianza acumulada (%)	33,19	55,84	72,79

De acuerdo con la Tabla 2, para el segundo componente principal, existe mayor ponderación en sentido negativo, para las variables antracnosis en estrato medio y en estrato superior. Con menor contundencia, pero con gran valor en la interpretación biológica del segundo componente principal, influyen de manera positiva las variables longitud y ancho de vaina. Por tanto, en este segundo componente, fue posible distinguir los genotipos que presentaron una reacción de resistencia completa e intermedia a la enfermedad, para los estratos medio y superior del dosel. A su vez, se destacaron genotipos que presentan un tamaño de semilla medio y un mayor número de semillas por vaina.

Para el caso del tercer componente principal, la característica que más contribuyó con este componente en sentido positivo fue rendimiento por planta. Considerándose el componente tres como el componente

del rendimiento. En menor grado, contribuyeron las variables longitud de la vaina en sentido positivo y días a cosecha en sentido negativo (Tabla 2). Por consiguiente, el tercer componente permitió distinguir las accesiones, que exhiben un alto rendimiento por planta, que se define por tener un tamaño pequeño de semilla y cuyo crecimiento y desarrollo se caracteriza por ser precoz.

En general los resultados muestran que las variables de rendimiento son más discriminatorias en los genotipos de evaluación, que las variables relacionadas con la reacción de estos a la enfermedad. Igualmente las variables peso del grano y días a cosecha, resultan ser más discriminatorias que las otras variables relacionadas con los principales componentes de rendimiento. El grado de discriminación de la variable reacción a la antracnosis en los tres estratos de la planta, permite inferir que su comportamiento

depende principalmente del tamaño de la semilla y de la precocidad del material.

El análisis de conglomerados agrupa a los genotipos evaluados en tres clases, con sus respectivos subgrupos discriminantes, como se observa en la Figura 1. Por lo cual, las selecciones se realizaron con base a este tipo de agrupación. Los coeficientes de variación oscilaron entre 3,35% en días a cosecha para la clase 2/3 (Figura 1) hasta 93,34% para antracnosis en estrato superior

en la clase 3/3, presentándose los valores más altos para los descriptores relacionados con la severidad de la enfermedad en los estratos del dosel. Esto muestra un amplio rango de variación o de comportamiento de los individuos dentro de cada cultivar y entre los mismos para dichas variables. Las variables características de la clase 1, son las relacionadas con la severidad de la enfermedad en estrato medio y superior (Tabla 3). En la clase 1, se manifiestan los genotipos que presentaron una reacción de susceptibilidad al ataque del patógeno.

