

Coevolución de Interacciones Hospedante – Patógeno en Frijol Común

Carlos Manuel Araya

Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional, Apartado Postal 86-3000,
Heredia, Costa Rica, e-mail: caraya@una.ac.cr

(Aceito para publicação em 31/01/2003)

ARAYA, C.M. Coevolución de interacciones hospedante-patógeno en frijol común. Fitopatologia Brasileira 28:221-228. 2003.

RESUMEN

La coevolución en varios patosistemas del frijol ha sido demostrada en los últimos años. Con base en diferencias morfológicas (color y tamaño del grano, hábitos de crecimiento de la planta, forma de las hojas, y forma y tamaño de las vainas), tipo de proteína en las semillas, respuestas serológicas, análisis de isoenzimas, y patrones polimórficos de bandas utilizando técnicas moleculares (RFLP, RAPD y AFLP), se han sugerido dos centros de domesticación del frijol común: Mesoamérica (América Central, Antillas y México) y la Zona de los Andes. En estas regiones, las variedades cultivadas y silvestres presentan una gran variabilidad fenotípica y genética. La amplia variabilidad genética es también una característica de la mayoría de los patógenos de plantas. En frijol, tres patógenos han mostrado una íntima asociación con el

acervo genético del hospedante, estos son: *Colletotrichum lindemuthianum*, *Phaeoisariopsis griseola* y *Uromyces appendiculatus*. Estos hongos presentan patogenicidad específica en los hospederos del correspondiente centro de origen. Poblaciones mesoamericanas de los tres organismos son más virulentas que las respectivas andinas, y genéticamente más variables. Este comportamiento ha sugerido un proceso de coevolución del patosistema. El conocimiento de la variabilidad genética y especificidad en las poblaciones nativas es preciso para el desarrollo de programas de mejoramiento y selección de fuentes de resistencia durables y efectivos para cada país de la región (gene deployment).

Palabras claves adicionales: coevolución, frijol, técnicas moleculares, enfermedades del frijol.

ABSTRACT

Coevolution of plant-pathogen interactions in common bean

Coevolution in bean pathosystems have been demonstrated. Based on morphological traits (seed color and size, growth habit, leaf shape, and pod size) seed protein type, serological reactions, isozymes analysis, and polymorphic patterns using molecular techniques (RFLP, RAPD, AFLP), two domestication centers of common bean have been proposed. They are Mesoamerica (Central America, the Caribbean and Mexico) and the Andean Region. Both wild and breed bean varieties are widely diverse in the two centers. The genetic variability is frequent among plant pathogen populations. On common beans, three

pathogens have showed a strong association with the host gene pool, they are: *Colletotrichum lindemuthianum*, *Phaeoisariopsis griseola* and *Uromyces appendiculatus*. Most of their strains are host specific. However, the Mesoamerican pathogen populations are both more virulent and genetically variable than the Andean ones. The natural behavior of this pathosystem has suggested an ongoing coevolution process. To select appropriate sources of durable resistance and develop plant breeding programs it is necessary to know the genetic variability and specificity of native bean pathogen populations. Gene deployment is a suitable control strategy.

INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa de grano de mayor consumo en el mundo. Su mayor área de producción se encuentra concentrada en América Latina, donde se localiza cerca del 45% de la producción mundial, y representa, además, la región de mayor consumo del grano (CIAT, 1993; Pachico, 1989; Schoonhoven & Voysest, 1989). Según datos de la FAO (2001), durante el año 2000 en América Central y México se sembraron alrededor de 2.334.425 ha de frijol, que registraron una

producción de 1.433.316 ton.

La producción de frijol es afectada por diferentes factores, tanto bióticos como abióticos, que reducen el área sembrada y los rendimientos esperados. Entre los factores bióticos, las enfermedades pueden causar enormes pérdidas en rendimiento dependiendo de las características de la población prevaleciente del patógeno, la variedad de frijol, las condiciones ambientales de la zona, y el sistema del cultivo practicado (Beebe & Pastor-Corrales, 1991). Los eventos abióticos también pueden tener profundas repercusiones económicas y sociales. Por ejemplo, en 1998 el área sembrada

de frijol en América Central fue severamente reducida por efecto del huracán Mitch y las necesidades de la semilla y grano comercial se hicieron sentir en toda la región (Bonilla, 2000).

