

Reacción de variedades de caraotas cultivadas en Cuba a la enfermedad bacteriana de la grasa

Reaction of bean varieties grown in Cuba to the bacterial disease of halo blight

Daynet Sosa del Castillo¹, Ramón Rea Suárez¹, Ana I. González Cordero²,
Francisca Vaquero Rodrigo² y Francisco J. Vences Benito²

¹Investigadores. Instituto de Estudios Avanzados (IDEA). Estado Miranda. Venezuela.

²Profesores. Universidad de León. Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales. León. España.
Correos electrónicos: dsosa@idea.gob.ve, rrea@idea.gob.ve

RESUMEN

La caraota, *Phaseolus vulgaris* L., es ampliamente cultivada en regiones tropicales y sub-tropicales, considerada una fuente de proteínas, carbohidratos, fibras y minerales. La enfermedad bacteriana conocida como la grasa causada por *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (*Ps.* pv *p.*) tiene gran incidencia a nivel mundial. La amplia variabilidad patogénica de esta bacteria obliga a buscar continuamente fuentes de resistencia. El objetivo de este trabajo fue determinar la reacción de doce variedades de caraota cultivadas en Cuba a diferentes razas de *Ps.* pv *p.* Las plantas fueron inoculadas con nueve razas de *Ps.* pv *p.* y evaluadas en invernadero. Se estudió la respuesta a la infección de las variedades en hojas y vainas. Se evidenció tres clases de respuesta a la bacteria: cultivares susceptibles a todas las razas, cultivares solo resistentes a las razas 3, 4 y cultivares resistentes a las razas 1, 5, 7 y 9. Los resultados de este estudio indicaron que los diferentes genotipos de caraota tienen diferentes niveles de resistencia a *Ps.* pv *p.* con lo cual se pudiera usar la piramidación de genes con métodos apropiados para proporcionar una resistencia duradera.

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris* L., *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, cultivares susceptibles, niveles de resistencia.

ABSTRACT

The bean, *Phaseolus vulgaris* L., is widely cultivated in tropical and sub-tropical regions where it is considered a source of proteins, carbohydrates, fibers and minerals. The bacterial disease known as Halo blight caused by *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (*Ps.* pv *p.*) has a great incidence worldwide. The wide variability of this pathogenic bacteria requires a continuous search for resistance sources. The objective of this study was to determine the reaction of twelve varieties of beans grown in Cuba to different races of *Ps.* pv *p.* Plants were inoculated to nine races of *Ps.* pv *p.* and evaluated in a greenhouse. We studied the response to infection of varieties on leaves and pods. It showed three kinds of response to bacteria: cultivars susceptible to all the races, cultivars resistant only to races 3 and 4, and cultivars additionally resistant to races 1, 5, 7 and 9. The results of this study indicated that different bean genotypes have different resistance levels to *Ps.* pv *p.*, and can be used in the pyramiding of genes with appropriate methods to provide durable resistance.

Key words: *Phaseolus vulgaris* L., *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, cultivars susceptible, resistance levels.

INTRODUCCIÓN

El frijol común o caraota, *Phaseolus vulgaris* L., es ampliamente cultivado en regiones tropicales y sub-tropicales, donde es considerado fuente de proteínas, carbohidratos, fibras y minerales (Gepts *et al.*, 2008). Este cultivo es afectado por numerosas enfermedades de etiología bacteriana, como la “grasa”, que tiene gran incidencia a nivel mundial, causada por *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (*Ps.* pv *p.*), su nombre hace referencia al síntoma característico de tejidos transparentes, o como inyectados por gotas de agua o aceite que aparecen en las vainas enfermas. La distribución geográfica de las razas de *Ps.* pv *p.* es desigual, aún cuando afecta las tierras altas de África, Latinoamérica, Europa y Norteamérica (Singh, 1999).

La incidencia de la “grasa” es elevada si se suman la sensibilidad a la enfermedad y condiciones ambientales favorables, el cultivo puede quedar destruido por completo en pocos días o se pueden dañar las vainas próximas a la cosecha, lo que conlleva importantes

reducciones en los rendimientos. También suele ocurrir que se manifiesten juntas en el mismo campo e incluso en la misma planta, tanto la “grasa” como la bacteriosis común del frijol causada por *Xanthomonas phaseoli* (Zaunmeyer y Thomas, 1957); cuando esto sucede es imposible diferenciar las pérdidas en los rendimientos causados por una u otra. Según Ariyaratne *et al.* (1999) consideran que hay factores genéticos comunes en la resistencia a las dos enfermedades.

Las cepas de *P. syringae* se diferencian en patovares según la especificidad del hospedante. A su vez, se subdividen en razas en función de la virulencia diferencial en ocho cultivares y líneas del hospedador (Taylor *et al.* 1996a); por lo que las razas se definen funcionalmente por los genes de avirulencia que contienen (Keen, 1990; Arnold *et al.*, 2011; Cuadro 1). Además de estas nueve razas se encontraron algunos aislados que no pudieron asignarse a ninguna de las ya descritas por Taylor *et al.* (1996a), lo que ha sido confirmado por Rico *et al.* (2003) y Rivas *et al.* (2005).

Cuadro 1. Diferenciación de razas en *Ps.* pv *p.* Tomado de Arnold *et al.* (2011).

		Razas/ genes avirulencia (A1 al A5)								
Raza	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
A1	1	-	-	-	1	-	1	-	1	
A2	-	2	-	2	2	-	2	-	-	
A3	-	-	3	3	-	-	-	-	-	
A4	-	-	-	-	4	-	-	-	-	
A5	-	5	-	-	-	-	-	5	5	

		Alelos de resistencia (R1 al R5)												
Cultivares Testigo	1	2	3	4	5									
Canadian Wonder	-	-	-	-	-	S	S	S	S	S	S	S	S	S
A52 (ZAA54)	-	-	-	4	-	S	S	S	S	R	S	S	S	S
Tendergreen	-	-	3	-	-	S	S	R	R	S	S	S	S	S
Red Mexican UI3	1	-	-	4	-	R	S	S	S	R	S	R	S	R
1072 (Ph. acutifolius)	-	2	-	-	-	S	R	S	R	R	S	R	S	S
A53 (ZAA55)	-	-	3	4	-	S	S	R	R	R	S	S	S	S
A43 (ZAA12)	-	2	3	4	5	S	R	R	R	R	S	R	R	R
Guatemala 196-B	1	-	3	4	-	R	S	R	R	R	S	R	S	R

R: resistente; S: susceptible

Las interacciones diferenciales entre las razas y los cultivares de *Phaseolus* producen síntomas de la enfermedad como manchas grasientas o resistencia tipificada por la respuesta hipersensible en hojas y vainas en los sitios de inoculación (Mansfield *et al.*, 1994). La especificidad cultivar-raza está controlada por una relación gen a gen que incluye cinco genes de avirulencia en el patógeno y cinco genes de resistencia en la planta los cuales se pueden caracterizar utilizando siete variedades testigo de frijol y un cultivar de *P. acutifolius* (Taylor *et al.*, 1989; Jenner *et al.*, 1991; Arnold *et al.*, 2011). Fourie (1998) indica que existen genes diferentes que controlan la resistencia en la hoja (gen de resistencia foliar *plr*) y en la vaina (carácter poligénico), en función de las diferentes reacciones de algunos aislados de *Ps. pv p.* pertenecientes a las razas 1 y 8 en hojas y vainas de los cultivares diferenciadores A43, Red Mexican U13 y Guatemala 196-B (Cuadro 1).