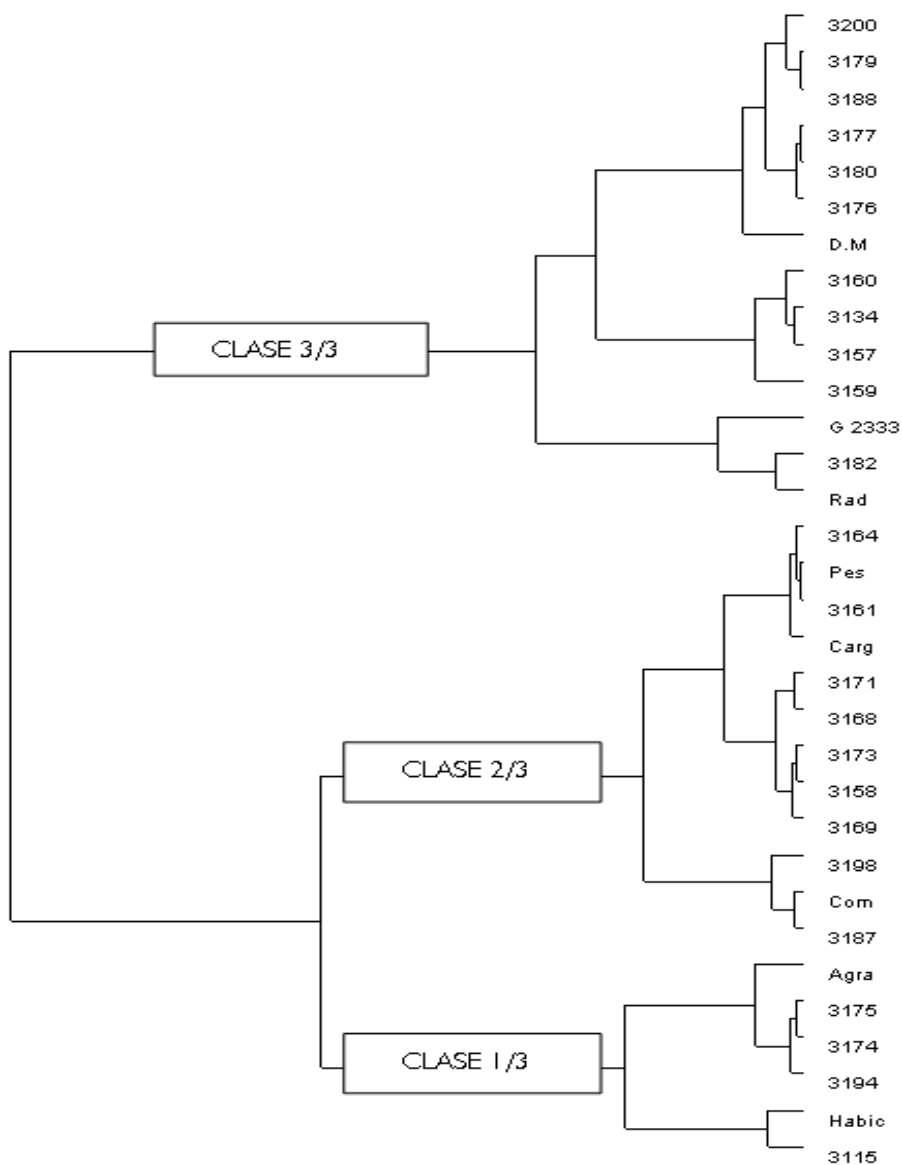


Figura 1. Agrupamiento de genotipos de frijol voluble basado en la evaluación de caracteres de rendimiento, ciclo de vida y la reacción a la enfermedad antracnosis. Dendrograma construido con distancias Euclidianas.

Tabla 3. Variables características de los tres agrupamientos presentados en el estudio de cultivares de frijol voluble por su reacción a la antracnosis.

	Variables características	Media de clase	Media general	Error típico de clase	Error típico general	C.V. clase %	C.V. general
CLASE 1/3	Antracnosis superior	1,785	0,978	0,722	0,736	40,45	75,25
	Antracnosis medio	2,202	1,326	0,945	0,892	42,91	67,27
	Ancho de la vaina	1,068	1,184	0,158	0,133	14,79	11,23
	Longitud de la vaina	10,173	11,762	1,171	1,324	11,51	11,25
CLASE 2/3	Peso de 100 granos	89,973	71,979	7,730	18,245	8,59	25,35
	Días a cosecha	206,470	197,310	6,913	11,226	3,35	5,69
	Ancho de la vaina	1,264	1,184	0,073	0,133	5,77	11,23
	Vainas por planta	15,382	18,740	3,503	5,033	22,77	26,85
	Granos por vaina	5,823	6,401	0,574	0,785	9,86	12,23
	Granos por vaina	6,982	6,401	0,646	0,785	9,25	12,26
CLASE 3/3	Vainas por planta	21,321	18,740	4,281	5,033	20,08	26,85
	Peso de 100 granos	62,551	71,979	13,849	18,245	22,14	25,35
	Días a cosecha	190,784	197,310	8,829	11,226	4,63	5,69
	Antracnosis superior	0,496	0,978	0,463	0,736	93,34	75,25
	Antracnosis medio	0,709	1,326	0,530	0,892	74,75	67,26

La pre-selección de los materiales, se realizó con base a las variables más discriminatorias en la clase y se elaboró un intervalo de clase para antracnosis en estrato superior (1,06 -2,507) y para antracnosis en estrato medio (1,57-3,147). Estos intervalos de confianza de clase son comparables con los valores promedios obtenidos por cada genotipo (Tabla 4).

En este agrupamiento es posible seleccionar solo las accesiones que están por debajo del intervalo de confianza para cada una de las características, como lo son los materiales 3174 y 3175 y Agrario (Tabla 4). El testigo susceptible habichuela Lago Azul, se encuentra por encima del intervalo de confianza, lo cual ratifica su susceptibilidad.

