

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA
POSGRADO EN PROTECCIÓN VEGETAL

**EVALUACIÓN DEL AVANCE GENÉTICO POR
RESISTENCIA EN FRIJOL CONTRA *Xanthomonas*
axonopodis pv. *phaseoli* MEJORADOS POR
MÉTODOS CUANTITATIVOS**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL**

PRESENTA:

CONSEPCIÓN ARCE ESPINO

JUNIO DEL 2003

CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO



DIRECCIÓN ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES Y TÍTULOS

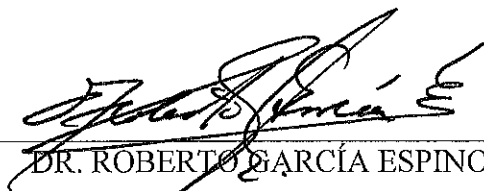


**EVALUACIÓN DEL AVANCE GENÉTICO POR RESISTENCIA EN
FRIJOL CONTRA *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* MEJORADOS POR
MÉTODOS CUANTITATIVOS.**

Tesis realizada por **Consepción Arce Espino** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

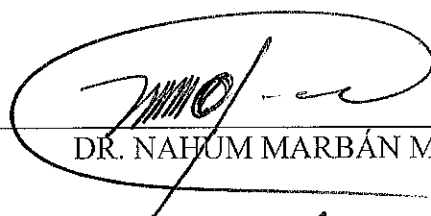
DIRECTOR: _____


DR. ROBERTO GARCÍA ESPINOSA

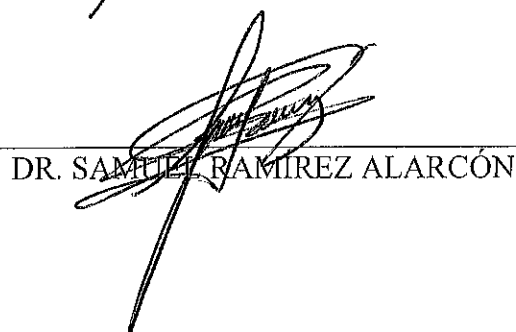
ASESOR: _____


DR. RONEY SOLANO VIDAL

ASESOR: _____


DR. NAHUM MARBÁN MENDOZA

ASESOR: _____


DR. SAMUEL RAMÍREZ ALARCÓN

AGRADECIMIENTOS

AL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT), POR DAR EL APOYO ECONÓMICO EN BENEFICIO DE LA INVESTIGACIÓN, SOPORTE PRINCIPAL DE LOS ESTUDIANTES DE POSTGRADO.

A LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO, POR FORJAR MAESTROS CON BUEN NIVEL ACADÉMICO E IMPULSO EN EL PROGRESO DEL AGRO MEXICANO.

A LOS MAESTROS DEL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA.

AL DR ROBERTO GARCÍA ESPINOSA, DE TODO CORAZÓN MUCHAS GRACIAS POR EL APOYO Y COMPRENSIÓN.

AL DR RONEY SOLANO VIDAL, POR EL APOYO Y ORIENTACIÓN BRINDADA DURANTE MIS ESTUDIOS DE MAESTRÍA.

AL DR NAHUM MARBÁN MENDOZA, POR SUS SUGERENCIAS Y CONSEJOS ACERTADOS EN MI FORMACIÓN Y EN EL ESCRITO DE LA TESIS.

AL DR SAMUEL RAMÍREZ ALARCÓN, POR SU APORTACIÓN AL ESCRITO DE LA TESIS.

DEDICATORIAS

ESTE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN DEDICADO ESPECIALMENTE A:

ALEJANDRA LEY ARCE

DATOS BIOGRÁFICOS

La autora del presente trabajo de investigación, es originaria de la comunidad de San José de Gto, municipio de Celaya, Guanajuato. Cursó estudios de educación primaria en la misma localidad, el nivel de secundaria en la Escuela Secundaria Técnica No. 27 en el municipio de Celaya y niveles medio superior y superior en la Universidad Autónoma Chapingo, titulándose como Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola con el tema de tesis “Control de la maleza de hoja ancha con Dicamba en mezcla con Triasulfuron, Prosulfuron y 2,4-D en el cultivo de la Cebada (*Hordeum vulgare* L.)”.

Como profesional, inició laborando en la empresa MEZFER, S.A. de C.V. en Noviembre del 99, como Auxiliar de ventas y desempeñando funciones, en el manejo de registros de los productos ante la Cicoplafest, elaboración y evaluación de etiquetas, presupuestos de ventas y todo lo relacionado a la mercadotecnia de la empresa. En Marzo del 2000 estuvo laborando en la Consultoría Pro Jardín coadyuvando en estudios de Evaluación de Plaguicidas, en diferentes cultivos de la Región Bajío y colaborando en la preparación y edición técnica del primer catalogo “insecticidas” “costo de tratamiento por hectárea” de la revista Agro-Bajío.

En Enero del 2001 ingresó a la Maestría en Protección Vegetal obteniendo el grado de Maestro en Ciencias con el tema de tesis “Evaluación del avance genético por resistencia en frijol contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* mejorados por métodos cuantitativos”.

ÍNDICE

PAGINA

Lista de cuadros.....	iv
Lista de figuras.....	v
Resumen.....	vii
Abstract.....	viii
I. Introducción.....	1
Objetivo.....	6
Hipótesis.....	6
II. Revisión de Literatura.....	7
2.1. Variabilidad genética del frijol.....	7
2.2. Resistencia genética del frijol... ..	8
2.3. Tipos de resistencia genética.....	9
2.4. Características de la resistencia horizontal.....	10
2.5. La resistencia cuantitativa en frijol.....	12
2.6. Características generales del tizón común.....	17
2.6.1.Descripción.....	17
2.6.2. Síntomas.....	17
2.6.3. Epidemiología.....	18
2.7. Virus del Mosaico Común.....	19
2.7.1. Importancia.....	19
2.7.2. Descripción.....	19
2.7.3. Síntomas.....	19

2.7.4. Epidemiología.....	20
2.7.5. Métodos de control.....	21
III. Materiales y métodos.....	22
3.1. Trabajo de laboratorio.....	22
3.1.1. Localización del experimento.....	22
3.1.2. Desarrollo del experimento.....	22
3.1.2.1. Incremento y concentración de inóculo.....	22
3.1.2.2. Inoculación de la bacteria.....	23
3.1.3. Observación de síntomas.....	24
3.2. Trabajo de campo.....	24
3.2.1. Localización del experimento.....	25
3.2.2. Clima.....	25
3.2.3. Suelo.....	25
3.2.4. Diseño experimental.....	25
3.2.4.1. Modelo lineal.....	26
3.2.4.2. Tratamientos.....	26
3.2.4.3. Unidad experimental.....	26
3.2.4.4. Variables evaluadas.....	27
3.2.4.5. Análisis de datos.....	27
3.2.5. Preparación del terreno.....	27
3.2.6. Siembra.....	27
3.2.7. Labores culturales.....	28

3.2.8. Inoculación.....	28
3.2.9. Estimación de rendimiento.....	28
IV. Resultados y Discusión.....	30
4.1. Trabajo de laboratorio.....	30
4.1.1. Primer experimento.....	30
4.1.2. Segundo experimento.....	31
4.2. Trabajo de campo.....	34
4.2.1. Rendimiento.....	34
4.2.2. Nivel de daño de la bacteria del tizón común sobre las poblaciones de frijol.....	36
4.2.3. Análisis de regresión lineal entre rendimiento y la incidencia del tizón común.....	37
4.2.4. Nivel de daño del Virus del mosaico común sobre las poblaciones de frijol.....	38
4.2.5. Análisis de regresión lineal entre el rendimiento y la incidencia del virus del mosaico común	39
4.2.6. El efecto de la acumulación de resistencia horizontal sobre el rendimiento.....	40
V. Conclusiones	43
VI. Literatura citada.....	44
Anexos.....	50

LISTA DE CUADROS

	PAGINA
Cuadro 1. Genotipos comparados en su resistencia a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> , inoculados bajo condiciones de cámara húmeda, mediante la utilización de folíolos desprendidos, mantenidos en agua en tubos de ensaye. Montecillo, Edo. de México, Primavera del 2002.....	24
Cuadro 2. Genotipos incluidos en el experimento de campo para la evaluación del avance genético por resistencia horizontal a la bacteria del tizón común. Chapingo, México, Otoño del 2002.....	29
Cuadro 3. Pruebas Tukey para la variable rendimiento de los tratamientos empleados en el cultivo del frijol. Chapingo, México, 2002. (Se incluyen sólo los 13 genotipos de mayor y menor rendimiento).	35

LISTA DE FIGURAS

	PAGINA
Figura 1. Nivel de daño observado en los genotipos evaluados con base en la escala de 1 a 10 en respuesta a la inoculación con <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> bajo condiciones de cámara húmeda sobre foliolos desprendidos, a los cuatro días de la inoculación. Montecillo, México, 2002.....	31
Figura 2. Nivel de daño observado en los genotipos evaluados con base en la escala de 1 a 10 en respuesta a la inoculación con <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> bajo condiciones de cámara húmeda sobre foliolos desprendidos, a los ocho días de la inoculación. Montecillo, México, 2002.....	32
Figura 3. Alto nivel de resistencia contra el tizón común alcanzado en uno de los materiales mas avanzados en frijol. Se observa a la izquierda un genotipo progenitor del séptimo ciclo de mejoramiento y a la derecha un genotipo padre original.....	33
Figura 4. El Po 32, genotipo altamente susceptible a la enfermedad, muestra síntomas causados por el tizón común, y el P 7-10 genotipo que después de siete ciclos de mejoramiento ha logrado acumular un nivel de resistencia aceptable	33

Figura 5. Rendimiento obtenido por grupo de genotipos.....	36
Figura 6. Porcentaje de la población de frijol con un 50 % o más de área foliar dañada por tizón común en promedio por grupo de genotipos de frijol.....	37
Figura 7. Grado de asociación entre el daño por la bacteria y el rendimiento en genotipos de frijol, tanto de ciclos avanzados de mejoramiento como progenitores originales, variedades comerciales y variedades regionales.....	38
Figura 8. Porcentaje en la población dañada con el síntoma severo del virus mosaico común del frijol en promedio (por grupo de genotipos de frijol).....	39
Figura 9. Grado de asociación entre el daño por el virus en relación con el rendimiento en genotipos de frijol, tanto de ciclos avanzados de mejoramiento como progenitores originales, variedades comerciales y variedades regionales	40

**EVALUACIÓN DEL AVANCE GENÉTICO POR RESISTENCIA EN
FRIJOL CONTRA *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* MEJORADOS POR
MÉTODOS CUANTITATIVOS**

Consepción Arce Espino¹ y Roberto García Espinosa²

RESUMEN

Un programa de mejoramiento genético iniciado en 1988, por resistencia horizontal global en frijol, con énfasis en tizón común, para la región Mixteca, conducido por un equipo de investigación en el Colegio de Posgraduados (C.P.), ha producido numerosos genotipos de alto rendimiento pese a la presencia de enfermedades. Se realizaron experimentos de laboratorio y campo en las estaciones de verano/otoño del 2002 en el C.P. y en Chapingo, para evaluar el nivel de resistencia acumulado en los genotipos de los ciclos 3, 4, 5, 6, y 7, comparándolos con los niveles de resistencia de los padres originales, y los de algunas variedades regionales y variedades comerciales. Mediante la aplicación de severa presión de inóculo, se evidenció el mayor avance genético contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, en los genotipos de los ciclos más avanzados, con base en rendimiento y/o incidencia y daños reducidos de la bacteria, tanto en experimentos de laboratorio como de campo.

Palabras clave: Resistencia genética, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, *Phaseolus vulgaris*.