Con relación en lo expuesto anteriormente, se plantea una mejora para la resistencia, que es el medio más efectivo para el control de la grasa en caraota; ya que, la resistencia genética le permite a la planta defenderse por sí sola y evita la utilización que conlleva a un efecto menos perjudicial en el medio ambiente y que a largo plazo es menos costoso que cualquier otro tipo o método de control (Cuartero, 1993). Por su parte, Taylor *et al.* (1996a) demuestran la importancia de la selección de variedades resistentes a las razas prevaletentes de la bacteria. Mientras, Singh (2001b) promulgó el uso de una base genética como una buena estrategia para la mejora de las variedades de caraota.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta de variedades de caraotas cultivadas en Cuba a las razas de *Ps. pv. p.*

MATERIALES Y MÉTODOS

Las variedades de caraota utilizadas fueron suministradas por el Banco de Germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" de La Habana y por el Ministerio de la Agricultura de la provincia de Matanzas, Cuba (Cuadro 2).

De estas variedades, cinco de ellas (BAT-304, BAT 58, Guamá 23, Hatuey 24 y ICA Pijao) son variedades mejoradas procedentes de Colombia; mientras que CC25-9 Negro y Rojo, Velasco Largo, Rosas y Güira 89 son variedades tradicionales de Cuba (Voystest, 2000).

Se evaluaron 15 plantas por tratamiento con tres repeticiones. Como testigo de susceptibilidad a *Ps. pv p.* se utilizó la variedad "Palmeña", que es susceptible a todas las razas; y como testigo resistencia se utilizó "Red Mexican U13", que es resistente a las razas 1, 5, 7 y 9 de *Ps. pv p.* y susceptible a las razas 2, 3, 4, 6 y 8 de la bacteria.

Crecimiento de bacterias y condiciones de cultivo

Los aislados de *Ps. pv p.* fueron donados por el Instituto Tecnológico Agrario (I.T.A) de Castilla y León, España. Estos se encontraban conservados en glicerol (15%) y almacenados a -80 °C, previo a la inoculación (24 a 48 h), las bacterias se sembraron en medio sólido B de King (King *et al.*, 1954) a 24 °C. Posteriormente, se desprendieron las colonias del medio con agua destilada estéril y se mantuvieron en agitación hasta que las colonias se disgregaron por completo. La concentración de la solución bacteriana fue ajustada a una concentración de 1×10^8 ufc/ml, considerando esta concentración adecuada para provocar la enfermedad y poder realizar una óptima evaluación de las plantas susceptibles o resistentes a este patógeno (Asensio, 1995), esta concentración fue ajustada midiendo en un espectrofotómetro a una $\lambda = 620$ nm (lectura 0,18).

Inoculación

Se estudió la respuesta a la inoculación en hojas y vainas, y se evaluó tanto la reacción de formación de "grasa" como la de hipersensibilidad. Para ello se sembraron semillas de cada variedad, previamente esterilizadas para evitar contaminaciones superficiales, en macetas con una mezcla estéril de turba y arena (50% v/v) en una cámara de cultivo, con un fotoperíodo de 16 h de luz y temperatura de 21 ± 1 °C. Antes y después de la inoculación, las plantas estuvieron en cámaras de crecimiento en un entorno muy húmedo cubiertas con un plástico según recomiendan Zayter y Coyne (1984).

Cuadro 2. Características de las variedades empleadas.

Variedad	Color	Hábito crecimiento	Origen*	Raza	Procedencia	Genealogía**
BAT 304	Negro	Tipo II	Mesoamer	Mesoamer	CIAT	Porrillo Sintético x Compuesto Chimaltenango 2
BAT 58	Negro	Tipo II	Mesoamer	.Mesoamer	CIAT	(22-G-4 x H 183N) x (ICAPIJAO x Turrialba 1)
Bonita 11	Blanco	Tipo III	Mesoamer		Puerto Rico	
CC25-8	Negro	-	-			
CC25-9 Negro	Negro	Tipo III	Mesoamer		Costa Rica	Líneas Cuba Cueto
CC25-9 Rojo	Pardo Carmel	Tipo III	Mesoamer		Costa Rica	Líneas Cuba Cueto
Guamá 23	Calima	Tipo III	Andino		Colombia	(Diacol Nima x Redkote) x (Redkote)
Gúira 89	Negro	Tipo II	Mesoamer		México	Selección Jamapa
Hatuey 24	Rojo	Tipo III	Mesoamer	Mesoamer	ICA	Jamapa x Gentry 2115
ICA Pijao	Negro	Tipo II	Mesoamer	.Mesoamer	ICA	Porrillo Sintético x México 11
Rosas	Rojo	Tipo II	Andino		México	Selección Mulangrí
Velasco Largo	Rojo (Red K.)	Tipo I	Andino		USA	Líneas Red Kidney

*Según domesticación; ICA: Instituto Colombiano Agropecuario; **CIAT: Centro Internacional de Agricultura Tropical.

Inoculación en hojas: la inoculación se realizó por el método de pulverización a alta presión descrito por Taylor *et al.* (1978), se realizó en las hojas primarias con ayuda de un aerógrafo De Vilbiss N° 15 conectado a un compresor que permite pulverizar a 1,05 kg cm⁻² para facilitar la inoculación. Tan pronto como las plantas tuvieron las hojas cotiledonales completamente expandidas, se inoculó por el haz con la suspensión bacteriana a ambos lados de la nervadura, colocándose la punta del aerógrafo a unos 10 cm del envés de la hoja (Taylor *et al.*, 1996a).

La pulverización se mantuvo hasta observar que una pequeña zona de la superficie de la hoja, de aproximadamente 5 a 10 mm², se embebía del líquido, el control consistió en plantas inoculadas solamente con agua, las plantas inoculadas se mantuvieron en una cámara de crecimiento climatizada a temperatura ambiente y 100% de humedad durante 48 h pasándolas posteriormente a otra cámara de crecimiento a 21 ± 1 °C, 80% de humedad y un fotoperíodo de 16 h de luz (Taylor *et al.*, 1996a). El riego se mantuvo constante dentro de las cámaras para mantener la elevada humedad.