Tabla 4. Valores promedios de antracnosis para los genotipos de frijol voluble pertenecientes a la clase 1/3, según Figura 1.

Genotipos de la clase 1/3	Antracnosis en estrato medio	Antracnosis en estrato superior
3174*	1,55	0,97
3175	0,93	2,37
3194	2,42	1,99
3115	3,63	1,80
Habichuela	3,11	2,81
Agrario	1,57	0,77
Media de clase	2,20	1,79
Error típico de clase	0,95	0,72

* En negrilla los genotipos seleccionados y los valores de la característica de selección.

La Clase 2 (Figura 1) se caracteriza por los individuos que presentan un buen comportamiento en términos de componentes de rendimiento (Tabla 3). Destacándose las variables peso de 100 granos y granos por vaina. La Clase no se caracteriza por la reacción de los genotipos a la enfermedad. De igual manera, la pre-selección de los individuos de esta Clase, se realizó con base a las características más

preponderantes en la Clase (Tabla 5). El intervalo de clase para la variable peso de 100 granos es (82,24 – 97,70) y para la variable granos por vaina es (5,4 – 6,39). Los genotipos preseleccionados por la variable característica peso de 100 granos son: Pesca, 3164 y 3198, y aquellos pre-seleccionados por la variable discriminante granos por vaina son: 3169, 3173 y 3158.

Tabla 5. Valores promedios de granos por vaina y peso de 100 granos para los genotipos de frijol voluble de la clase 2/3, según Figura 1, evaluados por su reacción a la antracnosis.

Genotipos de la clase 2/3	Granos por vaina	Peso de 100 granos
3169*	6,86	87,37
3168	5,4	84,76
Pesca	5,47	103,93
Cargamanto	5,5	93,1
3173	6,53	75,86
3161	6,25	94,35
3187	4,9	81,97
3164	5,26	98,21
3171	6,1	89,13
Bola R. Comercial	5,5	91,59
3158	6,46	81,80
3198	5,65	97,60
Media de clase	5,823	89,973
Error típico de clase	0,574	7,730

*En negrilla los genotipos seleccionados y los valores de la característica de selección.

La Clase 3 (Figura 1) se caracteriza por tener en común el comportamiento de las variables vainas por planta, peso de 100 granos y granos por vaina, siendo esta última la que más se destaca entre todas las anteriores (Tabla 3); presentando una reacción negativa a la enfermedad, es decir, en esta Clase se agrupan los genotipos que exhiben una reacción de resistencia completa o intermedia. Acorde con esto, en esta Clase se encuentra el testigo resistente: la variedad diferencial G-2333; la cual se caracteriza por su inherente resistencia a *C. lindemuthianum* y por presentar un alto valor en el componente de rendimiento de granos por vaina. Los intervalos de clase para cada una de las variables son: granos por vaina (6,33-7,62); vainas por planta (17,04 – 25,602); peso de 100 granos (48,70 – 76,40).

Como se observa en la Tabla 6, las accesiones pre-seleccionadas por la variable característica vainas por planta son 3159, 3182, G-2333 y Radical. Los genotipos pre-seleccionados por la variable discriminante granos por vaina son: 3176, 3177, 3180, G-2333 y D. Moreno. Igualmente la variable característica peso de 100 granos discrimina para la pre-selección de los cultivares 3159, 3134 y D. Moreno. De esta manera, los genotipos G-2333, 3159 y D. Moreno, son los que cumplen con mayor número de variables características.

Los intervalos de confianza generales para cada una de las variables características son: peso de 100 granos (53,734 – 90,224); granos por vaina (5,61 – 7,18); vainas por planta (13,70 – 23,77); antracnosis medio (0,434 – 2,218); antracnosis superior (0,242 – 2,218).

Tabla 6. Valores promedios de los componentes de rendimiento para los genotipos de frijol voluble pertenecientes a la Clase 3/3, según Figura 1, evaluados por su reacción a la antracnosis.