¹ Tesista

² Director

**EVALUATION OF GENETIC ADVANCE TOWARDS RESISTANCE IN
BEANS TO *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* IMPROVED BY USING
QUANTITATIVE BREEDING METHODS**

ABSTRACT

A breeding program initiated in 1988 for comprehensive quantitative resistance in beans against several diseases (but with emphasis in the bacterial blight disease) for the Mixteca region, carried out by a research team at Colegio de Postgraduados (C.P.) has produced numerous high yielding genotypes although disease incidence was present. Laboratory and field experiments were conducted during winter/fall seasons 2002, at Chapingo and C.P. to assess the level of quantitative resistance accumulated in genotypes of breeding cycles 3, 4, 5, 6, and 7, compared to the level of original parents, and of some commercial and regional varieties. By applying severe inoculum pressure of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, the genotypes of advanced breeding cycles showed the highest level of resistance, based on higher yields and/or reduced incidence and damage of the disease, both in laboratory and field experiments.

Keywords: Horizontal resistance, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, *Phaseolus vulgaris*.

I. INTRODUCCIÓN

La resistencia genética contra enfermedades en cultivos agrícolas es, generalmente, la verdadera solución a los problemas fitosanitarios. Sin embargo, en tiempos recientes, ha sido el camino abandonado del manejo fitosanitario. El abandono de la búsqueda de resistencia ha traído por consecuencia que en muchos cultivos, haya aumentado la dependencia del uso de agroquímicos para el manejo fitosanitario y esto, en consecuencia, ha incrementado la propia erosión de la resistencia, además de inducir el surgimiento de resistencia por parte de las especies parasíticas contra los químicos empleados.

Ese abandono de la búsqueda de la resistencia a parásitos se debe a que se ha privilegiado el uso de productos químicos en aras de lograr el mayor éxito en el control de problemas fitosanitarios en el menor tiempo posible, pero también se debe a la noción generalizada en el ambiente agronómico de que toda resistencia, tarde o temprano se rompe; es decir, deja de ser efectiva en un cierto tiempo, no es durable. Su rompimiento, trae por consecuencia epidemias devastadoras y con ello, una profunda frustración y desaliento en los fitomejoradores que han logrado producir las variedades resistentes.

La creencia generalizada de que toda resistencia tarde o temprano ha de romperse, es una consecuencia de la forma de hacer mejoramiento por resistencia. Durante todo el siglo XX, la escuela dominante fue la del mejoramiento por resistencia vertical, la cual se define como la resistencia que es efectiva contra alguna o algunas razas de sólo una especie parásita pero no contra otras. Una de las razones por las que los fitomejoradores

operaron este tipo de resistencia, fue por la fascinación hacia la resistencia vertical, ya que es una resistencia que, cuando está presente y operando, da el aspecto de inmunidad; es decir, hay ausencia absoluta de síntomas. Además, los métodos de transferencia de monogenes representan una mayor facilidad para manejar las características de la resistencia por lo preciso de las técnicas mendelianas dentro de un programa de mejoramiento genético. Sin embargo, este tipo de resistencia es temporal, ya que existe una relación gene a gene por ambas partes, tanto del parásito como del hospedante, lo que significa que si está ausente la raza del patógeno que acopla a los genes de resistencia, el cultivo no sufre daños en absoluto, pero no por que sea resistente, sino por la ausencia del parásito; por la ausencia de la raza acoplante. Cuando en la población del parásito surge, por cualquiera de los mecanismos de cambios genéticos, la nueva raza acoplante, se dice que la resistencia se ha roto, cuando en realidad, nunca hubo resistencia, es sólo que se realizó la selección en ausencia de parasitismo.

El sonado éxito de la resistencia vertical en unas cuantas especies agrícolas frente a unas cuantas enfermedades, estableció casi como un dogma, que la búsqueda de resistencia, debería ser considerando a la resistencia como un carácter cualitativo o monogénico o transmitido por un solo gene o unos cuantos genes; lo cual implica el uso de herramientas de mejoramiento conocidas como de pedigrí. El empleo de este tipo de herramienta hace muy difícil el mejorar al mismo tiempo contra más de una especie de parásito, por lo que resulta prácticamente imposible para el fitomejorador, el liberar cultivos resistentes a varios parásitos.

Por muchos años el mejoramiento genético por resistencia a enfermedades en frijol se ha hecho considerando a ésta, como una variable cualitativa y muy poca información se ha publicado sobre mejoramiento genético que considere a la respuesta a enfermedades como una variable cuantitativa. Si a la resistencia a enfermedades se le considera como una variable cuantitativa, para el fitomejoramiento por resistencia, deben usarse métodos de mejoramiento en población, como la selección masal recurrente.

En frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), se ha realizado fitomejoramiento por resistencia cuantitativa, empleando selección masal recurrente, en el llamado Proyecto de Resistencia Horizontal Global en Frijol para la Región Mixteca, desde 1988, conducido por un equipo interdisciplinario del Colegio de Postgraduados y en cooperación con la Universidad de Gueph, Canadá, trabajando con el Virus del Mosaico Común del Frijol (BCMV), y con el tizón común del frijol (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*). Dicho proyecto inició con 7 variedades locales, seleccionadas por su elevada susceptibilidad a los patotipos designados (aislamientos de la bacteria y del virus, mantenidos en laboratorio para poder ser usados como inóculo artificial para ejercer severa presión de selección sobre las poblaciones de frijol) por cada una de las enfermedades. Los patotipos fueron usados para inocular todas las poblaciones de selección subsecuentes y de esta manera se aseguró que no estuvieran presentes y operando genes de resistencia vertical durante el proceso de selección; los padres fueron cruzados entre ellos por cruza dialélicas y cada generación de selección masal fue sometida a selección tardía (después de tres generaciones de autopolinización) siempre en condiciones de campo y aplicando presión de selección, seleccionando bajo el criterio del mayor rendimiento.

El empleo de técnicas de fitomejoramiento en población en frijol ha demostrado ser eficiente en la acumulación de niveles altos de resistencia a enfermedades como el Tizón común, el Virus del Mosaico Común (VMC) y a las pudriciones de raíz (inducidas por hongos, tales como *Phytium spp*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium spp* (García et al., 2003), como resultado de los trabajos desarrollados como parte del Proyecto de Resistencia Horizontal del frijol para la Región Mixteca (García et al., 2001, 2003).

Para corroborar el avance genético por resistencia cuantitativa en el material de frijol una vez alcanzado el séptimo ciclo de selección (seleccionados los padres del séptimo ciclo de mejoramiento), se planteó realizar una serie de experimentos en laboratorio y en campo comparando en cuanto a su reacción a la inoculación de la bacteria *Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli*, a los padres originales, algunos genotipos avanzados de los ciclos de mejoramiento tres, cuatro, cinco, seis y siete del proyecto de Resistencia Horizontal, así como variedades comerciales y regionales, bajo el siguiente objetivo.

Objetivo

- ❖ Comparar el nivel de resistencia horizontal contra algunas enfermedades del frijol, con énfasis en la bacteriosis del tizón común *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, alcanzado en los materiales avanzados del proyecto de resistencia horizontal del frijol del Colegio de Postgraduados en comparación con los padres originales, y algunas variedades comerciales y variedades regionales.

Hipótesis

- ❖ El proyecto de resistencia horizontal, con su metodología de selección masal recurrente, buscó desarrollar niveles altos de resistencia horizontal contra las especies parásitas localmente importantes en la Región Mixteca, aunque con énfasis en virus mosaico común del frijol y tizón común. Los materiales avanzados de este proyecto, han elevado sus niveles de resistencia horizontal respecto a los padres originales, variedades comerciales y variedades regionales.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Variabilidad genética del frijol

La especie *Phaseolus vulgaris* es originaria del área México-Guatemala ya que en estos países se encuentra una gran diversidad de variedades tanto en forma silvestre como en forma de cultivo. El género *Phaseolus* incluye aproximadamente 150 especies de las cuales la mayoría son silvestres y de origen americano (CIAT, 1980; citado por Muñoz, 1994).

Se ha determinado que la variabilidad genética en frijol es mayor en formas silvestres que en las cultivadas, lo cual sugiere que en las poblaciones silvestres existen mayores probabilidades de encontrar genes que puedan transferirse y conferir resistencia, ventajas adaptativas aún ausentes en las formas cultivadas. La variabilidad genética existente en *P. vulgaris* probablemente es mayor en sus centros de diversificación primaria, esto es, en Mesoamérica y en el sur de los Andes (Muruaga et al., 1995).

México es uno de los centros de origen y domesticación del frijol común, por lo que tiene una amplia variabilidad genética tanto en frijol como en sus parásitos (García et al., 1999).

Existe una amplia diversidad genética en el cultivo del frijol en México, por lo que su mejoramiento podría basarse casi exclusivamente en la selección de los genotipos con las características deseables para cada caso (García, Robinson, comunicación personal; citado por Madariaga, 1998).

2.2. Resistencia genética del frijol

Uno de los puntos débiles del frijol es su susceptibilidad a enfermedades, al grado de representar el factor adverso más severo, limitando severamente su productividad (Muñoz et al., 1995).

Existe una amplia distribución geográfica de enfermedades y plagas en especies silvestres del género *Phaseolus* que, de acuerdo a la sintomatología y tipo de daño, son las mismas causantes de pérdidas en el frijol cultivado cuando no se controlan; es posible que en un mismo ciclo agrícola tanto poblaciones silvestres como los cultivos de frijol estén sometidos a las mismas presiones de estos parásitos, sin embargo, su persistencia muestra que existen posibilidades de que dichas poblaciones contengan plantas resistentes a esas enfermedades y plagas (Muruaga et al., 1995).

Navarrete (1996) señala que en el germoplasma mexicano del frijol existe resistencia al tizón común en genotipos silvestres y cultivados de *Phaseolus spp.* Algunos de estos genotipos evaluados sugieren la existencia de una resistencia de tipo horizontal y pocos genotipos mostraron resistencia de tipo vertical, con lo cual, confirma la variabilidad patogénica de esta bacteria. La misma autora señala que por la complejidad para el manejo de la enfermedad del tizón común a través de variedades con resistencia de tipo vertical y la ya mencionada variabilidad patogénica de la bacteria, sería más conveniente desarrollar variedades con resistencia de tipo horizontal o por acumulación de resistencia con lo que se podría lograr una resistencia más duradera y evitaría la susceptibilidad de las variedades al cultivarlas en lugares distintos a donde se desarrollaron.

2.3. Tipos de resistencia genética

El fitomejoramiento consiste en explotar la variación genética, la cuál puede ser creada deliberadamente o ya existir en los cultivos o en las poblaciones silvestres, seleccionando dentro de las poblaciones, variables para encontrar y preservar los individuos más deseables. Si se desean características monogénica u oligogénicamente heredables, como es la resistencia vertical, se emplea un proceso de transferencia de genes y un programa de retrocruzas; es una resistencia cualitativa en el sentido de que, sin valores intermedios, está presente o ausente. Si se desean caracteres heredados poligénicamente como es el caso de la resistencia horizontal, es necesario lograr cambios en las frecuencias de genes y las técnicas que deben ser empleadas son las de selección masal. La resistencia cuantitativa puede mostrar cualquier nivel entre un mínimo y un máximo (Robinson, 1987).

De todos los factores que pueden causar inestabilidad en el rendimiento de los cultivos, son solo los parásitos los que pueden cambiar genéticamente e incrementar rápidamente las poblaciones de esas nuevas y más virulentas formas con resultados catastróficos, por lo que la resistencia genética a estos parásitos es la táctica de manejo mas eficiente, económica y ecológicamente apropiada (García, 1996).