Inoculación en vainas: se inocularon las vainas (aproximadamente de 5 cm de longitud) en plantas crecidas en condiciones de cámara de cultivo a 24 °C con un fotoperíodo de 16 h de luz, se inocularon mediante una herida (pinchazo) en varios sitios de la vaina (entre las semillas), con un mondadientes de madera que previamente se sumergió en la suspensión bacteriana preparada tal como se describió anteriormente, según Zayter y Coyne (1984) con modificaciones propuestas por A.I. Cordero en lo que respecta al uso del mondadientes. Después de la infección, las plantas se mantuvieron en una cámara de crecimiento climatizada a 24 °C y a los 4 a 5 días de la inoculación se determinó la resistencia o susceptibilidad a la bacteria.

Evaluación de los síntomas de la enfermedad

La evaluación de los síntomas de la enfermedad en las hojas y en las vainas se realizó a los 10 días, clasificando las variedades en:

Resistentes: cuando se apreció una reacción hipersensible en el área de inoculación tanto en hoja como en vaina.

Susceptibles: cuando aparecieron manchas de "grasa" localizada en las áreas de inoculación y aparición de pequeñas o grandes manchas distribuidas al azar por la superficie de la vaina o la hoja (envés).

El grado de susceptibilidad se valoró según una escala de cinco puntos (grados), descrita por Innes *et al.* (1984) con alguna modificación:

1. Reacción necrótica rojiza en el área de máxima inoculación (altamente resistente).
2. Reacción rojiza con trazas de remojado (resistente).
3. Alguna necrosis pero con remojado más extenso y localizado en áreas de máxima inoculación (débilmente resistente).
4. Pequeñas lesiones de remojado distribuidas al azar por toda la superficie (susceptible).
5. Lesiones grandes de remojado distribuidas al azar por toda la superficie (muy susceptible).

Similitud genética de las variedades con respecto a la resistencia-susceptibilidad a *Ps. pv p.*

Se utilizó el índice de Jaccard (Sneath y Sokal, 1973) para estimar el grado de similitud entre las distintas variedades para la resistencia a *Ps. pv. p.*, asignándose el valor 1 a la susceptibilidad y a la resistencia el valor 0 (Cuadro 3). El análisis de la similitud de las variedades con respecto a la resistencia-susceptibilidad a la bacteria, se realizó mediante el programa INFOGEN (Balzarini y Di Rienzo, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Considerando que algunos autores han descrito respuestas diferenciales a la inoculación en hoja y vaina (Hill *et al.*, 1972; Hale y Taylor, 1973; Zaiter y Coyne, 1984), se realizó la evaluación por separado de la respuesta a la inoculación tanto en hojas primarias como en vainas, no encontrándose en este ensayo ninguna diferencia en cuanto a la respuesta a la infección en los órganos inoculados (Figuras 1 y 2).

Cuadro 3. Respuesta de resistencia/susceptibilidad a *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*.

Variedad	Razas								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
BAT-304	R	S	R*	R*	R	S	R	S	R
BAT-58	S	S	R*	R*	S	S	S	S	S
CC25-9 Rojo	S	S	R*	R*	S	S	S	S	S
CC25-9 Negro	S	S	R*	R*	S	S	S	S	S
Guamá 23	R	S	R*	R*	R	S	R	S	R
Güira 89	S	S	R*	R*	S	S	S	S	S
Hatuey 24	S	S	R*	R*	S	S	S	S	S
ICA Pijao	R	S	R*	R*	R	S	R	S	R
Rosas	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Velasco Largo	S	S	S	S	S	S	S	S	S

R: resistentes; S: susceptibles, R*: reacción hipersensible severa.

Similares resultados fueron demostrados por González (1996); no obstante, Fourie (1998) no encontró respuesta diferencial en hoja y vaina en 17 aislados pertenecientes a las razas 1, 2, 6, 7 y 8; pero basado en las reacciones inconsistentes de algunos aislados pertenecientes a las razas 1 y 8 en las hojas y vainas de los cultivares diferenciales A43, Red Mexican U13 y Guatemala 196-B, este autor indica que puede haber genes diferentes que controlan la resistencia en hojas y en vainas. Asensio (2001) encontró genotipos de *P. vulgaris* L. con reacciones medianamente resistentes en hojas y susceptibles en vainas y genotipos con reacciones resistentes en vaina y susceptibles en hoja; así como también genotipos con resistencia en ambos órganos.

Esta diferencia, en la respuesta a la inoculación en hojas y vainas de *Phaseolus*, también fue descrita en *X. phaseoli* por Valladares Sánchez *et al.* (1979); Stefanova (1996); Rodríguez *et al.* (1999) en condiciones de campo en Cuba; aunque Coyne y Schuster (1974) no hallaron relación entre la reacción foliar y la reacción de las vainas a *X. phaseoli*.

De acuerdo a la escala anteriormente descrita (Innes *et al.*, 1984), se realizó la evaluación fenotípica de las plantas, considerando resistentes a las que presentaron valores 1, 2 y 3 y susceptibles a las de valores 4 y 5.

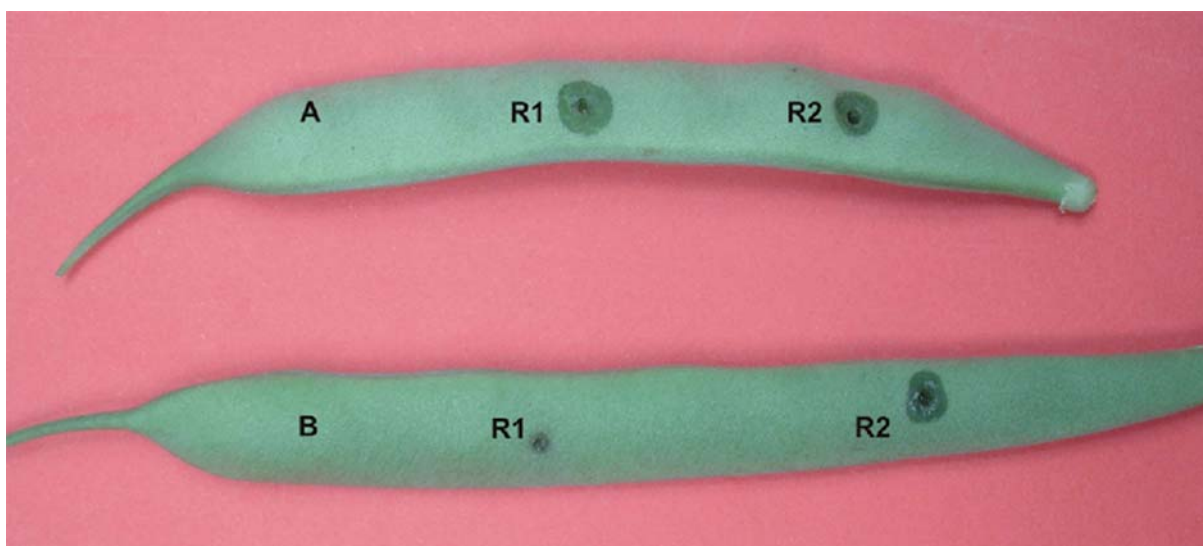


Figura 1. Sintomatología en vaina de dos variedades testigo utilizadas. A: Palmeña; B: Red Mexican UI3; R1: raza 1 y R2: raza 2.