Genotipos de la Clase 3/3	Vainas por planta	Granos por vaina	Peso de 100 granos
3176	18,33	7,73	58,16
3157	20,28	7,3	66,26
3177	19,48	7,67	56,83
3160	21,55	6,33	82,6
3159	26,02	6,73	75,8
3179	18,76	6,7	66,4
3180	18,71	7,4	55,7
3134	20,44	6,7	81,03
3182	31,23	6,43	44,03
G-2333	23,93	7,73	31,91
3188	17,81	7,23	62,1
Radical	28,27	6,5	54,37
3200	17,59	5,53	61,03
D. Moreno	16,09	7,77	79,5
Media de clase	21,321	6,982	62,551
Error típico de clase	4,281	0,646	0,646

Los materiales seleccionados, fueron aquellos que estuvieron por encima del valor máximo del intervalo, para el caso de componentes de rendimiento y

aquellos que presentaron valores inferiores al valor mínimo del intervalo, para las variables relacionadas con la enfermedad (Tabla 7).

Tabla 7. Genotipos de frijol voluble seleccionados por su comportamiento agronómico en componentes de rendimiento y reacción intermedia a resistente en escala de evaluación de antracnosis.

Materiales seleccionados	Número de características deseables	Naturaleza de las variables
3164	1	Rendimiento
3198	3	Rendimiento/Reacción resistente
3159	1	Rendimiento
3182	3	Rendimiento/Reacción resistente
G – 2333	4	Rendimiento/Reacción resistente
Radical	1	Rendimiento
3176	1	Rendimiento
3177	2	Rendimiento/Reacción intermedia
3180	3	Rendimiento/Reacción resistente
D. Moreno	3	Rendimiento/Reacción resistente

El material más sobresaliente fue el 3198, el cual presenta un peso de semilla alto, es decir un grano grande y a pesar de ello, registra una reacción resistente a la enfermedad. Por otra parte, el material D. Moreno aunque presentó un peso alto de 100 granos, tuvo una reacción resistente a intermedia a la enfermedad.

En el caso de Radical, este fue seleccionado por su comportamiento en rendimiento, aún cuando es muy susceptible a antracnosis. La variedad diferencial G-2333 es un material sobresaliente en casi todas las variables de evaluación; sin embargo, el peso de la semilla es muy bajo, lo que afecta su rendimiento y lo hace poco apetecido en los mercados locales de Colombia donde hay preferencia por los granos secos de tamaño grande (peso de 100 granos mayor a 45 g).

Presencia de genes de resistencia. En el gel de agarosa se encontró que los materiales evaluados no amplificaron la banda de 950 bp con el marcador SAS13, el cual hace parte del gen *Co-4* (Melotto y Kelly, 1998; Balardín y Kelly, 1998). De igual manera, los cultivares no amplificaron la banda de 400 bp con el marcador SAB3 ligado al gen *Co-5*. Esto puede indicar la ausencia de ambos genes en los 31 genotipos evaluados, excepto para el genotipo G-2333, en el cual han sido identificados ambos genes (Young y Kelly, 1996; Alzate, Minarim y Barros, 2001).

Por lo anterior, se infiere que los materiales andinos en evaluación no se podrían considerar como potenciales fuentes para los genes de resistencia que pertenecen al acervo Mesoamericano, estos resultados son comparables con el comportamiento expresado de los genotipos en campo, los cuales en su mayoría manifestaron una reacción de susceptibilidad o resistencia intermedia a la presión del patógeno.

Según Geffroy *et al.* (1999), los análisis genéticos realizados en el complejo *P. vulgaris*–*C. lindemuthianum*, han sugerido que se presentan dos tipos independientes de procesos de domesticación: tanto en Sur América como en Mesoamérica; así mismo, se ha observado un proceso de coevolución, dentro de cada centro de diversificación. De igual manera, sugieren que *C. lindemuthianum* posee un bajo rango de diseminación, lo cual brinda la posibilidad de que se presente dentro de cada centro de domesticación un compacto proceso coevolutivo, resultado de una constante y reciproca selección de mecanismos de resistencia y patogenicidad dentro del complejo planta-patógeno.

Con base en los resultados obtenidos y en concordancia con los argumentos expuestos, se puede inferir el supuesto de que los genes *Co-4* y *Co-5* identificados en genotipos Mesomaericanos, rara vez se presentan en genotipos del acervo Andino (Pastor-Corrales, Otoya y Maya, 1993). De igual manera, Pastor-Corrales *et al.* (1995); sugieren que los fríjoles de origen Andino poseen una base genética de resistencia estrecha, la cual podría ser ampliada por la introgresión de los genes de resistencia del acervo Mesoamericano.