En el proceso de búsqueda de alternativas para el control de enfermedades, la obtención de genotipos resistentes es la opción más conveniente desde el punto de vista económico y ecológico. Sin embargo, los genetistas han prestado escasa atención a los caracteres cuantitativos que, en conjunto y en interacción con el ambiente, determinan las tasas de infección e invasión del hospedante y la reproducción del patógeno una vez que la

resistencia vertical ha sido rota. El proceso de selección por resistencia horizontal, consiste en utilizar la variabilidad genética, natural o inducida, de un cultivo para acumular características que en conjunto permitan incrementar su rendimiento en presencia de patógenos para los cuales se está buscando resistencia. Debido a lo anterior es indispensable inactivar epidemiológicamente la resistencia vertical, de lo contrario existe el riesgo de que la ausencia de infección en miembros de una población dada sea debida a este tipo de resistencia y en consecuencia la resistencia horizontal sea enmascarada, por lo que es necesario que al inicio del proceso de selección, la base genética sea formada con progenitores susceptibles a una misma cepa de patógeno, la cual debe ser subsecuentemente utilizada durante todos los ciclos de selección, llamada técnica del patotipo designado (Guzmán et al., 1995).

2.4. Características de la resistencia horizontal

Dentro de las características de la resistencia horizontal se mencionan las siguientes: resistencia durable, no puede ser acoplada porque siempre lo está, funciona contra las razas del parásito que ya acoplaron la resistencia vertical del hospedante, y que ya iniciaron el proceso de parasitismo, ocurre en todas las plantas independientemente de los genes de resistencia vertical que pueda contener y funciona contra todas las razas del parásito, independientemente también de los genes de parasitismo vertical que pueda contener; para todo fin práctico es una resistencia permanente. Posee variabilidad cuantitativa con todos los grados de diferencia entre un mínimo y un máximo, lo que significa que estos niveles de resistencia pueden cambiar; es de esperarse ese rango de diferencias, porque en las plantas silvestres la capacidad epidemiológica de los parásitos varia en forma similar; en clima favorable, los parásitos tendrán la máxima capacidad

epidemiológica y, por lo mismo, sus ecotipos vegetales silvestres también acumularan los máximos niveles de resistencia horizontal. De manera contraria, en clima desfavorable, donde el parásito apenas pueda sobrevivir, o en ausencia física de ellos será mínima la necesidad de la resistencia horizontal en el hospedero. En esas circunstancias, los ecotipos hospederos perderán la mayor parte de ella y devendrán muy susceptibles, si es que son llevados a un área donde el parásito posee gran capacidad epidemiológica. Por todo lo anterior los fitomejoradores pueden disponer de un rango amplio de resistencia horizontal y siguiendo este ejemplo, pueden lograr la selección artificial de altos niveles de resistencia horizontal que logren un control total de muchos parásitos en muchos cultivos y en muchas áreas, obteniendo una protección permanente y completa. Para tener una variabilidad cuantitativa y realizar mejoramiento genético por resistencia horizontal, no es imprescindible comenzar con una buena fuente genética de resistencia, pero si una amplia base genética de padres relativamente susceptibles. Dicho mejoramiento requiere realizarse por selección masal recurrente y ésta, permite la selección simultánea de muchas variables diferentes, lo que significa que el fitomejorador puede ejercer presiones de selección múltiples para todos los objetivos de mejoramiento, y en la práctica el genetista sólo requiere de seleccionar a nivel población para obtener altos rendimientos, alta calidad del producto cosechado, buena adaptabilidad agronómica y buena fitosanidad en presencia de todos los parásitos localmente importantes. Durante cada generación de selección el criterio de buena fitosanidad consiste en hallar los individuos menos parasitados.

La resistencia horizontal es funcional contra todas las razas de un parásito que se encuentren presentes y no falla contra razas que pudieran aparecer posteriormente. Para lograr resistencia horizontal no se requiere contar con una buena fuente de resistencia,

esta resistencia puede estar presente en cualquier planta hospedante contra cualquier parásito de la misma, por lo que es posible hacer mejoramiento para resistencia horizontal si sólo se cuenta con una amplia base genética a partir de la cual es posible acumular resistencia horizontal. La resistencia es completa y el control ejercido no requiere del uso de otros métodos y, puesto que es continuamente variable, es posible incrementar el nivel de resistencia durante cierto número de ciclos de selección masal recurrente hasta lograr un nivel máximo con el cual se de un completo control del parásito en cuestión, no es un método de mejoramiento repetitivo, y cuando es alcanzado un buen nivel de resistencia horizontal, las variedades no requieren ser reemplazadas, excepto por una que sea superior en todos los aspectos, incluyendo el nivel de resistencia horizontal (Robinson, 1996).

2.5. La resistencia cuantitativa en frijol

Para desarrollar un programa de mejoramiento genético por resistencia horizontal, se debe inactivar la acción de la resistencia vertical durante el proceso de selección, para evitar que se seleccione por ausencia de parasitismo. Esto, se puede lograr por medio de la técnica del patotipo designado, técnica que con mayor frecuencia se usa para inactivar epidemiológicamente la resistencia vertical durante el proceso de selección. Implica la selección de un patotipo único, mismo que no requiere de la identificación de su composición de genes; conlleva la selección de un número determinado de patodemos, que formarán la población de padres potenciales en el proceso de mejoramiento, los materiales no acoplados son descartados y son retenidos únicamente aquellos que son acoplados y de esta manera se asegura que todas las resistencias verticales que pudieran

estar presentes en la población de selección sean acopladas, por lo que cualquier resistencia que permanezca será resistencia horizontal (Robinson, 1987).

Un ciclo de mejoramiento, consiste en todas las operaciones que ocurren entre un período de polinización cruzada de los progenitores seleccionados, terminando justo antes de la siguiente polinización cruzada. Pueden pasar varias generaciones, incluidas las de multiplicación, descendencia de una sola semilla, que puede ser multigeneracional, y tal vez una selección tardía para obtener los padres del siguiente ciclo (Robinson, 1996).

El programa de mejoramiento genético por resistencia cuantitativa en frijol en el Colegio de Postgraduados, empleó la técnica de selección masal recurrente, inició con el trabajo de investigación de Valenzuela en 1988. De 72 genotipos de frijol colectados de la región Mixteca, se hicieron muestreos para obtener aislamientos de los principales patógenos presentes, obteniendo aislamientos de *Macrophomina phaseolina* (pudrición carbonosa), *Rhizoctonia solani* (pudrición de la raíz), *Xanthomonas campestris pv phaseoli* (tizón común) y Virus Mosaico Común del Frijol (BCMV), seleccionados por su acoplamiento con la mayoría de los genotipos y en forma simultánea, de esta manera fue posible designar los patotipos V-972, M-52 y X-118 y los patodemos 4, 20, 31, 48, 52, 54 y 55. El autor argumenta, que un programa de mejoramiento por resistencia horizontal debe iniciarse con materiales así seleccionados. Los patodemos son todos susceptibles a todos los patotipos, por lo que la resistencia vertical ha sido inactivada y es necesario ahora acumular poligenes de resistencia horizontal.

Alvarado (1993) realizó un trabajo de investigación en Huaquechula, Puebla, con genotipos de frijol para evaluar el avance de la resistencia horizontal a enfermedades en este cultivo. En este trabajo, se utilizaron los patodemos 4, 20, 31, 48, 52 y 54, que designó Valenzuela (1992) y genotipos del primer y segundo ciclos de mejoramiento. Pese a lo temprano de la evaluación (sólo dos ciclos de mejoramiento), encontró un ligero incremento en los niveles de resistencia en algunas progenies del segundo ciclo de mejoramiento, aunque no distintas de algunos de los padres originales, respecto a su reacción frente a la inoculación con la bacteria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, tanto en condiciones de campo como de invernadero.

Madariaga (1998) realizó un trabajo de investigación cuyo fin fue evaluar el avance genético de los materiales de frijol producto del segundo y tercer ciclos de mejoramiento por resistencia horizontal global. Su trabajo, no apoya la hipótesis de acumulación de resistencia a tizón común, ya que encontró que son precisamente los materiales más avanzados los que presentan los mayores síntomas y con mayor rapidez en comparación con sus progenitores; sin embargo, su experimento parece indicar que entre los materiales ensayados, aquellos cuya semilla provenía de campo (de reciente inoculación intencional) presentan una infección interna que no mostró síntomas hasta el momento en que los folíolos fueron expuestos a las condiciones ideales para el desarrollo de la enfermedad; por lo que especula que la inoculación no fue lo que estableció la diferencia, sino la presencia y transmisión del patógeno a través de la semilla. Sobre esta aseveración no fue posible tener certeza pues por diversas dificultades no se pudieron establecer los testigos correspondientes sin inoculación. El daño mayor observado en los materiales avanzados, tal vez se deba a que se trataba apenas de los progenitores del

segundo y tercer ciclo de mejoramiento y de acuerdo con Robinson (1996), son necesarios un mínimo de siete ciclos completos de fitomejoramiento para alcanzar niveles adecuados de resistencia horizontal. En los primeros ciclos completos de mejoramiento no se obtienen resultados espectaculares, puesto que un programa de mejoramiento genético por resistencia horizontal, es un proceso paulatino y acumulativo.

Madariaga (1998) argumenta que el camino que se ha seguido en el proceso de mejoramiento por resistencia horizontal global, aunque lento, muestra ser el correcto. El porqué el progreso en selección para resistencia a una amplia gama de patógenos es muy lento, se debe a que no existe un método confiable de evaluación donde los resultados varían de un experimento a otro y la resistencia está asociada con otros caracteres agronómicos indeseables. Si el método de evaluación es bueno, se pueden distinguir pequeñas diferencias en resistencia y la resistencia a patógenos no especializados involucra genes que afectan procesos fundamentales en las plantas, esta selección afectara varios aspectos de la planta y frecuentemente no en la dirección deseada por el mejorador. La selección llega entonces a ser un compromiso y los incrementos en resistencia son pequeños pero tales avances pueden ser considerados como permanentes puesto que se asume que no existe adaptación del patógeno. Evaluando el avance genético de los materiales de frijol generados del segundo y tercer ciclos de mejoramiento, reportó la acumulación de resistencia a la bacteria del tizón común por parte de los padres del cuarto ciclo de cruza.

Cruz (2001) con la finalidad de conocer el nivel de resistencia acumulada después de tres ciclos de selección recurrente, evaluó en campo 70 genotipos de frijol (siete progenitores iniciales, 33 progenitores del ciclo tres de selección y 30 progenitores del ciclo cuatro de selección) ante la presencia del patógeno (inoculación artificial) en tres localidades con el objeto de conocer el nivel de resistencia de cada grupo de progenitores ante el tizón común, el avance en rendimiento y sus componentes. Sus resultados indicaron que el avance en rendimiento después de tres ciclos de selección recurrente fue de 18.9 % y los componentes de rendimiento (numero de vainas, longitud de vainas) mostraron avance respecto al grupo de progenitores iniciales. El avance en resistencia al tizón común a través de tres ciclos de selección recurrente fue de 54.4%. El grupo de progenitores más avanzado presentó los niveles más bajos de daño causados por la bacteria del tizón común. El rendimiento se encontró asociado a características fisiológicas y epidemiológicas del tizón común por lo que la búsqueda de resistencia debe estar asociada a la selección de genotipos con respuesta de altos rendimientos en presencia del patógeno. Demostró la factibilidad de la acumulación de genes que confieren resistencia para *Xanthomonas axonopodis* pv *phaseoli*, mediante selección recurrente.

2.6. Características generales del tizón común

2.6.1. Descripción

Es una bacteria gram negativa, mide 0.4-0.9 micras de diámetro por 0.6-2.6 micras de largo, móvil, con un solo flagelo polar y aeróbica. En el medio de cultivo las colonias son convexas y de color amarillo brillante (SARH, 1992).

2.6.2. Síntomas

El Tizón común del frijol manifiesta síntomas foliares que aparecen primero como pequeños puntos acuosos en el envés de las hojas, lesiones flácidas y rodeadas de un borde angosto de color amarillo culminando con una necrosis de color café afectando amplia superficie de las hojas, sobre todo las inferiores y más viejas, presentándose a altas temperaturas y elevada humedad relativa en etapa de floración y posterior a esta (Valenzuela, 1992).