Figura 2. Sintomatología en vaina (izquierda) y hoja (derecha) de la variedad Hatuey 24 a la raza 7 de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*.

Los resultados obtenidos (resistencia y susceptibilidad) de las variedades con respecto a las nueve razas de la bacteria, se muestran en el Cuadro 3. Todas las variedades resistentes mostraron, excepto para las razas 3 y 4, un grado 2. Para las razas 3 y 4 mostraron un grado 1, mientras que las variedades susceptibles, para todas las razas mostraron un grado 5.

Hasta ahora no se ha descrito la incidencia de las razas de *Ps. pv p.* en variedades comerciales en Cuba, por lo tanto no sabemos cuál o cuáles razas son predominantes en el país, ni qué rango de resistencia-susceptibilidad podemos encontrar. Aunque ya anteriormente se habían observado reacciones específicas a *Ps. pv p.* en algunas variedades de *P. vulgaris* (Stefanova, 1996; Hernández, 1996), no se había profundizado en la investigación como para documentar la resistencia específica a razas de la bacteria en variedades comerciales del país.

En el Cuadro 3 puede observarse que todas las variedades han sido susceptibles a la raza 8, que

porta el gen de avirulencia 5 y que se encuentra fundamentalmente en Lesotho (Taylor *et al.*, 1996a) y en Sudáfrica (Fourie, 1998). Estos autores consideran que es originaria de esa región debido a la alta frecuencia con que se presenta y también a que la mayoría de los cultivares plantados en la zona son susceptibles a esta raza.

De la misma manera, todas las variedades resultaron afectadas por las razas 2 y 6 que se encuentran distribuidas a nivel mundial, con una predominancia de la raza 6 para la que no se ha encontrado ninguna variedad resistente (Terán *et al.*, 2009), a pesar de que existen algunos genotipos que muestran una resistencia moderada a la misma (Asensio *et al.*, 2010), y que no tiene ningún gen de avirulencia descrito (Taylor, 1996b).

Esta predominancia se da también en América (Taylor, 1996a) en aislados procedentes de Colombia, México, Perú y Estados Unidos (Lamppa y Gross, 2001; Buruchara y Pastor-Corrales, 1981).

Las variedades Velasco Largo y Rosas fueron susceptibles a todas las razas analizadas, siendo estas dos variedades susceptibles, igualmente a *X. phaseoli* en Cuba (Stefanova *et al.*, 1996). Según describe Ariyarathne *et al.* (1999), existe en algunos casos, factores genéticos comunes en la resistencia a las dos enfermedades (Ariyarathne *et al.*, 1999); describiéndose además, a Velasco Largo como una variedad altamente susceptible a diferentes enfermedades.

Todas las variedades, excepto las dos anteriores, fueron resistentes a las razas 3 y 4, derivadas de la antigua raza 3, encontrándose (3 y 4), que ambas contienen el gen de resistencia A3, tienen su distribución confinada al este y centro de África, pero Taylor *et al.* (1996 a,b) encontraron una alta frecuencia de variedades locales con el gen R3 de origen americano, aunque no encontraron R3 en mezclas campesinas de Ruanda. Explican esta situación atendiendo a que la preponderancia de A3, el confinamiento geográfico está relacionada con la falta de R3, mientras que de forma similar, la falta de A3 en América corresponde con la alta frecuencia de R3.

En las lesiones provocadas en las hojas por las razas 3 y 4 se pudo apreciar la aparición de una pigmentación marrón oscura de un tono rojizo que se difundía en todas las lesiones (Figura 3). Este pigmento fue descrito con anterioridad por

Mabagala and Saettler (1992) con la raza 2, detallando reacciones necróticas de una coloración rojizo-marrón asociada con respuesta normal de resistencia (puntos 1 y 2 de la escala de Innes *et al.*, 1984).

Esto se consideró una reacción de hipersensibilidad ocurrida generalmente en las áreas de máxima inoculación en cualquiera de las dos caras de la hoja. También concuerda con lo señalado por Taylor *et al.* (1996b) quienes encontraron aislados de origen africano, inicialmente designados como raza 3, que provocaban una reacción hipersensible más generalizada, con lesiones necróticas rojizo-marrones sobre toda la superficie del envés de las hojas inoculadas en los cultivares testigo resistentes. Esta forma severa de hipersensibilidad siempre la asociaron con un grado máximo de resistencia (grado 1) y la distinguieron como 1* para diferenciarla del grado 1 usual de reacción resistente.

Se sabe que la RH (reacción de hipersensibilidad) resultante de la interacción R3/A3 ocurre más rápidamente y está asociada con un oscurecimiento más distintivo que la observada en otros genes de resistencia (Mansfield *et al.*, 1994) y esta RH más rápida, está asociada con altos niveles de acumulación de fitoalexinas en el sitio de inoculación (Harper *et al.*, 1987; Jenner *et al.*, 1991).