Teniendo en cuenta que el acervo genético presenta una base genética de resistencia estrecha hacia *C. lindemuthianum*, sería de gran importancia realizar pruebas para el gen *Co-6*, el cual presenta una amplia base de resistencia a un gran número de razas del patógeno, especialmente aquellas de origen Andino en cultivos de fríjol del departamento de Cauca.

CONCLUSIONES

Se exhibe una amplia variación en el comportamiento de la enfermedad dentro y entre genotipos. Esto se debe principalmente a las características genéticas de compatibilidad o incompatibilidad con el patógeno, que experimentan cada uno de los genotipos evaluados, sumado al factor ambiente. También los cultivares evaluados evidenciaron que el comportamiento de la enfermedad está asociado con el tamaño de la semilla y la precocidad del material.

El uso de marcadores moleculares tipo SCAR facilita la selección de genotipos que presentan genes de resistencia contra *C. lindemuthianum* o para complementar y acelerar procesos de piramidación de genes. De igual manera, complementa los resultados obtenidos en las técnicas tradicionales de selección de genotipos por resistencia. En los materiales de mejora genética en estudio no se encontró la presencia de genes asociados con la resistencia a antracnosis, posiblemente porque los genes evaluados pertenecen al acervo Mesoamericano y los genotipos son parte del acervo Andino.

BIBLIOGRAFÍA

Alzate, M., H. Minarim and G. Barros. 2001. Inheritance of anthracnose resistance in the common bean differential cultivar G-2333 and identification of a new molecular marker linked to the *Co.4* gene. *Phytopathology* 149(5): 259-264.

- Araya, C.M., M. Pastor y J.F. Ramírez. 1991. Variación patogénica de aislamiento de *Colletotrichum lindemuthianum* de frijol procedentes de la zona noroeste y central de Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 15(1-2): 63-66.
- Balardin, R.S. and J.D. Kelly. 1998. Interaction among races of *Colletotrichum lindemuthianum* and diversity in *Phaseolus vulgaris*. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 123(6): 1038-1047.
- Cobo, F. y M.A. Pastor-Corrales. 1987. Variación patogénica y fuentes de resistencia a *Colletotrichum lindemuthianum* (Saac & Magn) patógeno de la antracnosis del frijol en Colombia. *Acta Agronómica* 37(1): 36-47.
- Franco, T., R. Hidalgo. 2003. Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. *Boletín Técnico* 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.
- Garzón, L.N., M.W. Blair y G.A. Ligarreto. 2007. Uso de selección asistida con marcadores para resistencia a antracnosis en frijol común. *Agronomía Colombiana* 25(2): 207-214.
- Geffroy, V., D. Sicard, J. Oliveira, J. M. Sévignac, S. Cohen, P. Gepts, C. Neema, T. Langin and M. Dron. 1999. Identification of an ancestral resistance gene cluster involved in the coevolution process between *Phaseolus vulgaris* and its fungal pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*. *The American Phytopathological Society* 12(9): 774-784.
- Gonçalves-Vidigal, M.C., C.R. Silva, F.P.S. Vidigal, A. Gonela, M.V. Kvitschal. 2007. Allelic relationships of anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) resistance in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Michelite and the proposal of a new anthracnose resistance gene, *Co-11*. *Genetics and Molecular Biology* 30(3): 589-593.
- Guzmán, P., M.R. Donado y G.E. Gálvez. 1979. Pérdidas económicas causadas por la antracnosis del frijol *Phaseolus vulgaris* en Colombia. *Turrialba* 29(1): 65-67.
- Kelly, J.D. and P.N. Miklas. 1998. The role of RAPD markers in breeding for disease resistance in common bean. *Molecular Breeding* 4(1): 1-11.
- Kelly, J.D. and V. Vallejo. 2004. A comprehensive review of the major genes conditions resistance to Antracnose in common bean. *HortScience* 39(6): 1196-1207.
- Klimyuk, V.I., B.J. Carroll, C.M. Thomas and J.D.G. Jones. 1997. Alkali treatment for rapid preparation of plant material for reliable PCR analysis. *Plant Journal* 3(3): 493-494.
- Ligarreto, G.A. 1997. Variedades y mejoramiento de frijol. *Boletín Divulgativo*. Convenio FENALCE, SENA y SAC. 14 p.
- Melotto, M. and J.D. Kelly. 1998. SCAR markers linked to major disease resistance genes in common bean. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative (BIC)* 41: 64-65.
- Molano, P., M. Otoy y M.A. Pastor - Corrales. 1996. Diversidad de razas de *Colletotrichum lindemuthianum* el patógeno de la antracnosis del frijol en Rionegro, Antioquia. *Fitopatología Colombiana* 19(1): 1-14.
- Pachón, N.A., D.F. Gracia and G.A. Ligarreto. 2009. Yield evaluation of fourteen populations of climbing bean (*Phaseolus vulgaris* L.) segregating lines with anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) resistance genes. *Agronomía Colombiana* 27(1): 7-13.
- Pagès, J. 2004. Analyse factorielle de donnees mixte: principe et exemple d'application. Pagès, J. 2004. Analyse factorielle de donnees mixtes: principe et exemple d'application. En: Montpellier SupAgro, <http://www.agro-montpellier.fr/sfds/CD/textes/pages1.pdf>; consulta: octubre 2009.
- Pastor-Corrales, M.A. 1985. Variación patogénica de *Colletotrichum lindemuthianum* el agente causal de la antracnosis del frijol y una propuesta para su estandarización. Documento de Trabajo CIAT: 212-235.
- Pastor-Corrales, M.A., M. Otoy y M. Maya. 1993. Diversidad de la virulencia de *Colletotrichum lindemuthianum* en mesoamerica y la región andina. *Fitopatología Colombiana* 17(1): 31-37.
- Pastor-Corrales, M.A., O.A. Erazo, E.I. Estrada, and S.P. Singh. 1994. Inheritance of anthracnose resistance in common bean accession G-2333. *Plant Disease* 78: 959-962.
- Pastor-Corrales, M.A., M.M. Otoy, A. Molina and S.P. Singh. 1995. Resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Middle American and Andean South America in different common bean races. *Plant Disease* 79: 63-67.