La enfermedad del tizón común causa daños en tallos, vainas y semillas, pero lo más característico son las manchas de aspecto húmedo de forma irregular que se presentan en el envés de las hojas. Al aumentar de tamaño las manchas se unen y le dan una apariencia de flacidez a la hoja, en algunos casos se forma una delgada capa de color amarillo alrededor de la lesión y posteriormente todo el tejido se pone negro causando la caída prematura de las hojas. Puede provocar una defoliación completa en la planta y como se puede diseminar a través de semillas infectadas es un problema potencial para otras regiones donde no esta presente la enfermedad (SARH, 1992).

2.6.3. Epidemiología

Los factores climáticos principales que favorecen la infección son la alta temperatura (28 C) y la alta humedad relativa (80–90 %). Esta humedad favorece la penetración de la bacteria en la planta a través de los estomas, hidatodos o heridas (SARH, 1992).

Rodríguez (2001) menciona que la bacteria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* se transmite por semilla, puede ir adherida a la superficie de la semilla, estar dentro de ella o acompañarla, ya sea en residuos vegetales o en partículas de suelo.

El tizón común, es un serio problema en regiones tropicales, subtropicales y templadas, donde se siembra el frijol, favorecida por la temperatura y humedad relativa alta en el ambiente (Alvarado, 1995).

Navarrete (1996) menciona que las pérdidas causadas por el tizón común en diferentes variedades se debieron probablemente a que los experimentos desarrollados en campo estuvieron sujetos a las condiciones climáticas aleatorias de los distintos años y en diferentes localidades, lo que puede resultar en escapes o diferencias en los niveles de presión del inóculo; además de diferencias en la reacción de las variedades de acuerdo a la etapa fenológica en que ocurrió la infección y de la época de incidencia de la enfermedad.

2.7. Virus del mosaico común

2.7.1. Importancia

El Virus del Mosaico Común del Frijol (BCMV), es la enfermedad causada por virus de mayor importancia económica en México. Esta enfermedad puede llegar a ser un problema muy serio cuando no se le combate oportunamente en las zonas de producción. En esta situación se pueden tener pérdidas en rendimiento hasta de un 95%. En el Estado de Guanajuato se han tenido problemas de producción con daños del 30%. Otros estados de la República donde también se han reportado problemas en el campo con este virus son: Sinaloa, Jalisco, México, Morelos, Tamaulipas, Nayarit, Veracruz y Chiapas (Anónimo 1).

2.7.2. Descripción

El virus del BCMV se observa en el microscopio electrónico, como una partícula en forma de bastón la cual mide 750 milimicras de largo. Su partícula se caracteriza por tener una cubierta proteica con un peso molecular de 32.5 a 34.4 x 10 daltones (Anónimo 1).

2.7.3. Síntomas

Los síntomas más típicos de esta enfermedad en las regiones productoras de México consisten en mosaico de color verde en las hojas de la planta de frijol. Comúnmente se presentan franjas o manchas como ampollas de un color verde más oscuro, distribuidas irregularmente sobre la lámina foliar. Este síntoma también puede ir acompañado por una deformación de las hojas cuyos bordes se enroscan hacia el envés. Estas hojas en otros casos se pueden modificar, alargándose y poniéndose delgadas. La acción de este virus también ocasiona un cierto enanismo en las plantas y las vainas se desarrollan

pequeñas y curvadas. Todo esto, indudablemente, afecta el rendimiento del cultivo (Anónimo 1).

Las plantas tolerantes desarrollan el mosaico y la malformación, las sensibles desarrollan la rugosidad, el mosaico, malformación de las vainas en la parte inferior de la planta, y la muerte (cuando se encuentran a una temperatura de 26 C) (Brunt et al., 1996).

2.7.4. Epidemiología

La infección temprana de las plantas ocurre en las etapas fenológicas V2, V3, V4, causando mayores daños económicos al cultivo. La semilla infectada de frijol se puede considerar que es la principal fuente de inóculo para la diseminación del virus. El virus se puede transmitir también al tocar plantas enfermas y después plantas sanas. Sin embargo, la mayor dispersión de la enfermedad dentro de un campo de cultivo ocurre si se presentan poblaciones de pulgones o áfidos, los cuales son vectores muy importantes de este virus. Algunas de las especies de estos insectos vectores son *Myzus persicae* y *Aphis gossypii*. Existe un alto número de plantas cultivadas y de especies silvestres que son hospedantes del virus, las cuales constituyen otra fuente importante de inóculo. Las temperaturas intermedias entre 18 y 25 C son las más favorables para que se presenten los síntomas del virus (Brunt et. al, 1996).

2.7.5. Métodos de control

Control cultural: a) En las zonas productoras de frijol, se debe tratar de sembrar en una época en la cual se minimice el período de exposición a los áfidos; esta medida permitiría reducir la incidencia de la enfermedad. b) El porcentaje de transmisión del virus a través de la semilla varía del 10 al 90%, lo cual hace necesario que se use siempre semilla limpia de virus. c) Dentro del campo donde se este produciendo el frijol, se debe eliminar malezas para reducir fuentes de inóculo (Anónimo 1).

Control genético: Dentro del manejo integrado de esta enfermedad, el control genético es el más conveniente y perdurable y, aunque de acuerdo con algunos autores (Anónimo 1), existen en el país un número considerable de variedades de frijol con buena resistencia al BCMV, en la práctica, tales variedades parecen no estar disponibles.

Control químico: Las ventajas de esta medida de control son que al aplicarlo se reducen las poblaciones de áfidos y consecuentemente se disminuye la transmisión del virus. Se debe emplear cuando se usen variedades susceptibles al BCMV (Anónimo 1).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo consta de dos fases: laboratorio y campo.

3.1. Trabajo de laboratorio

En Marzo del 2002, se estableció la fase de laboratorio para poder definir el avance genético por resistencia a la bacteria del tizón común mediante un método cualitativo y rápido.

3.1.1. Localización del experimento

El experimento se ubicó en el laboratorio de Ecología de Enfermedades perteneciente al área de Fitopatología, del Instituto de Fitosanidad, del Colegio de Postgraduados, en Montecillo, Edo. de México.

3.1.2. Desarrollo del experimento

3.1.2.1. Incremento y concentración de inóculo. Para realizar las inoculaciones con la bacteria, ésta se reprodujo en medio de cultivo YDC (extracto de levadura-dextrosa, ver procedimiento en el anexo 1). La bacteria se reactivó a partir de la colección liofilizada, colocando durante 4 horas el liofilizado en un matraz que contenía una mezcla de extracto de levadura y agua destilada. Pasando este tiempo se sembró la bacteria en las cajas petri que contenían medio de cultivo YDC. Una vez obtenido bastante inóculo de bacterias, se transfirió a 10 matraces con medio líquido (extracto de levadura y glucosa) y se colocó en la incubadora a 25 C por tres días, después de los cuales, el cultivo se centrifugó para eliminar el medio de cultivo y la bacteria se resuspendió en agua destilada estéril, calibrando la cantidad de células bacterianas por mililitro (1×10^8 células bacterianas/ml), mediante comparación con concentraciones conocidas.

3.1.2.2. Inoculación de la bacteria. Consistió en la utilización de folíolos desprendidos de frijol de genotipos tanto de ciclos avanzados de mejoramiento, como de padres originales, variedades comerciales y variedades regionales. Los folíolos fueron desprendidos cuando las plantas de frijol tenían 28 días de edad y fueron mantenidos en tubos de ensaye de 25 ml conteniendo agua de la llave. Se utilizaron 10 folíolos por cada variedad y el grupo de tubos con sus respectivos folíolos, se mantuvieron en cámara húmeda (mediante la instalación de un humidificador). Bajo esas condiciones de alta humedad, una alta concentración de células bacterianas de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (1×10^8 células/ml) fue asperjada sobre los folíolos, manteniendo las condiciones de alta humedad por 5 días o más. Por cada variedad se utilizaron 10 tubos, los cuales fueron asperjados con el inóculo de la bacteria y se utilizaron solamente ocho tubos y los otros dos sirvieron como testigos. Este experimento se repitió dos veces en el tiempo y en cada experimento se emplearon las mismas variedades, de hecho, los folíolos fueron desprendidos de las mismas plantas, por lo que la única diferencia entre experimentos fue la edad de las plantas de las que se desprendieron los folíolos en cada experimento. Los genotipos probados se indican en el Cuadro 1. Para el primer experimento, los folíolos fueron desprendidos cuando las plantas estaban en la etapa de desarrollo V3 (cuando las plantas tenían 28 días de edad y tenían la primera hoja trifoliada, ver anexo 3), para el segundo experimento, 12 días después del primer experimento en la misma etapa.

Cuadro 1. Genotipos comparados en su resistencia a *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, inoculados bajo condiciones de cámara húmeda, mediante la utilización de folíolos desprendidos, mantenidos en agua en tubos de ensaye. Montecillo, Edo. de México, Primavera del 2002.

Padres Originales	Genotipos Avanzados	Variedades Regionales	Variedades Comerciales
Po 20	P4C 2	Negro Tezonteapa	Pinto Villa
Po 32	P5C 1	Nativitas	Negro Perla
Po 48	P5C 4		
	P5C 7		
	P6C 7		
	P7C 10		
	P7C 11		
	P7C 15		

3.1.3. Observación de síntomas

Para la evaluación del grado de resistencia, se empleó una escala visual de 1 a 10, en la que 1 es hoja sana, 5 hoja clorótica y 10 hoja necrosada con todos los rangos intermedios. Las evaluaciones se realizaron, en diferente fecha y después de la inoculación para cada experimento, para el primer experimento fue a los cuatro días y para el segundo experimento a los ocho días. Se tomaron fotografías, estableciendo contrastes entre genotipos.

3.2. Trabajo de campo

La fase de campo se estableció para evaluar el nivel de resistencia de los genotipos avanzados en comparación con los padres originales, variedades comerciales y variedades regionales bajo condiciones de campo mediante inoculación artificial de la bacteria del tizón común.

3.2.1. Localización del experimento

La parcela experimental se ubicó en terrenos del Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, durante los meses de junio a noviembre del 2002, ubicada en la tabla agrícola San Juan III, lote J-84 y con una superficie de 0.38 h., localizada a los 19° 29' latitud norte y 98° 53' longitud oeste, y a una altitud de 2250 msnm.

3.2.2. Clima

García (1988) describe el clima en la región de Chapingo como: Cb (Wo) (W) (i') g, templado subhúmedo con lluvias en verano, verano fresco y largo, siendo julio el mes mas lluvioso, lluvia invernal menor al 5% del total anual y una temperatura media anual entre 13 y 18 C, oscilación térmica anual de las temperaturas medias mensuales entre 5 y 7 C.

3.2.3. Suelo

El suelo moderadamente profundo con una capa de tepetate a la profundidad de 0.15 a 1.3 metros, de textura franco limoso con pH de 7 y un porcentaje de materia orgánica de 1.5% (Molina, 1987).

3.2.4. Diseño experimental

El diseño experimental empleado fue el de bloques al azar con 48 tratamientos y cuatro repeticiones.

3.2.4.1. Modelo lineal

$$Y_{ij} = U + \beta_i + T_j + E_{ij}$$

$$i = 1, 2, \dots, b$$

$$j = 1, 2, \dots, t$$

b = número de bloques

t = número de tratamientos

Y_{ij} = Respuesta obtenida en el j -ésimo tratamiento del i -ésimo bloque

U = Efecto medio general

β_i = Efecto atribuido al i -ésimo bloque

T_j = Efecto atribuido al j -ésimo tratamiento

E_{ij} = Terminio de error aleatorio

3.2.4.2. Tratamientos. En el presente trabajo se utilizaron 48 tratamientos. Cada tratamiento tiene asignado un genotipo. Los genotipos incluidos en el trabajo de campo se enlistan en el Cuadro 2.