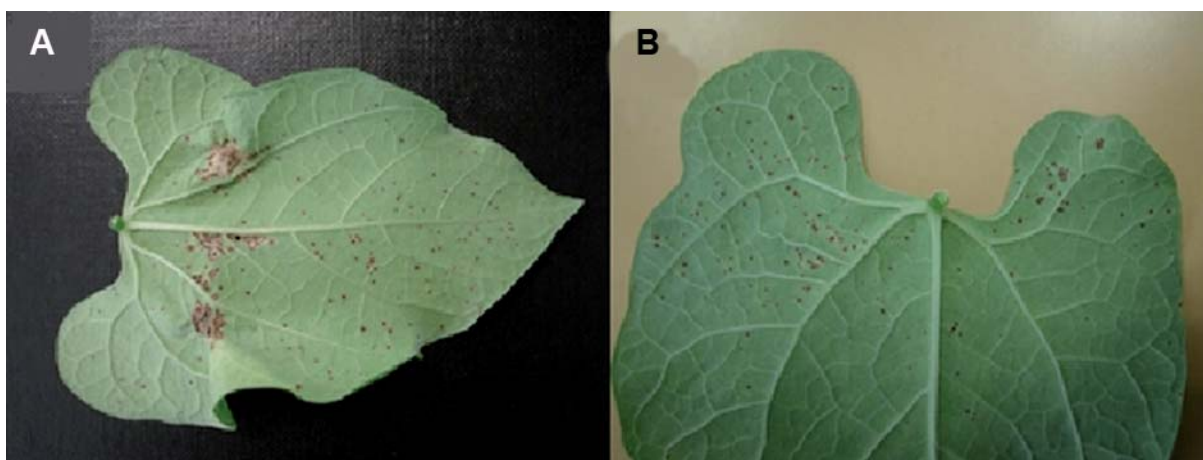


Figura 3. Síntomas producidos por las razas 3 y 4 de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. A: Inoculación con raza 3 en la variedad ICA Pijao; B: Inoculación con raza 4 en la variedad Güira 89.

También se reportó bacterias inductoras de la producción de pigmentos representantes de las razas 1 y 6 en material de sur África (Fourie, 1998), lo que indica que la producción de pigmento no está limitada a una raza específica, aunque su función aún es desconocida.

Con respecto a las razas 1, 5, 7, y 9 derivadas de la original raza 1, solo se encuentran tres variedades resistentes (ICA Pijao, Guamá 23 y BAT-304), a pesar de que las razas 1 y 7 están ampliamente distribuidas a nivel mundial, lo que en principio aumenta la posibilidad de encontrar variedades o cultivares resistentes (Figura 4).

Referente a la raza 5, se creía que se presentaba con baja frecuencia, describiendo aislados encontrados fundamentalmente en África (Kenia, Malawi y Tanzania) y un aislado en Canadá que al inicio perteneció a la raza 1 (Taylor, 1996a); pero recientemente se especifican numerosos aislados procedentes de León-España (González *et al.*, 2003; Rico *et al.*, 2003), donde las variedades sembradas tradicionalmente son susceptibles a ella.

La raza 9 se considera la raza más rara, siendo identificado con pocos aislados procedentes de Malawi y Colombia, encontrando el equipo de

esta investigación tres variedades resistentes (ICA Pijao, Guamá 23 y BAT-304) de las 10 analizadas.

Mediante el índice de Jaccard se estimó el parecido entre las variedades según la resistencia-susceptibilidad a las 9 razas de *Ps. pv p.* (Figura 5), donde se indican tres ramas principales, el grupo 1A lo forman dos variedades susceptibles a todas las razas, el grupo 1B está formado por las variedades resistentes a las razas 3 y 4, y el grupo 1C reúne a tres variedades resistentes a las razas 1, 3, 4, 5 y 7.

Analizando la resistencia específica de los cultivares a la bacteria, se tiene que las dos únicas variedades, Rosas y Velasco Largo, son susceptibles a todas las razas pertenecientes al grupo 1A, con semilla de color rojo que pertenecen al centro genético de origen andino, altamente susceptibles a *X. phaseoli* y que no han sido sometidas a programas de mejoramiento genético masivo contra enfermedades. Esta respuesta de susceptibilidad a todas las razas sería equivalente a la del cultivar Canadian Wonder, e indicaría que ambas variedades carecen de cualquiera de los genes de resistencia descritos, similar a lo encontrado por Taylor *et al.* (1996a).

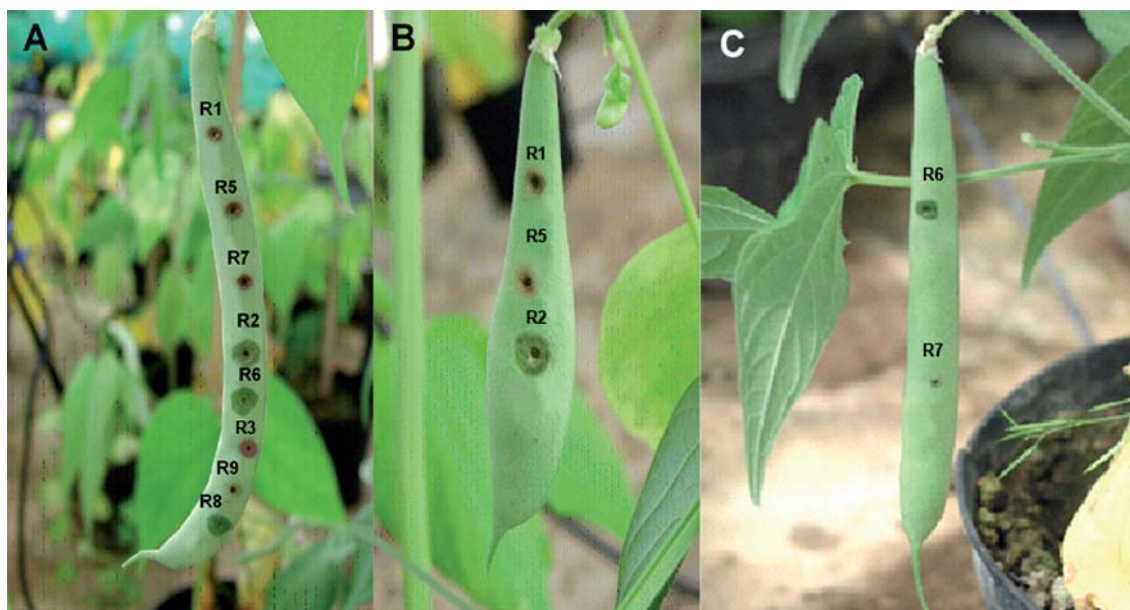


Figura 4. Respuesta a la inoculación con diferentes razas de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. A: Güamá 23; B: BAT 304; C: ICA Pijao.

El resto de las variedades tiene una respuesta de hipersensibilidad severa a las razas 3 y 4. En la rama 1B se sitúan las cinco variedades que se comportaron como resistentes sólo a las razas 3 y 4 y susceptibles al resto de las razas. Este comportamiento es congruente con la presencia del gen de resistencia 3 como se indica para el cultivar Tendergreen (Arnold *et al.*, 2011).

En otra rama del árbol (1C) se sitúan las variedades mesoamericanas ICA Pijao y BAT-304 y la andina Guamá 23, que mostraron una amplia resistencia a las razas 1, 3, 4, 5, 7 y 9, como el cultivar testigo Guatemala, lo que indicaría la presencia en estos genotipos de los genes de resistencia 1, 3 y 4.