En el caso del patosistema del frijol común, sus patógenos poseen mecanismos de variabilidad genética muy eficientes que aceleran el proceso de adaptación a las diferentes condiciones ecológicas en las que se desarrolla el cultivo (Burdon & Silk, 1997). Por esta razón, se ha postulado la coevolución del sistema patógeno-hospedante (Araya, 1996; Guzmán *et al.*, 1995; Pastor-Corrales & Jara, 1995).

En el presente artículo se discutirá sobre la diversidad genética del frijol, los principales mecanismos de variabilidad en sus patógenos, coevolución en algunos patosistemas y las implicaciones prácticas del fenómeno.

ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DEL FRIJOL COMÚN

Hallazgos arqueológicos, datos botánicos y tradiciones orales, han demostrado que el frijol silvestre se desarrolló en una gran variedad de ambientes, desde el norte de México hasta el noroeste de Argentina (Gepts & Debouck, 1991). Formas cultivadas de frijol estuvieron presentes hace 7000-8000 años en los valles de Tehuacan y Oaxaca, en México, en América Central, Perú, Ecuador, Argentina y Chile (Kaplan & Kaplan, 1988; Gepts & Debouck, 1991).

Gepts (1988), Gepts & Bliss (1986) y Singh *et al.* (1991a, b) encontraron un interesante paralelismo geográfico entre el tipo de faseolina presente en la semilla y el tamaño de esta. Ellos encontraron que en América Central los cultivares poseen predominantemente faseolina tipo "S", semillas pequeñas (17-28 g/100 semillas), están más adaptadas a zonas bajas y cálidas, y cultivadas principalmente en México y América Central. Por el contrario, en los países andinos los cultivares mayoritariamente contienen faseolina tipo "T", semillas más grandes (mayor de 40 g/100 semillas), y están adaptadas a zonas de cultivo de mayor altitud.

Otros estudios sobre variabilidad de proteínas en la semilla (Gepts & Bliss, 1986), aloenzimas (Singh *et al.*, 1991c), caracteres morfológicos de la planta (Singh *et al.*, 1991b), y marcadores moleculares (Nodari *et al.*, 1992, Becerra-Velázquez & Gepts, 1994) indican la presencia de dos centros de domesticación del frijol cultivado. En 1991 Singh *et al.* (a,b) los describieron como producto de un proceso de domesticación simultáneo en diferentes regiones de América del Sur y Central, a partir de un ancestro que había pasado por una evolución divergente. Los acervos genéticos fueron denominados Andino y Mesoamericano, respectivamente. Con base en sus características morfológicas y tipo de faseolina (Gepts & Bliss, 1986), las variedades silvestres y cultivadas de la región mesoamericana se dividieron en tres razas: Mesoamérica, Jalisco y Durango. Recientemente se determinó por medio de análisis RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) un cuarto grupo conteniendo frijoles de origen mayoritariamente guatemalteco,

trepadores, algunos de hábito de crecimiento tipo III, designada raza Guatemala (Beebe *et al.*, 2000). Análogamente, las variedades de frijol provenientes de la zona Andina fueron clasificadas como razas Nueva Granada, Perú y Chile. Posteriormente, Beaver (1993) sugirió que el Caribe puede ser considerado un acervo genético secundario para los frijoles andinos.

VARIABILIDAD DEL FRIJOL COMÚN

Como consecuencia del proceso de domesticación, la planta de frijol sufrió modificaciones morfológicas como: incremento del tamaño de la semilla, pérdida de la dehiscencia de las vainas, cambio en el hábito de crecimiento, pérdida de latencia de las semillas y modificaciones en la respuesta al fotoperíodo (Smart, 1988).