3.2.4.3. Unidad experimental. La parcela experimental consistió en dos surcos de 5 m de largo por 0.64 m de ancho y distancia entre calles de medio metro. Por cada parcela se depositaron 110 semillas de forma manual, con una densidad de 55 plantas por surco a una distancia de .09 m entre plantas.

3.2.4.4. Variables evaluadas. Se determinaron las variables de rendimiento, porcentaje de daño por el Virus Mosaico Común del Frijol y porcentaje de daño por la bacteria del tizón común. El porcentaje de daño por el virus se interpretó considerando síntoma 1 (moderado) y síntoma 2 (severo). Para el caso del tizón común se utilizó una escala con valores de 0 a 5 e interpretados en porcentaje de daño; en donde 0 equivale a 0 % de área foliar dañada, 1 corresponde al 12.5 %, 2 corresponde al 25 %, 3 al 50 %, 4 a un 75 % y 5 indica un 100 %; sólo se hizo una evaluación, 15 días después de iniciada la floración. El diagnóstico del tizón común y del virus mosaico común se realizó a nivel de campo mediante observación visual de los síntomas.

3.2.4.5. Análisis de datos. Los datos obtenidos fueron analizados mediante el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System). Para la variable de rendimiento, se realizó análisis de varianza y la prueba de medias del rango múltiple de Tukey al 5%. Para las variables del nivel de daño por la bacteria del Tizón Común y nivel de daño por el Virus del Mosaico Común del Frijol en relación con el rendimiento, se realizó análisis de regresión.

3.2.5. Preparación del terreno.

El terreno fue preparado con un rastreo, surcado y trazado para delimitar el sitio experimental.

3.2.6. Siembra.

La siembra del frijol, se realizó el 17 de junio del 2002, de forma manual, cuidando de que la profundidad fuera lo mas uniforme posible.

3.2.7. Labores culturales

Después de la siembra, la única labor cultural que se realizó fue el control de malezas.

Se realizaron tres deshierbes de forma manual, el 26 de julio el 2 de septiembre y el 18 de septiembre del 2002.

3.2.8. Inoculación

En el laboratorio se obtuvo el inoculo de la bacteria del tizón común y se esperó a tener las condiciones de humedad y nublado para realizar la inoculación en campo, utilizando una mochila aspersora manual y asperjando completamente las plantas. Debido a que en la primera inoculación no se observaron síntomas, se realizó una segunda inoculación y desafortunadamente tampoco se presentaron síntomas, por lo que se hizo otra inoculación aprovechando la presencia de alta humedad originada por la lluvia, propiciando las condiciones necesarias para la manifestación de síntomas.

3.2.9. Estimación de rendimiento

A finales de noviembre del 2002, se cosecharon las plantas de frijol agrupando cada genotipo por repetición, se dejaron secar y fueron trilladas para obtener el peso de semilla de cada una de las plantas seleccionadas. Para evaluar el rendimiento en gramos se estimó el peso por parcela experimental.

Cuadro 2. Genotipos incluidos en el experimento de campo para la evaluación del avance genético por resistencia horizontal a la bacteria del tizón común. Chapingo, México, Otoño del 2002.

Padres originales	Genotipos Avanzados			Variedades Regionales	Variedades Comerciales
Po - 04	PC7 - 03	PC6 - 01	PC3 - 01	Negro Tezonteapa	Bayo
Po - 20	PC7 - 09	PC6 - 02	PC3 - 02	Amarillo regional	Jamapa
Po - 31	PC7 - 10	PC6 - 03	PC3 - 03	Negro Noventaño	Pinto villa
Po - 48	PC7 - 11	PC6 - 04	PC3 - 04		
Po - 52	PC7 - 12	PC6 - 05	PC3 - 05		
Po - 54	PC7 - 15	PC6 - 06	PC3 - 06		
Po - 55	PC7 - 21	PC6 - 07	PC3 - 07		
	PC5 - 01	PC4 - 01			
	PC5 - 02	PC4 - 02			
	PC5 - 03	PC4 - 03			
	PC5 - 04	PC4 - 04			
	PC5 - 05	PC4 - 05			
	PC5 - 06	PC4 - 06			
	PC5 - 07	PC4 - 07			

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Trabajo de laboratorio

4.1.1. Primer experimento

En los resultados obtenidos en los experimentos realizados bajo condiciones de laboratorio, se encontró diferente respuesta a la inoculación de la bacteria, en los genotipos, con base en los síntomas observados en las hojas del frijol. Los síntomas mostraron diferencias en severidad (dentro de una escala visual con un rango de 1 a 10, en la que 1 es hoja sana, 5 hoja clorótica y 10 hoja necrosada con todos los rangos intermedios) y fueron interpretados como niveles de resistencia. De acuerdo a la severidad del daño observada, en la Figura 1, se muestran diferencias entre genotipos. Con valor inferior a dos en la escala empleada (niveles altos de resistencia), se encontraron los genotipos P 5-1, P 6-7, P 7-15, Po 48 y Pinto Villa. Los valores más altos de daño (superiores a cuatro en la escala empleada) se observaron en los genotipos P 5-4, P 5-7, Po 20 y Po 32 y con valores de severidad intermedios P 4-2, P 7-10, P 7-11 y las variedades regionales Negro de Tezonteapa y Nativitas y la variedad comercial Negro Perla. De tres progenitores originales incluidos, dos mostraron los niveles de daño más altos y sólo el progenitor original 48 mostró resistencia, aunque el daño observado fue menor para uno de los progenitores del séptimo ciclo, el P 7-15.

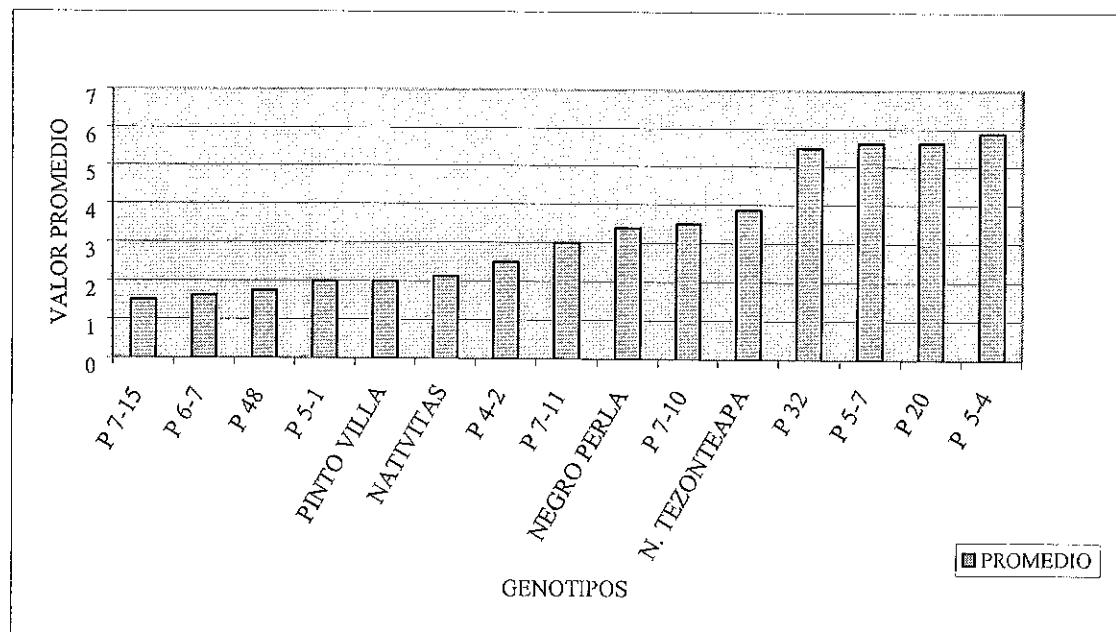


Figura 1. Nivel de daño observado en los genotipos evaluados con base en la escala de 1 a 10 en respuesta a la inoculación con *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* bajo condiciones de cámara húmeda sobre folíolos desprendidos, a los cuatro días de la inoculación. Montecillo, México, 2002.

4.1.2. Segundo experimento

Se observaron diferencias entre genotipos con base en los valores dados por la escala utilizada (escala visual de 1 a 10, en la que 1 es hoja sana, 5 hoja clorótica y 10 hoja necrosada con todos los rangos intermedios); los niveles de resistencia mas altos (daños inferiores a la escala de 3) se presentaron en los genotipos P 7-15, Po 48 y en la variedad comercial Pinto Villa. Niveles intermedios de resistencia (escala de 3 a 5) se observaron para los genotipos de los ciclos avanzados P 4-2, P 5-1, P 6-7, P 7-11, y para la variedad regional Nativitas y variedad comercial Negro Perla. Los genotipos más susceptibles (con niveles de daño superiores a 5) fueron: los progenitores originales Po 20 y Po 32 y de ciclos avanzados P 5-4, P 5-7 y P 7-10, así como la variedad Negro de Tezonteapa (Figura 2).

Los experimentos desarrollados en laboratorio permitieron evidenciar en forma rápida la acumulación de resistencia horizontal en algunos de los genotipos avanzados del proyecto y a su vez confirmar que al realizar un programa de mejoramiento genético por resistencia horizontal, se logran acumular niveles de resistencia altos aunque se parta de padres originales susceptibles, pudiendo llegar a obtener niveles de resistencia muy altos después de varios ciclos de mejoramiento. Las diferencias en niveles de reacción permiten hacer comparaciones del nivel de resistencia acumulado en los genotipos avanzados, en padres originales, variedades comerciales y variedades regionales. Se ilustran ejemplos que mostrarán claramente el nivel de resistencia alcanzado en genotipos avanzados, como el del P 7-15, comparado con el padre original Po 20 y el genotipo P 7-10 comparado con el padre original Po 32 (Figuras 3 y 4 respectivamente).

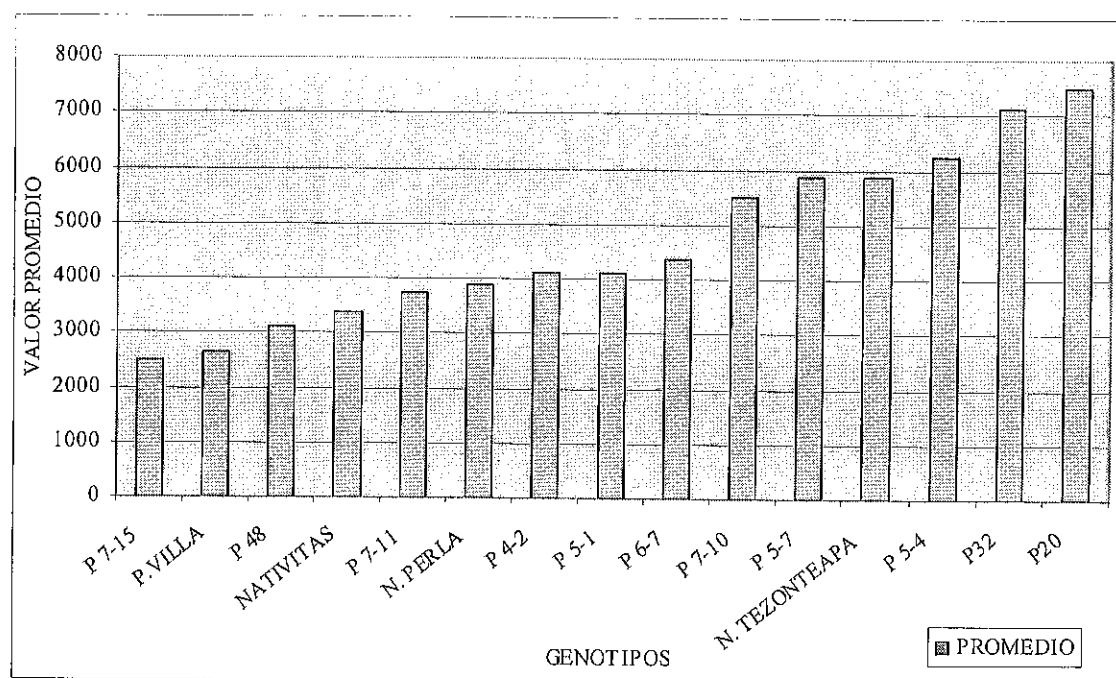


Figura 2. Nivel de daño observado en los genotipos evaluados con base en la escala de 1 a 10 en respuesta a la inoculación con *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* bajo condiciones de cámara húmeda sobre folíolos desprendidos, a los ocho días de la inoculación. Montecillo, México, 2002.