Guamá 23 es un cultivar de frijol procedente de Colombia liberado en el Caribe, que demuestra en Cuba resistencia a la roya y tolerancia a la bacteriosis (sin discernir entre *Pseudomonas* y *Xanthomonas*) en el follaje y en las vainas. El mismo descende por una parte del cultivar Redkote que según Taylor *et al.* (1996b) es

susceptible a las razas 1, 2 y 6, mostrando una reacción hipersensible severa a las razas 3 y 4. En el Caribe se han descrito variedades andinas con fuentes de resistencia a bacteriosis común al virus del mosaico dorado, a la roya y moderados niveles de resistencia a mustia hilachosa (Rodríguez *et al.*, 1999). Las otras dos variedades (ICA Pijao y BAT-304) proceden del centro genético mesoamericano (raza Mesoamerica) y se encuentran relacionadas entre sí, pues comparten un parental.

ICA Pijao es un cultivar mejorado proveniente del cruce entre *P. vulgaris* y *P. coccineus* (Singh and Muñoz, 1999) y lleva el gen I para la resistencia al virus del mosaico común del frijol (BCMV), referido por Beebe *et al.* (2001), es tolerante al virus del mosaico dorado del frijol (BGMV) y a Emposca kraemeri, pero es altamente susceptible en hoja y vaina a *X. campestris* pv. *p.* (Singh y Muñoz, 1999; Singh *et al.*, 2001). También es una fuente de resistencia a poblaciones mesoamericanas del hongo *Phaeoisariopsis griseola* (Araya y Araya, 2000).

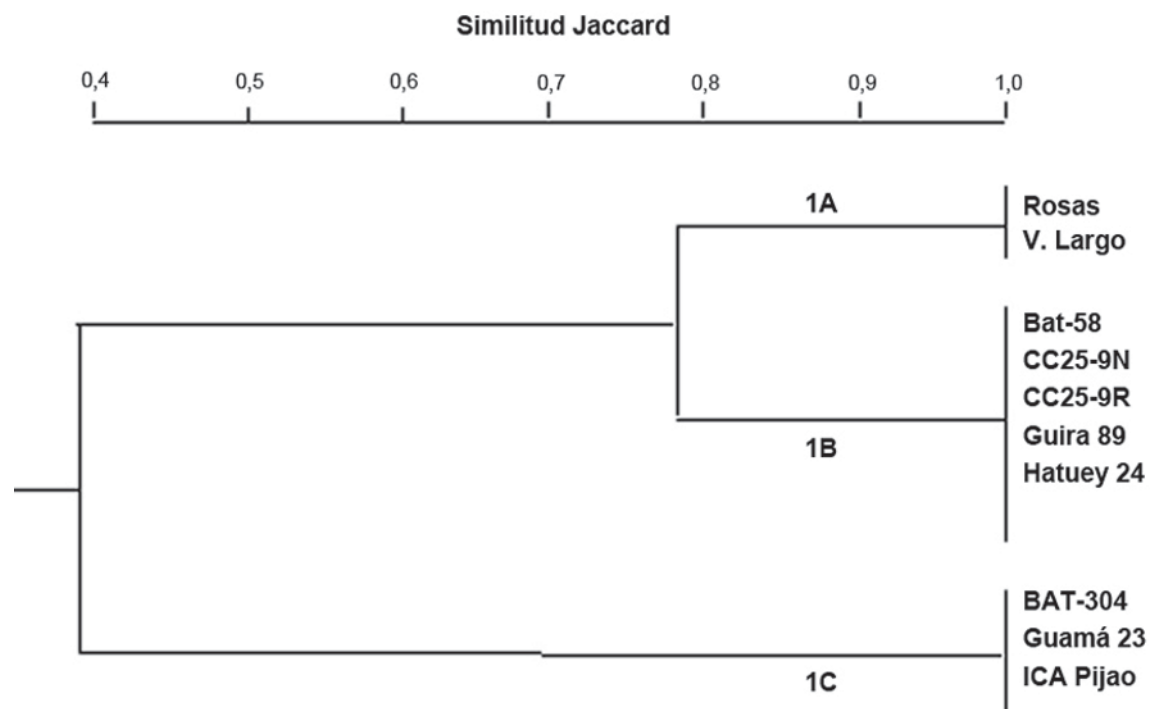


Figura 5. Similitud entre las variedades según la resistencia-susceptibilidad a las 9 razas de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*.

Esta variedad, se ha empleado en numerosas ocasiones como progenitor para la obtención de diferentes cruzamientos con *P. coccineus* (Galván et al., 2001) para generar resistencia frente a razas de *Colletotrichum lindemuthianum* (Mahuku et al., 2002), en el desarrollo de variedades resistentes al virus del mosaico dorado del frijol (Yoshii et al., 1980), para la obtención de variedades resistentes a *X. axonopodis* pv. *p.* (Michaels et al., 2006) y en cruces con *P. coccineus*, *P. costaricensis* y *P. polyanthus* para el desarrollo de variedades resistentes a *Sclerotinia sclerotiorum* Lib de Bary (Singh et al., 2009).

BAT-304 es un cultivar temprano liberado también por el CIAT y lanzado como variedad en Argentina, Brasil, Venezuela, Costa Rica, Nicaragua, Cuba y Haití, países en los que se ha cultivada exitosamente. Es una fuente de resistencia a *Uromyces appendiculatus*, a *X. campestris* pv. *p.* y a *C. lindemuthianum* (Acosta et al., 2001); y se utilizó en cruzamientos múltiples interraciales para la obtención de nuevas variedades (Acosta et al., 2001; Galván et al., 2001).

Considerando la riqueza de los recursos genéticos de frijol en Cuba y la diversidad de resistencia a enfermedades existentes (por ejemplo a *U. phaseoli* var. *typica*; BCMV; *X. campestris* pv. *p.*) citado por Guerra et al., 1994. Los resultados obtenidos representan un aporte valioso para futuros trabajos de mejora en esta área, considerando que sería conveniente que en cada país se dedique especial atención a la evaluación y selección de variedades resistentes, adaptadas a las condiciones ambientales y climáticas que prevalecen en cada uno de ellos, debido a que la reacción a la enfermedad varía dependiendo del ambiente, el genotipo del hospedante y su interacción.

Se debe tener en cuenta que la implantación de la resistencia vegetal requiere de un conocimiento preciso del tipo de razas presentes en el campo, así como, de las variaciones que puedan ocurrir a lo largo del tiempo.

CONCLUSIONES

Con excepción de las dos variedades tradicionales, Rosas y Velasco Largo, se comportaron susceptibles a todas las razas de *Ps. pv. p.*, el resto de las variedades cubanas analizadas mostraron resistencia a algunas de las razas productoras de la "grasa". Cinco de las variedades son resistentes solamente a las razas 3 y 4, y las otras tres variedades lo son a esas dos y a las razas 1, 5, 7 y 9.