Las actuales variedades comerciales de frijol muestran una amplia gama de características morfológicas y agronómicas (Voysest & Dessert, 1991). Estas diferencias son útiles en los programas de mejoramiento donde se evalúa germoplasma para seleccionar plantas con arquitectura, tamaño de la semilla, color de grano, o hábito de crecimiento, apropiados a las necesidades de los diferentes países (CIAT, 1987). Esta diversidad es más evidente en relación con el color y tamaño de la semilla, cuya selección está influenciada por las preferencias de consumo de la población. Así, por ejemplo, en Guatemala, Cuba y Costa Rica se prefiere el grano negro pequeño (opaco o brillante), en México existe una gran variabilidad y el consumo varía desde frijoles tipo canarios hasta los negros opacos mesoamericanos, y cultivares tipo andinos como los pintos; para Panamá y República Dominicana la preferencia es hacia los rojos andinos, en Nicaragua y Honduras la mayor producción es de grano rojo, pequeño, brillante (PROFRIJOL, 1999).

Se ha observado que la amplia variabilidad genética del cultivo parece ser más acentuada en el acervo mesoamericano (Beebe *et al.*, 2000, Singh *et al.*, 1991 a). El éxito de los programas de mejoramiento del frijol depende del conocimiento sobre la diversidad genética a utilizar y la habilidad para incorporarla en las cruzas, para así lograr una mayor y sostenida ganancia genética para todos los caracteres de valor agronómico (Singh *et al.*, 1996). En muchos casos, la base genética del frijol puede ser ampliada artificialmente mediante la cruce programada de genes ubicados en otras especies de *Phaseolus*, tanto cultivadas como silvestres.

VARIABILIDAD EN ORGANISMOS FITOPATÓGENOS

Las mutaciones (de cromosoma, por inserción o eliminación de fragmentos de DNA, o transposones), el flujo de genes en las poblaciones (local o a largas distancias) y la recombinación (sexual o asexual), son los principales mecanismos por los cuales se genera la variabilidad genética en las poblaciones de microorganismos fitopatógenos (Burdon & Silk, 1997). La variación puede ser continua o discontinua

dependiendo de la magnitud del cambio sufrido (Carlile & Watkinson, 1996). La variación continua se presenta cuando se observa diferencia entre dos extremos de una población de patógenos, pero la diferencia entre los individuos es muy sutil. Por el contrario, la mutación discontinua ocurre cuando la expresión del cambio tiene efectos determinantes; por ejemplo, por mutación un microorganismo puede perder la capacidad de producir una enzima relacionada con patogenicidad, por lo que el mutante es absolutamente incapaz de infectar al hospedante.

El genoma de diferentes hongos fitopatógenos está constituido por alrededor de 10.000 genes (Carlile & Watkinson, 1996) y su frecuencia de mutación varía mucho. La intensidad con que una mutación altera la diversidad de la población de un patógeno va a depender de la tasa de mutación, el nivel de ploidía del organismo (haploide, diploide o dicariótico), el tamaño de la población y las ventajas adaptativas del fenotipo mutante (Burdon, 1992). Ejemplos de la emergencia de nuevos patotipos en el campo son los casos documentados en poblaciones de *Puccinia graminis* (Pers.) f. sp. *tritici* (Eriks. & Henn) (Burdon & Silk, 1997) y *Phytophthora infestans* (Mont. & de Bary) (Goodwin *et al.*, 1995) en los Estados Unidos, y *Puccinia striiformis* (Westend.) en Australia (Wellings & McIntosh, 1990).

En relación con el flujo de genes, esta es quizá la fuente de variabilidad más fácil de identificar. El proceso de migración conduce a la aparición de nuevos patotipos en áreas donde previamente estuvieron ausentes, como ha sido verificado en las rutas de migración de *Phytophthora infestans* desde su centro de origen en México hasta los Estados Unidos, Europa y Asia (Fry *et al.*, 1993), o la introducción de *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* en Australia (Burdon & Silk, 1997).