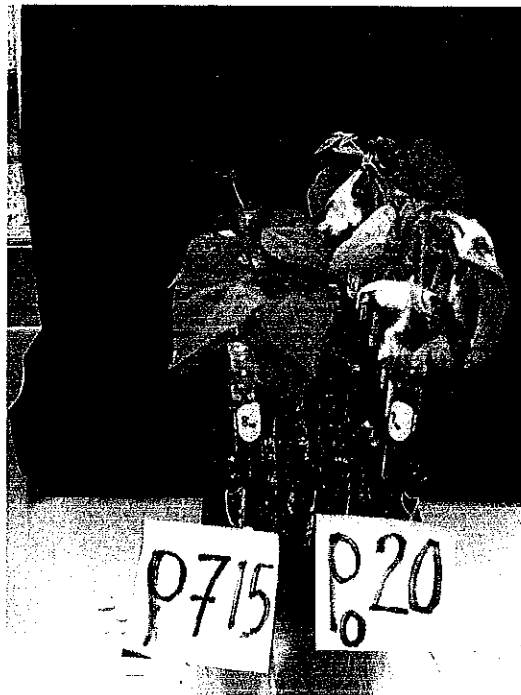


Figura 3. Alto nivel de resistencia contra el tizón común alcanzado en uno de los materiales mas avanzados en fríjol. Se observa a la izquierda un genotipo progenitor del séptimo ciclo de mejoramiento y a la derecha un genotipo padre original.



Figura 4. El Po 32, genotipo altamente susceptible a la enfermedad, muestra síntomas causados por el tizón común, y el P 7-10 genotipo que después de siete ciclos de mejoramiento ha logrado acumular un nivel de resistencia aceptable.

4.2. Trabajo de campo

4.2.1. Rendimiento

Los resultados del análisis de varianza sobre los datos de rendimiento (anexo 4) indicaron que existen diferencias significativas entre los genotipos evaluados, considerando un nivel de significancia de $\alpha=0.05$. Al realizar una comparación de medias mediante la prueba de Tukey (Cuadro 3), para saber cuales de los genotipos se diferenciaron por su rendimiento, se observó que dentro de los mejores genotipos con promedio arriba de los 1100 gramos por parcela se encuentran los de los ciclos avanzados de mejoramiento (tres genotipos del séptimo, cuatro genotipos del sexto, tres genotipos del quinto, un genotipo del cuarto y dos del tercero). En contraste, entre los genotipos que obtuvieron rendimientos promedio inferiores a los 700 gramos (significativamente distintos a los anteriores) se encuentran cinco padres originales, las tres variedades comerciales y las tres variedades regionales y dos genotipos del tercer y cuarto ciclo de mejoramiento. El hecho de que cinco de los padres originales se encuentren entre los 13 genotipos de menor rendimiento y de que uno de ellos, el Po 55 haya mostrado el más bajo rendimiento en contraste con el hecho de que los 13 genotipos de más alto rendimiento sean todos genotipos de ciclos avanzados de mejoramiento y que precisamente el de rendimiento más alto corresponda a uno de los genotipos del séptimo ciclo indica que ha habido avance genético en cuanto a rendimientos.

Cuadro 3. Pruebas Tukey para la variable rendimiento de los tratamientos empleados en el cultivo del frijol. Chapingo, México, 2002. (Se incluyen sólo los 13 genotipos de mayor y menor rendimiento).

Genotipo	Repetición	Media	Grupo Tukey
PC7-03	4	1487.5	A
PC6-01	4	1425.0	AB
PC5-07	4	1325.0	ABC
PC5-01	4	1275.0	ABC
PC6-06	4	1245.0	ABC
PC6-02	4	1236.3	ABC
PC7-15	4	1222.5	ABCD
PC4-03	4	1218.0	ABCD
PC5-02	4	1200.0	ABCDE
PC6-04	4	1200.0	ABCDE
PC7-09	4	1175.0	ABCDEF
PC3-03	4	1175.0	ABCDEF
PC3-05	4	1145.0	ABCDEFG
Existen diferencias significativas entre estos dos grupos			
Po 54	4	702.8	GHIJKLMNO
Po 52	4	675.0	HIJKLMNO
PC3-07	4	671.8	IJKLMNO
Po 31	4	633.3	JKLMNO
PC4-02	4	630.8	JKLMNO
AMARILLO REGIONAL	4	488.8	KLMNO
Po 4	4	475.0	KLMNO
PINTO VILLA	4	468.8	LMNO
NEGRO NOVENTEÑO	4	438.8	MNO
BAYO	4	356.8	NO
NEGRO TEZONTEAPA	4	355.0	NO
JAMAPA	4	325.3	NO
Po 55	4	292.8	O

$\alpha = 0.05$, Medias con la misma letra son significativamente iguales.

El comportamiento por grupo de genotipos respecto a su rendimiento promedio (Figura 5), muestra que los genotipos que presentan los rendimientos más altos son los de los ciclos más avanzados (quinto, sexto y séptimo ciclo de mejoramiento). Por el contrario, los padres originales, las variedades comerciales y las variedades regionales muestran los más bajos rendimientos.

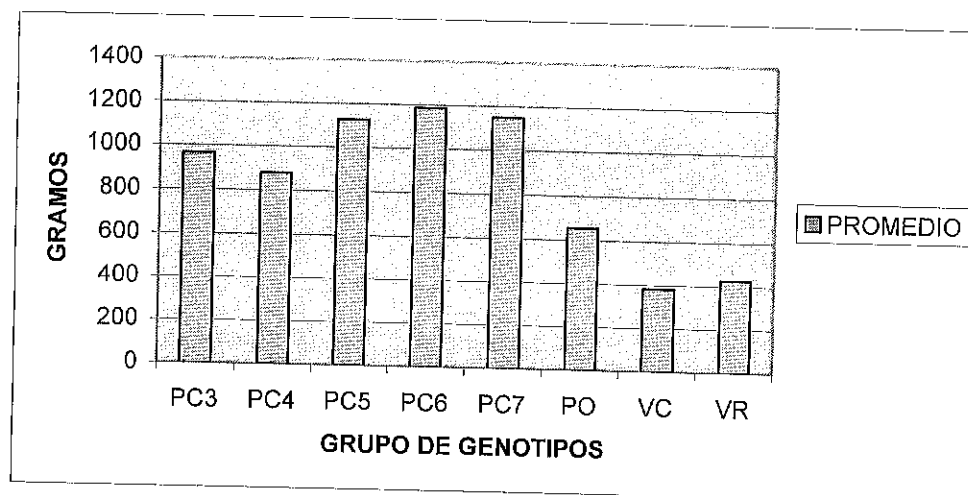


Figura 5. Rendimiento obtenido por grupo de genotipos.

4.2.2. Nivel de daño de la bacteria del tizón común sobre las poblaciones de frijol

El porcentaje de daño causado por el tizón común en los genotipos evaluados (Figura 6), es un parámetro epidemiológico que manifiesta como los genotipos han acumulado, durante varios ciclos de mejoramiento, altos niveles de resistencia contra éste patógeno. Los padres originales y las variedades regionales presentan en su población los porcentajes más altos del tizón común, comparados con los progenitores de los ciclos avanzados (PC3, PC6, PC4 Y PC7) a diferencia de las variedades comerciales en donde no existe daño por la bacteria, debido a que probablemente han sido seleccionadas por ser resistentes a esta bacteria. Los padres originales presentaron los porcentajes más altos de daño, debido a que son genotipos altamente susceptibles al tizón común. Se observa claramente como el grupo de los padres originales presenta el mayor porcentaje de daño (24.5 %) comparado con el grupo del séptimo ciclo de mejoramiento que presenta el mas bajo porcentaje (0.5 %), esto demuestra que se han alcanzado altos niveles de resistencia horizontal a la bacteriosis del tizón común.

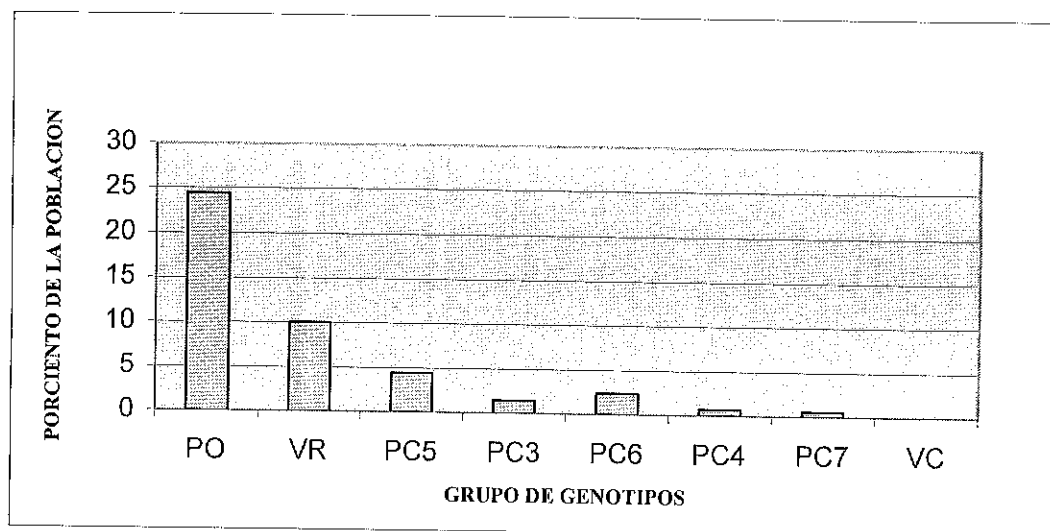


Figura 6. Porcentaje de la población con 50 % o más de área foliar dañada por tizón común en promedio por grupo de genotipos de frijol.

4.2.3. Análisis de regresión lineal entre rendimiento y la incidencia del tizón común

Con la finalidad de conocer el grado de asociación que existe entre el porcentaje de daño por bacteriosis y el rendimiento obtenido en los genotipos, se realizó el análisis por medio de la técnica de regresión lineal simple (Figura 7), la cuál indica relación entre el porcentaje de daño por la bacteria y el rendimiento. El análisis de regresión permite ajustar una línea recta para hacer predicciones acerca del rendimiento, manifestándose como una línea con pendiente negativa, es decir a medida que se incrementa el daño por la bacteria el rendimiento disminuye. Esta línea de regresión explica la pérdida en rendimiento debida al ataque del tizón común en un 5 %; sin embargo, es una apreciación global, que incluye a materiales tanto susceptibles como resistentes. Los datos de campo (anexo 5) permiten observar que del total de genotipos avanzados (tercer, cuarto, quinto, sexto y séptimo ciclo), un 78 % de los genotipos fueron los de rendimiento más alto, precisamente por su baja incidencia de tizón común.