En el conjunto de las variedades estudiadas están presentes los genes de resistencia 1, 3 y 4, y ausentes los genes 2 y 5.

Los genotipos de caraotas evaluados tienen diferentes niveles de resistencia a *Ps. pv. p.* con lo cual se pudiera usar la piramidación de genes con métodos apropiados para proporcionar una resistencia duradera.

LITERATURA CITADA

- Acosta G., J. A., S. R. Rosales, G. S. Nuñez, M. R. Ochoa, S. M. Alvarado and S. P. Singh. 2001. Registration of "Negro Otomí" shiney black bean. *Crop Science*. 41(1):261-262.
- Araya, C. M. y R. Araya 2000. Avances en la selección de fuentes de resistencia a las principales enfermedades del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana*. 11(2):25-29.
- Ariyaratne, H. M., D. P. Coyne, G. Jung, P. W. Skroch, A. K. Vadaver, J. R. Steadman, P. N. Miklas and M. J. Basset. 1999. Molecular mapping of disease resistance genes for halo blight, common bacterial blight, and bean common mosaic virus in a segregating population of common bean. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 124(6):654-662.
- Arnold, D. L., H. Lovell, R. Jackson and J. W. Mansfield. 2011. *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*: From 'has bean' to supermodel. *Molecular Plant Pathology*. 12(7):617-627.

- Asensio, C. 1995. Bacteriosis en judías en Castilla y León: identificación de la variación patogénica de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* y factores que influyen en su desarrollo. Estudio de la herencia de la resistencia a la raza 1 de *Ps.* pv. *phaseolicola*. Tesis Doctoral. Universidad de León, España.
- Asensio, C., S Asensio, M. de la Rosa C. Manzanera, A. Ibeas, and L. de la Rosa. 2010. Resistance to halo blight, common bacterial blight, and bacterial brown spot in Spanish common bean core collection. Annual Report. Bean Improvement Cooperative. 53:110-111.
- Balzarini, M. y J. Di Rienzo. 2004. Info-Gen: Software para análisis estadístico de datos genéticos. Facultad de Ciencia Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Beebe, S. E., J. Rengifo, E. Gaitan, M. C. Duque and J. Tohme. 2001. Diversity and Origin of Andean Landraces of Common Bean. *Crop Science*. 41(3):854-862.
- Bozkurt, I. and S. Soylu. 2011. Determination of responses of different bean cultivars against races of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, causal agent of halo blight of bean. *Euphytica*. 179(3):417-425.
- Buruchara, R. A. and M. A. Pastor Corrales. 1981. Variation virulence of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* on beans in Colombia. **In:** Proceedings of the Fifth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. Cali, Colombia CIAT. pp. 341-351.
- Coyne, D. P. and M. L. Schuster. 1974. Inheritance and linkage relations of reaction to *Xanthomonas phaseoli* (E F Smith) Dowson (common blight), stage of plant development and plant habit in *Phaseolus vulgaris* L. *Euphytica*. 23(2):195-204.
- Crosse, J. E. 1966. Epidermiological relations of the *Pseudomonas pathogens* of deciduous fruit trees. *Annual Review of Phytopathology*. 4:291-310.
- Cuartero, J. 1993. Resistencia genética a enfermedades y plagas. Presente y futuro. *Hortofruticultura*. 4(3):41-46.
- Faure, A. B., T. Hernández, M. Sánchez y M. O. Rodríguez. 1997. Frijol común: Mejoramiento Genético: **In:** Memorias 25 Aniversario. Antonio Casanovas Morales (ed.). pp. 39-40.
- Fett, W. F. and L. Sequeira. 1981. Further characterization of the physiologic races of *Pseudomonas glycinea*. *Canadian Journal Botany*. 59(3):283-287.
- Fourie, D. 1998. Characterization of halo blight races on dry beans in South Africa. *Plant Diseases*. 82(3):307-310.
- Galván, M. Z., M. B. Aulicino, G. Medina and P. A. Balatti. 2001. Genetic diversity among Northwestern Argentinian cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris*) as revealed by RAPD markers. *Genetic Resources of Crop Evolution*. 48(3):251-260.
- Gepts, P., J. L. Aragão, E. de Barros, M. Blair, R. Brondani, W. Broughton, I. Galasso, G. Hernández, J. Kami, P. Lariguet, P. McClean, M. Melotto, P. Miklas, P. Pauls, A. Pedrosa-Harand, T. Porch, F. Sanchez, F. Sparvoli and K. Yu. 2008. Genomics of *Phaseolus* Beans, a Major Source of Dietary Protein and Micronutrients in the Tropics. Chapter 5. **In:** P.H. Moore, R. Ming (eds.).2008. *Genomics of Tropical Crop Plants*. pp. 113-143.
- González C., A. I. 1996. Estudio *in vivo* e *in vitro* de la resistencia a *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* en judías (*Phaseolus vulgaris* L.) y caracterización molecular de la variación patogénica. Tesis Doctoral. Universidad de León. España.
- González C., A. I., M. Pérez de la Vega, M. L. Ruiz and C. Polanco. 2003. Analysis of the *argK-tox* Gene Cluster in Nontoxicogenic Strains of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(8):4.979-4.982.
- Guerra, A. G., N. Lastres, E. Hernández and L. Castiñeiras. 1994. Evaluation of common bean (*P. vulgaris* L.) germplasm for resistance to main bean diseases in Cuba. *Plant Genetic Resources Newsletter* No. 99. pp. 41-42.