La recombinación sexual es el mecanismo más eficiente para incorporar diversidad en poblaciones de organismos fitopatógenos. Sin embargo, la recombinación también se puede lograr por medio de hibridación somática en hongos, o por parasexualismo en algunas bacterias (Agrios, 1988). La diferencia que se ha observado en la estructura de la población de razas de *P. graminis* f. sp. *tritici* en los Estados Unidos obedece a la recombinación sexual que se ha presentado entre las poblaciones del patógeno (Roelfs & Groth, 1980). Como consecuencia de la práctica de erradicación del hospedante alterno de la roya en los campos de trigo, las poblaciones del patógeno en los estados hacia el oeste de las Montañas Rocosas son menos variable que las localizadas hacia el este, donde aún persiste el hospedante alterno (*Berberis vulgaris* L.) y el patógeno continua reproduciéndose sexualmente cada año.

COEVOLUCIÓN EN PATOSISTEMAS NATURALES

A pesar de que la mayor parte de la literatura expone casos de coevolución en patosistemas agrícolas, este fenómeno ha sido observado también en poblaciones silvestres o naturales (Anikster & Whal, 1979). El principio básico para el estudio de la coevolución en patosistemas está contemplado

en la teoría gene a gene propuesta por Flor (1971), basado en estudios del patosistema lino (*Linum usitatissimum* L.) – roya (*Melampsora lini* (Perr.)). Según Flor (1971), en este sistema se da la interacción de genes que condicionan resistencia en el hospedante y sus correspondientes genes que regulan patogenicidad en el patógeno. Interpretaciones más recientes de la teoría gene a gene la definen como una interacción específica de polimorfismos de una serie de genes de resistencia en el hospedante y los correspondientes genes de avirulencia en el patógeno (Thompson & Burdon, 1992; Leonard, 1994).

El grado de variabilidad y frecuencia de genes de resistencia y virulencia en poblaciones naturales es amplio, tanto dentro de la población como entre poblaciones. En condiciones naturales, la presión de selección recíproca entre el hospedante y el patógeno, así como la acción del medio ambiente, son mecanismos considerados responsables de la frecuencia y variabilidad encontrada en los genes de resistencia y virulencia del patosistema (Anikster & Whal, 1979; Thompson & Burdon, 1992). Varios estudios corroboran estos eventos biológicos. Por ejemplo, poblaciones naturales de *M. lini* han mostrado variación en su estructura racial a través de varios años, tanto en el nivel de metapoblación como de subpoblaciones, ocasionado por una alta migración de patotipos entre poblaciones individuales (Burdon & Jaroz, 1992); diferentes patrones de resistencia a *Phakopsora pachyrhizi* (Syd.) fueron encontrados cuando dos poblaciones naturales de soya (*Glycine canescens* (Herm.)), geográficamente distantes, fueron expuestas a la población natural del patógeno (Burdon, 1997). Poblaciones silvestres de *Colletotrichum lindemuthianum* colectadas en Argentina resultaron ser polimórficas por su virulencia, y mediante el análisis de RAPD fueron identificados 45 marcadores, lo que demuestra la diversidad fenotípica y genética de este patógeno aún en sistemas naturales (Sicard *et al.*, 1997).

Así, la variabilidad genética es una condición presente en patosistemas silvestres que se ha preservado, e incrementado, en los agroecosistemas. La alteración genética de los cultivos introducida por el mejoramiento dirigido, la ampliación de las fronteras agrícolas, la introducción de cultivos a nuevas regiones, y el uso desmedido de plaguicidas sistémicos, son factores que aumentan la fuerza de selección ejercida sobre las poblaciones de patógenos presentes en esos sistemas disturbados por el hombre. Todos estos factores favorecen la expresión de nuevos genes de virulencia y polimorfismos en la estructura de la población de patógenos.