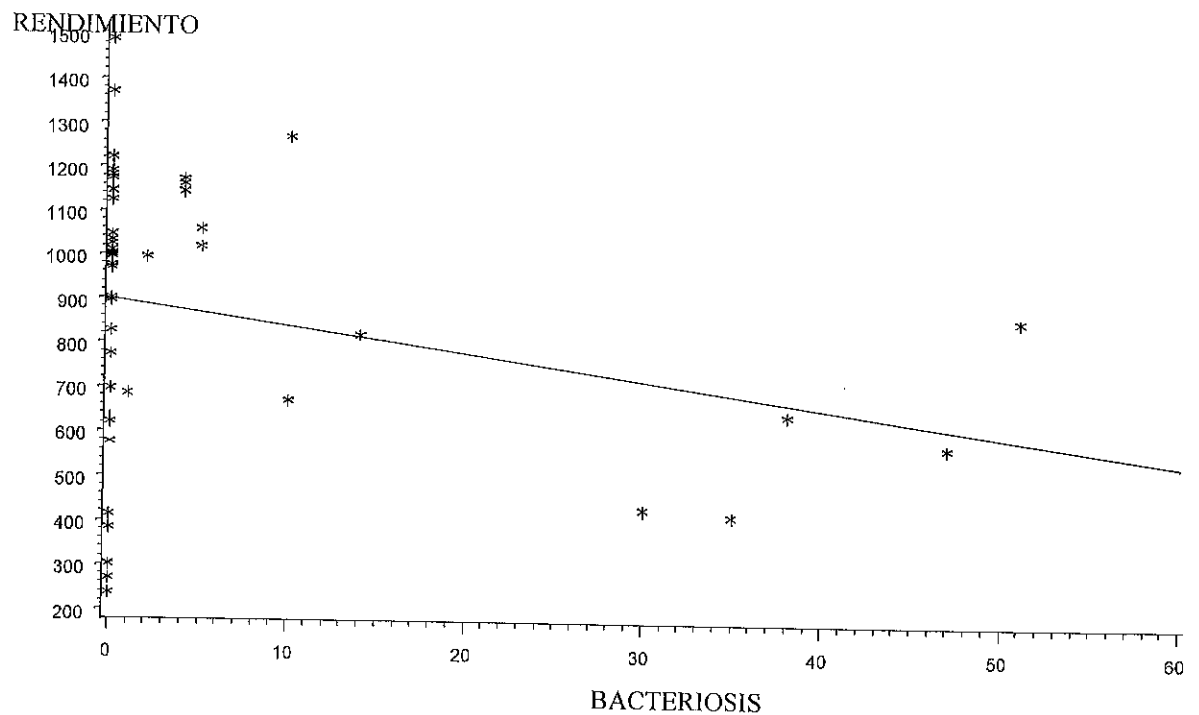


Figura 7. Grado de asociación entre el daño por la bacteria y el rendimiento en genotipos de frijol, tanto de ciclos avanzados de mejoramiento como progenitores originales, variedades comerciales y variedades regionales.

4.2.4. Nivel de daño del virus del mosaico común sobre las poblaciones de frijol

Las variedades regionales, las variedades comerciales y los padres originales, presentan en su población los porcentajes más altos de daño, comparados con los de los ciclos avanzados (PC5, PC6 Y PC7) en donde no existe daño por el virus. El porcentaje de daño causado por el Virus Mosaico Común del Frijol en los genotipos evaluados (Figura 8), manifiesta como los genotipos han acumulado, durante varios ciclos de mejoramiento, altos niveles de resistencia contra éste patógeno.

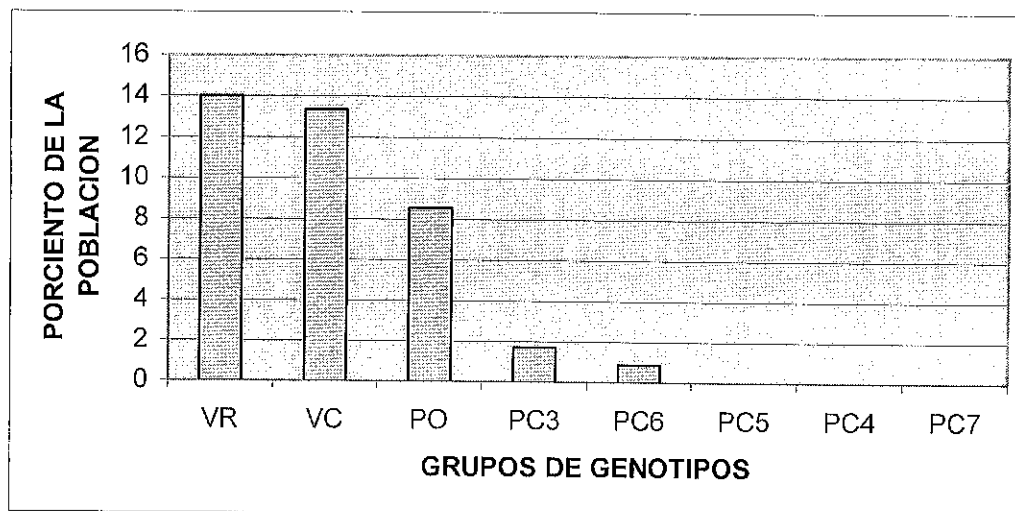


Figura 8. Porcentaje de la población dañada con el síntoma severo del virus mosaico común del frijol en promedio por grupo de genotipos de frijol.

4.2.5. Análisis de regresión lineal entre rendimiento y la incidencia del virus del mosaico común

Para el caso de la incidencia del Virus del Mosaico Común, el análisis de regresión lineal simple (Figura 9), indica que existe una relación inversamente proporcional entre el porcentaje de daño por el virus y el rendimiento. Con base en estos resultados el porcentaje de daño por virus contribuye de manera significativa en el rendimiento, en donde a medida que aumenta el porcentaje de daño por el virus el rendimiento disminuye. El análisis de regresión permite ajustar una línea recta con pendiente negativa, es decir a mayor porcentaje de daño por virus, menor rendimiento. Esta línea de regresión explica la pérdida en rendimiento debida al ataque del virus del mosaico común en un 43 %; sin embargo, es una apreciación global, que incluye a materiales tanto susceptibles como resistentes. Los datos de campo (anexo 5) permiten observar que del total de genotipos de ciclos avanzados, un 52% fueron los de rendimiento más alto, precisamente por su baja incidencia del virus del mosaico común.

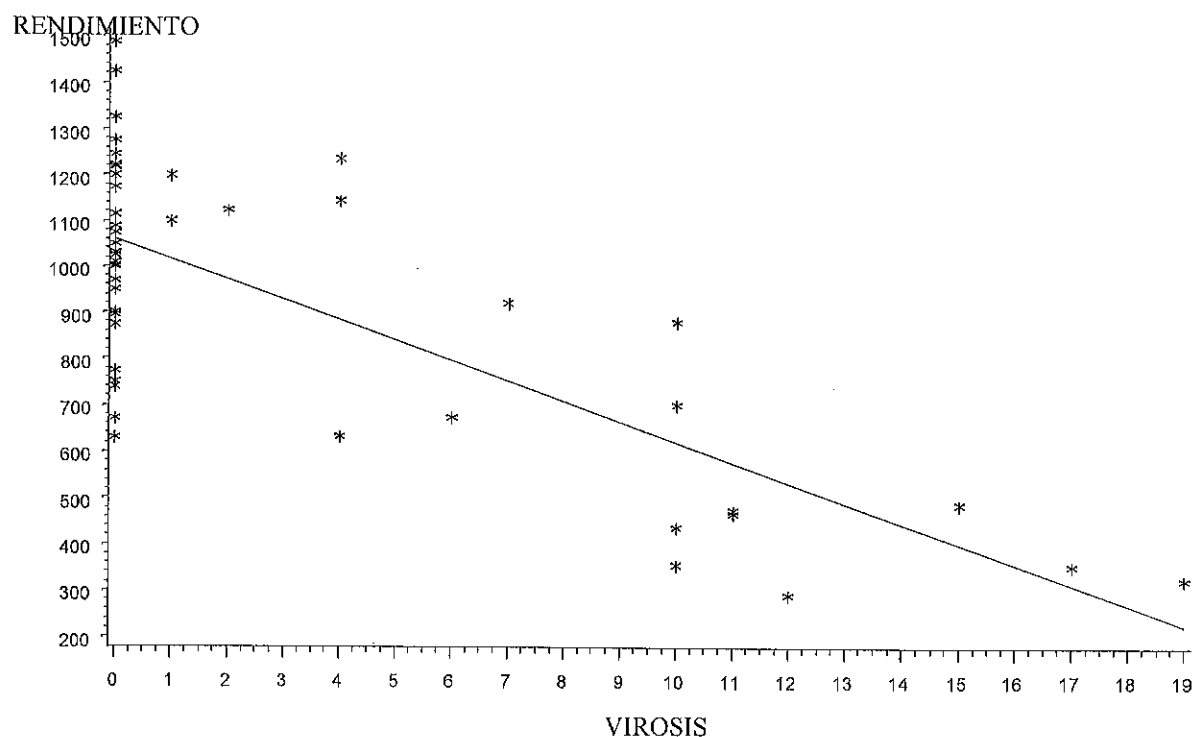


Figura 9. Grado de asociación entre el daño por el virus en relación con el rendimiento en genotipos de frijol, tanto de ciclos avanzados de mejoramiento como progenitores originales, variedades comerciales y variedades regionales.

4.2.6. El efecto de la acumulación de resistencia horizontal sobre el rendimiento

El comportamiento que tuvo el rendimiento entre genotipos fue variable, en el sentido de que se vió influenciado por el porcentaje de daño, tanto por el tizón común como por el Virus Mosaico Común del Frijol y en respuesta al nivel de resistencia horizontal presente en los genotipos de los ciclos avanzados de mejoramiento (tercer, cuarto, quinto, sexto y séptimo) comparado con las variedades regionales y comerciales.

El significativo incremento en rendimiento por parte de numerosos genotipos de los ciclos avanzados del programa de mejoramiento por resistencia horizontal (Cuadro 3), encuentra explicación en la menor incidencia y daños de la bacteriosis del tizón común

(Figura 6) observada para los genotipos de ciclos avanzados, especialmente en comparación con algunos de los progenitores originales. Muchos de los genotipos individuales que alcanzaron los rendimientos más altos, lo lograron gracias a la menor incidencia y daños del tizón común (Anexo 4 y Figura 7). La acumulación de resistencia contra el Tizón Común se evidenció de una manera rápida mediante el ensayo de inoculación sobre folíolos desprendidos de los experimentos de laboratorio.

Si bien el mayor rendimiento de los genotipos avanzados puede ser explicado por los daños reducidos del Tizón Común, resulta aún más claro este efecto por parte de la incidencia y daños reducidos del Virus del Mosaico Común del Frijol. Las variedades regionales, las variedades comerciales y los padres originales claramente muestran el mayor grado de daño en comparación con los grupos de genotipos avanzados (Figura 8). Esto parece indicar, por un lado, que la selección contra la virosis ha sido más efectiva y por el otro, que los daños de la virosis bajo condiciones de campo son más severos, por lo que el éxito del programa de mejoramiento, logra un nuevo balance productivo en las variedades mejoradas que permite rendimientos superiores, en algunos casos, de hasta 500 % respecto al progenitor de menor rendimiento. Esta recuperación en productividad podría restablecer el balance productivo de las variedades regionales de la región Mixteca, en virtud de que los materiales mejorados son idénticos a los genotipos regionales, tan apreciados por los agricultores de estas regiones por sus cualidades culinarias, excepto que los nuevos genotipos, han recuperado su resistencia al menos a dos de los patosistemas regionalmente más devastadores.

Los resultados del presente trabajo corroboran lo reportado por García (2002) quien indica que es posible observar la acumulación de resistencia horizontal al mostrar una correlación negativa entre el alto rendimiento de los genotipos avanzados y su baja incidencia de síntomas.

García et al., (2001) indican, que, considerando el rendimiento como el parámetro más holístico empleado en la selección, se han obtenido rendimientos que han superado a los progenitores originales, los cuales rinden 200 k ha^{-1} mientras que los genotipos del ciclo más avanzado rinden en promedio más de 1400 k ha^{-1} . Sus resultados que evidencian la acumulación de resistencia horizontal, sugieren que es factible obtener alta producción y alta calidad en cultivares con suficiente resistencia durable a todos los parásitos localmente importantes y eliminar la necesidad de proteger a los cultivos con agroquímicos. Al respecto, García et al., (2003) indican que la resistencia puede ser tratada como un carácter cuantitativo y que el mejoramiento por resistencia puede realizarse contra todos los patógenos localmente importantes y que es factible acumular altos niveles de resistencia cuantitativa en un tiempo relativamente corto.