- Hale, C. N. and J. D. Taylor. 1973. Races of *Pseudomonas phaseolicola* causing halo blight of beans in New Zealand. *Journal of Agricultural Research*. 16(1):147-149.
- Harper, S., N. Zewdie, I. R. Brown and J. W. Mansfield. 1987. Histological, physiological and genetical studies of the responses of leaves and pods of *Phaseolus vulgaris* to three races of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* and *Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens*. *Physiology and Molecular Plant Pathology*. 31(2):153-172.
- Hernández, T. 1996. El cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y la bacteriosis común (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*) en Cuba. In: PROFRIJOL. Primer Taller sobre bacteriosis común del frijol. Universidad de Puerto Rico. pp. 199-201.
- Innes, N. L., J. Conway and J. D. Taylor. 1984. Resistance to halo-blight in the Cambridge accessions V4604 and V 4058 of *Phaseolus* bean. *Ann. Appl. Biol.* 104(2):307-314.
- Jenner, C., E. Hitching, J. Mansfield, K. Walters, P. Betteridge, D. Teverson and J. Taylor. 1991. Gene for gene interactions between *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* and *Phaseolus*. *Molecular Plant Microbe Interactions*. 4(6):553-562.
- Keen, N. T. 1990. Gene-for-gene complementarity in plant-pathogen interactions. *Annual Review of Genetics*. 24(1):247-263.
- Lamppa, R. S. and P. L. Gross. 2001. Identification of races of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* presents in North Dakota. North Harvest Bean Growers Association. Disponible en línea: <http://www.northharvest.org/html/details.cfm?ID=45>.
- Mabagala, R. B. and A. W. Saettler. 1992. Races and survival of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in Tanzania. *Plant Diseases*. 76(7):678-682.
- Mahuku, G. S., C. E. Jara, V. C. H. Cajiao and S. Beebe. 2002. Sources of resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in the secondary gene pool of *Phaseolus vulgaris* and in crosses of primary and secondary gene pools. *Plant Diseases*. 86(12):1.383-1.387.
- Mansfield, J., C. Jenner, R. Hockenhull, M. A. Bennett and R. Stewart 1994. Characterization of *avrPphE*, a gene for cultivar-specific avirulence from *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* which is physically linked to *hrpY*, a new *hrp* gene identified in the halo-blight bacterium. *Molecular Plant Microbe Interactions*. 7(6):726-739.
- Michaels, T. E., T. H. Smith, J. Larsen, A. D. Beattie and K. P. Pauls. 2006. OAC Rex common bean. *Canadian Journal of Plant Science*. 86(3):733-736.
- Rico A., R. López, C. Asensio, M. Aizprún, C. Asensio-Sánchez and J. Murillo. 2003. Nontoxigenic strains of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* are a main cause of halo blight of beans in Spain and escape current detection methods. *Phytopathology*. 93(12):1.553-1.559.
- Rivas, L. A., J. Mansfield, G. Tsiamis, R. W. Jackson and J. Murillo. 2005. Changes in race-specific virulence in *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* are associated with a chimeric transposable element and rare deletion events in a plasmid-borne pathogenicity island. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(7):3.778-3.785.
- Rodríguez, O., B. Faure, R. Benítez, R. M. Carballo and J. Capote. 1999. Advances in the study of common bean resistance to bacterial diseases in Cuba. *Agronomía Mesoamericana*. 10(1):55-58.
- Singh, S. P. 1999. Production and utilization. In: Common beans: Research for crop improvement. A. van Schoonhoven y O. Voysest (eds.). CAB Int. Wallingford, UK & CIAT. Cali, Colombia. pp. 119-162.
- Singh, S. P. and C. G. Muñoz. 1999. Resistance to common bacterial blight among *Phaseolus* species and common bean improvement. *Crop Science*. 39(1):80-89.
- Singh, S. P. 2001a. Use of germplasm in breeding. In: Handbook on evaluation of *Phaseolus* germplasm. C. de la Cuadra, A. M. de Ron y R.

- Schachl (eds.). PHASELIEU-FAIR-PL97-3463. MBG-CSIC. España. pp. 65-77.
- Singh, S. P. 2001b. Broadening the Genetic Base of Common Bean Cultivars: A review. *Crop Science*. 41(6):1.659-1.675.
- Singh, S. P., M. C. German and H. Terán. 2001. Registration of common bacterial blight resistant dry bean germplasm VAX1, VAX3 y VAX4. *Crop Science*. 41(1):275-276.
- Singh, S. P., H. Terán, H. F. Schwartz, K. Otto and M. Lemac. 2009. Introgressing White Mold Resistance from *Phaseolus* Species of the Secondary Gene Pool into Common Bean. *Crop Science*. 49(5):1.629-1.637.
- Sneath, P. H. A. and R. R. Sokal. 1973. Numerical Taxonomy. The principles and practice of numerical classifications. W.H. Freeman and Co., S. Francisco. 573 p.
- Stefanova, M. 1996. Aspectos etiológicos y epidemiológicos de la bacteriosis común (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*) del frijol en Cuba. In: Primer Taller Internacional sobre bacteriosis común del frijol. PROFRIJOL. Universidad de Puerto Rico. pp. 121-129.
- Taylor, J. D., D. M. Teverson, D. J. Allen and M. A. Pastor-Corrales. 1996a. Identification and origin of races of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* from Africa and other bean growing areas. *Plant Pathology*. 45(3):469-478.
- Taylor, J. D., D. M. Teverson and J. H. C. Davis. 1996b. Sources of resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* races in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Pathology*. 45(3):479-485.
- Taylor, J. D., J. R. Bevan, I. R. Crute and S. L. Reader. 1989. Genetic relationship between races of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* and cultivars of *Pisum sativum*. *Plant Pathology*. 38(3):364-375.
- Taylor, J. D., N. L. Innes, C. L. Dudley and W. A. Griffiths. 1978. Sources and inheritance of resistance to halo-blight of *Phaseolus* beans. *Ann. Appl. Biol.* 90(1):101-110.
- Thomas, M. D. and J. V. Leary. 1980. A new race of *Pseudomonas glycinea*. *Phytopathology*. 70:310-312.
- Terán, H., M. Lema, D. Webster and S. Singh. 2009. 75 years of breeding pinto bean for resistance to diseases in the United States. *Euphytica*. 167(3):341-351.
- Valladares Sánchez, N. E., D. P. Coyne and M. L. Schuster. 1979. Differential reaction of leaves and pods of *Phaseolus germplasm* to strains of *Xanthomonas phaseoli* and transgressive segregation for tolerance from crosses of susceptible germplasm. *Journal of American Society Horticultural Science*. 104(5):648-654.
- Voysest, O. 2000. Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.): legado de variedades de América latina 1930-1999. CIAT. Colombia. 195 p.
- Walker, J. C. and P. N. Patel. 1964. Splash dispersal and wind as factors in epidemiology of halo-blight of bean. *Phytopathology*. 54(2):140-141.
- Yoshii, K., G. E. Galvez, S. R. Temple, S. H. Orozco, P. Masaya and L. F. Aldana. 1980. Release of three new Guatemalan bean varieties tolerant to golden mosaic virus. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative. Bean Improvement Cooperative. 23:122-124.
- Zaiter, H. Z. and D. P. Coyne. 1984. Testing inoculation methods and sources of resistance to the halo blight bacterium (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*) in *Phaseolus vulgaris*. *Euphytica*. 33(1):133-141.
- Zapata, M. 1997. Identificación de razas de *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* en hojas de *P. vulgaris*. *Agronomía Mesoamericana*. 8(1):44-52.
- Zaumeyer, W. J. and H. R. Thomas. 1957. A monographic study of bean diseases and methods for their control. U.S.D.A. Agr. Tech. Bull 868. 255 p.