- Riascos, J. 2001. Caracterización de la diversidad genética de *Colletotrichum lindemuthianum* usando marcadores moleculares. Trabajo de grado. Universidad del Valle. Facultad de Ciencias. Cali, Colombia. 70 p.
- Rincón, R.L.J. Diversidad genética de *Colletotrichum lindemuthianum* que afecta fríjol en las zonas productoras de los departamentos de Cundinamarca y Santander. 2007. Trabajo de grado Maestría en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Bogotá, 90p.
- Santana, G. y G. Mahuku. 2002. Diversidad de razas de *Colletotrichum lindemuthianum* en Antioquia y evaluación de germoplasma de fríjol crema-rojo por su resistencia a antracnosis. *Agronomía Mesoamericana* 13(2): 95-103.
- Santana, G., M. Blair, F. Morales, G. Mahuku, C. Jara y M. Castaño. 2004. Selección de genotipos de fríjol resistentes a antracnosis y mosaico común utilizando técnicas convencionales y avanzadas de mejoramiento genético. *Fitotecnia Colombiana* 4(1): 44-54.
- SAS Institute INC. 2004. SAS/STAT 9.1 User's guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Schoonhoven, A. y M.A. Pastor-Corrales. 1987. Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de fríjol. Centro Internacional de Agricultura Tropical. CIAT. Cali, Colombia. 56 p.
- Schwartz, H.F., M.A. Pastor-Corrales and S.P. Sing. 1982. New sources of resistance to anthracnose and angular leaf spot of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) *Euphytica* 31(3): 741-754.
- Singh, S.P. 1998. Uso de marcadores y selección de gametos para el mejoramiento simultaneo de caracteres múltiples de fríjol (*Phaseolus vulgaris* L.) para Mesoamerica y el Caribe. *Agronomía Mesoamericana* 9(1): 1-9.
- Tamayo, P.J. 1995. Manejo y control de las enfermedades del fríjol voluble (*Phaseolus vulgaris*, L). Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA, Regional 4, Centro de Investigación "La Selva". Rionegro, Antioquia, Colombia. Boletín Técnico 40 p.
- Vallejo, V. and J.D. Kelly. 2001. Development of a SCAR marker linked to *Co-5* locus in common bean. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative (BIC) 44:121-122.
- Young, R.A. and J.D. Kelly. 1996. Gene pyramiding using marker assisted selection for stable resistance to bean anthracnose. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative (BIC) 39: 57-58.