V. CONCLUSIONES

El avance genético por resistencia a tizón común a través de siete ciclos de selección masal recurrente, ha alcanzado niveles altos en los genotipos seleccionados, puesto que tuvieron valores más altos de rendimiento y menor incidencia de daño.

El grupo de genotipos de los ciclos de mejoramiento más avanzados presentó los niveles más bajos de daño de Tizón Común tanto en laboratorio como en campo. Así mismo, los genotipos de los ciclos de mejoramiento más avanzados mostraron la menor incidencia del Virus del Mosaico Común del Frijol en el experimento de campo.

El rendimiento es un carácter que se encuentra asociado a características epidemiológicas del Tizón Común y del Virus Mosaico Común del Frijol, por lo que la búsqueda de resistencia debe estar asociada a la selección de genotipos con respuesta de altos rendimientos en presencia de estos patógenos.

VI. LITERATURA CITADA

- Alvarado M., S. 1995. Resistencia horizontal a tizón común (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye) y virus mosaico común en genotipos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis de Maestro en Ciencias. Programa de Fitopatología. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México.
- Anónimo 1: <http://www.iicasaninet.net/pub/sanveg/html/frijol/mos.html>
- Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J., Watson, L. and Zurcher, E.J. (eds). (1996 onwards). 'Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE. Database. Version: 16th January 1997.' URL <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>
- Castillo M., L.E. 2001. Introducción al SAS para Windows. Primera edición. Departamento de Parasitología Agrícola. Chapingo, México. 210 p.
- Cruz I. S. 2001. Respuesta a la selección para resistencia horizontal al tizón común (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) en frijol. Tesis de Maestro en Ciencias. Programa de Fitopatología. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. 154 p.

- García E., R., R. A. Robinson. F. Romero R., P. Ramírez V. y F. Castillo G. 1996. Resistencia genética al patosistema, factor esencial en la sostenibilidad agrícola. In: Agroecología y Desarrollo Sostenible. J. Pérez– M. & R. Ferrera–C. (eds.). Colegio de Postgraduados, Texcoco, México. pp. 58-71.
- García E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Kopen (para adaptarlo a las condiciones de la Republica mexicana). Cuarta edición. México,DF. 216 p.
- García E., R. R.A. Robinson. J.A. Aguilar P. P. Ramírez V. F. Castillo G. y F. Romero R. 1999. Centros de origen y domesticación, los mejores lugares para el fitomejoramiento por resistencia cuantitativa. In: Tercer Taller de Produza en resistencia duradera en cultivos altos en la zona Andina. D.L. Danial (ed). Cochabamba, Bolivia. pp 1-10.
- García E., R. R.A. Robinson. J.A. Aguilar P. S. Sandoval I. and R. Guzmán P. 2003. Recurrent selection for quantitative resistance to soil-borne diseases in beans in the Mixteca region, México. Euphytica 00: 1-7.

- García E., R. R.A. Robinson. P. Ramírez V. F. Castillo G. and F. Romero R. 2001. A Mexican bean-breeding programme for comprehensive horizontal resistance to all locally important pests and diseases. In: Broadening the Genetic Base of Crop Production. H.D. Hooper, C. Spillane & T. Hodgkin (eds.). CABI Publishing, Oxon, UK. pp. 399-406.
- Guzmán P., R.A. R. García E. R.A. Robinson. A. Muñoz O. y J.G. Valenzuela U. 1995. Avances en la obtención de resistencia horizontal en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). In: Diversidad genética y patología del frijol. J. Pérez-M., R. Ferrera-C y R. García-E. (eds.). Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. pp 25-42.
- Madariaga N., A. 1998. Reacción a enfermedades de genotipos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) mejorados bajo el concepto de resistencia horizontal. Tesis de Maestro en Ciencias. Programa de Fitopatología. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México.
- Molina D., V. 1987. Variación morfológica y anatómica de acicalas de 49 taxa de pinos del Pinetum "Maximino Martínez". Tesis de Licenciatura. División de Ciencias Forestales. Chapingo, México. 120 p.

- Muñoz O., A. S. Miranda C. y L.M. Serrano C. 1995. Diversidad genética y resistencia a factores adversos en frijol. In: Diversidad genética y patología del frijol. J. Pérez-M., R. Ferrera-C & R. García-E. (eds.). Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. pp 1-9.
- Muruaga M., J.S. J.A. Acosta G. y J.R. Aguirre R. 1995. Enfoque etnobotánico para la búsqueda de fuentes de resistencia a patógenos del frijol común. In: Diversidad genética y patología del frijol. J. Pérez-M., R. Ferrera-C & R. García-E. (eds.). Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. pp 16-24.
- Navarrete M., R. 1996. Variación patogénica de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye en México y resistencia del frijol al tizón común. Tesis de Doctorado. Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. 60 p.
- Robinson R., A. 1996. Return to resistance: Breeding crops to reduce pesticide dependence. AgAcces and International Development Research Centre. Davis California USA and Ottawa, Canada. 408 p.
- Robinson, R. A. 1987. Host Management in Crop pathosystems. MacMillan Publishing Company, New York, USA. 206 p.

Rodríguez M., M. L. 2001. Manual para la identificación de bacterias fitopatógenas. Segunda Edición. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. 119 p.

SARH. 1992. Guía fitosanitaria para el cultivo del frijol. Serie Sanidad Vegetal. México, D.F. pp 9-27.

Tamayo M., P. 1995. Manejo y control de las enfermedades del frijol voluble (*Phaseolus vulgaris* L.). Corporación Colombiana de Investigación agropecuaria, CORPOICA. Editorial Piloto, Medellín, Colombia.

Valenzuela U., J. G. 1992. Avance metodológico en la búsqueda de resistencia horizontal global al patosistema local del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en la Mixteca poblana; un análisis crítico. Tesis de Doctorado. Programa de Fitopatología. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. 90 p.

Valenzuela U., J.G. y R. García E. 1991. Selección de los patotipos y patodemos designados para obtener resistencia horizontal global al patosistema del frijol. In: Memorias del XVIII Congreso Nacional de Fitopatología. 24-26 de julio. Puebla de los Ángeles, Puebla. México. 104 p.

Van Schoonhoven A. y M. Pastor-Corrales. 1987. Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia.

ANEXOS

Anexo 1. Ingredientes y protocolo de preparación del medio YDC para aislamiento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Schaad y Stall, 1980).

Reactivos	Cantidad
Extracto de levadura	10.0 g
Dextrosa	20.0 g
Carbonato de calcio	20.0 g
Agar	15.0 g
Agua destilada	1000.0 ml

Preparación

Mezclar en un matraz de 500 ml de agua destilada el extracto de levadura, el carbonato de calcio y el agar en un agitador magnético, debidamente pesados, y adicionándolos uno por uno en el orden correspondiente, en otro matraz con 500 ml de agua destilada vaciar la dextrosa y disolver. Una vez bien agitados los reactivos en los dos matraces, meter a la olla de presión para esterilizarlos durante 20 minutos a 15 libras.

Al momento de vaciar a las cajas petri debidamente estériles, mezclar la dextrosa con el resto de los reactivos, mezclar bien mediante agitación constante y vaciar a las cajas y dejar enfriar.

Anexo 2. Etapas de desarrollo de la planta de frijol común (Schoonhoven y Pastor-Corrales, 1987).

ETAPA	DESCRIPCIÓN
V0	Germinación: absorción de agua por la semilla; emergencia de la radícula y su transformación en raíz primaria.
V1	Emergencia: los cotiledones aparecen al nivel del suelo y empiezan a separarse. El epicótilo comienza su desarrollo.
V2	Hojas primarias: hojas primarias totalmente abiertas.
V3	Primera hoja trifoliada: se abre la primera hoja trifoliada y aparece la segunda hoja trifoliada.
V4	Tercera hoja trifoliada: se abre la tercera hoja trifoliada y las yemas de los nudos inferiores producen ramas.
R5	Prefloración: aparece el primer botón floral o el primer racimo. Los botones florales de las variedades determinadas se forman en el último nudo del tallo o de la rama. En las variedades indeterminadas los racimos aparecen primero en los nudos más bajos.
R6	Floración: se abre la primera flor.
R7	Formación de las vainas: aparece la primera vaina que mide más de 2.5 cm de longitud.
R8	Llenado de las vainas: comienza a llenarse la primera vaina (crecimiento de la semilla). Al final de la etapa, las semillas pierden su color verde y comienzan a mostrar las características de la variedad. Se inicia la defoliación.
R9	Madurez fisiológica: las vainas pierden pigmentación y comienzan a secarse. Las semillas desarrollan el color típico de la variedad.

V= Vegetativa; R = Reproductiva. Cada etapa comienza cuando el 50% de las plantas muestran las condiciones que corresponden a la descripción de la etapa.

Anexo 3. Análisis de varianza para la variable rendimiento en los tratamientos empleados en frijol. Chapingo, México, 2002.

Variable Dependiente: Rendimiento					
Fuente	gl	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor F calculado	Pr > F
Modelo	50	17895506.30208330	7910.12604167	14.52	0.0001
Error	141	3475820.19270835	24651.20704048		
Total	191	21371326.49479160			
R cuadrada	C.V.	CME	Media del rendimiento		
0.837361	17.05835	157.0070286	920.41145833		
Fuente	gl	Error tipo I	Cuadrados medios	Valor F	Pr > F
Genotipo	47	17845634.24479160	379694.34563387	15.40	0.0001
Bloque	3	49872.05729167	16624.01909722	0.67	0.5691

Anexo 4. Datos de campo con porcentaje de daño por el tizón común y el virus mosaico común y rendimiento promedio obtenido en los genotipos de frijol. Chapingo, México, 2002.

GENOTIPO	% DAÑO POR TIZÓN COMÚN	% DAÑO POR VIRUS MOSAICO COMÚN	RENDIMIENTO PROMEDIO (GRAMOS)	GENOTIPO	% DAÑO POR TIZÓN COMÚN	% DAÑO POR VIRUS MOSAICO COMÚN	RENDIMIENTO PROMEDIO (GRAMOS)
PC7-03	0	0	1487,5	PC4-04	0	0	1087,5
PC7-09	4	0	1175	PC4-05	1	0	740
PC7-10	0	0	1025	PC4-06	0	0	751
PC7-11	0	0	1010	PC4-07	0	0	950
PC7-12	0	0	999,5	PC3-01	0	0	902
PC7-15	0	0	1222,5	PC3-02	0	0	1003,5
PC7-21	0	2	1125	PC3-03	0	0	1175
PC6-01	0	0	1425	PC3-04	0	0	970,75
PC6-02	0	4	1236,25	PC3-05	0	4	1145
PC6-03	5	0	1075	PC3-06	0	0	896,5
PC6-04	4	1	1200	PC3-07	10	0	671,75
PC6-05	0	1	1100,75	PO4	35	11	475
PC6-06	0	0	1245	PO20	0	10	881,5
PC6-07	0	0	1031,25	PO31	47	4	633,25
PC5-01	0	0	1275	PO48	51	7	921,75
PC5-02	0	0	1200	PO52	0	6	675
PC5-03	5	0	1115	PO54	38	10	702,75
PC5-04	0	0	1050	PO55	0	12	292,75
PC5-05	2	0	1050	VC BAYO	0	10	356,75
PC5-06	14	0	875	VC JAMAPA	0	19	325,25
PC5-07	10	0	1325	VC PINTO VILLA	0	11	468,75
PC4-01	0	0	775	VR NEGRO	0	17	355
PC4-02	0	0	630,75	TEZONTEAPA			
PC4-03	4	0	1218	VR AMARILLO	30	15	488,75
				REGIONAL			
				VR NEGRO	0	10	438,75
				NOVENTEÑO			