COEVOLUCIÓN EN PATOSISTEMAS DEL FRIJOL

Como se ha descrito anteriormente, el frijol común presenta una gran variabilidad genética, la cual ha sido usada y explotada en diferentes regiones del mundo para satisfacer los hábitos de consumo de la población. Bajo esas condiciones, los patógenos están expuestos a varias fuentes de variabilidad que modifican la estructura genética de sus poblaciones. A continuación se discutirán algunas asociaciones patógeno-

hospedante, que sugieren un proceso de coevolución de esos patosistemas en frijol.

La literatura reciente ofrece información que demuestra un alto grado de asociación, tanto en el tiempo como en el espacio, entre el frijol común y tres de sus más importantes patógenos: *Phaeosariopsis griseola* (Sacc. & Ferraris), *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) y *Uromyces appendiculatus* (Pers. & Unger.). Los primeros estudios que sugieren coevolución en este patosistema fueron publicados por Guzmán *et al.* (1993, 1995). Ellos caracterizaron 62 aislamientos del *P. griseola* provenientes de Malawi, Brasil y Estados Unidos, usando marcadores moleculares RAPD. El dendrograma producto del análisis estadístico de los datos, ubicó los aislamientos en dos grandes grupos: el primero, llamado Andino, estuvo constituido por aislamientos tomados de variedades andinas, mientras que el segundo, denominado Mesoamericano, estuvo formado por aislamientos provenientes de variedades mesoamericanas. Este agrupamiento de los aislamientos refleja los dos acervos genéticos del frijol (Singh *et al.*, 1991a, b) generados durante el proceso de domesticación de este cultivo. En cuanto a la reacción fenotípica, la inoculación artificial de los aislamientos sobre cultivares previamente identificados como Andinos o Mesoamericanos, mostró una interacción específica entre el frijol y *P. griseola*. Los aislamientos del primer grupo fueron más patogénicos sobre los genotipos Andinos; de manera análoga, los aislamientos del segundo grupo afectaron con mayor severidad genotipos Mesoamericanos.

Pastor-Corrales *et al.* (1995) también encontraron esa asociación específica en aislamientos provenientes de Perú, Bolivia, Ecuador y Colombia, en la región sur del continente, y de América Central. Marcadores RAPD segregaron en dos grupos, correspondientes a los grupos andino y mesoamericano, como se presentó en la reacción fenotípica de variedades diferenciales a la colección de aislamientos. Estas investigaciones proponen un alto grado de especificidad de *P. griseola* y su hospedante principal, independientemente del origen de las poblaciones del patógeno.

Poblaciones de *C. lindemuthianum* agente causal de la antracnosis del frijol, también han sido objeto de estudios de virulencia y moleculares que respaldan la hipótesis de coevolución. En 1993, Pastor-Corrales *et al.* (1993) caracterizaron 333 aislamientos colectados en países de la región Andina y Mesoamérica, encontrando mayor diversidad patogénica en poblaciones mesoamericanas; la mayoría de las razas presentes en una región geográfica no se encontraron en la otra, sugiriendo mayor adaptación de razas a cultivares de la misma región geográfica. Se ha determinado, además, que poblaciones del hongo presentes en Costa Rica y Honduras son más virulentas sobre diferenciales del acervo genético mesoamericano, mientras que aislamientos de Bolivia son menos variables y patogénicos sobre diferenciales del origen andino (Araya, datos sin publicar). Esta reacción fenotípica que asocia el patógeno con el origen geográfico del hospedante ha sido corroborada en otros estudios (Balardin *et al.*, 1997; González *et al.*, 1998; Sicard *et al.*, 1997b), a pesar

que Balardin *et al.* (1997) mencionan en sus trabajos que esa especificidad no fue contundente.

Cabe destacar el hecho de que los trabajos citados han utilizado como hospedante el grupo estándar de variedades diferenciales para antracnosis, en el cual ocho líneas son de origen mesoamericano y solo cuatro de origen andino (Sicard *et al.*, 1997 a). Una mayor aproximación a la verdadera especificidad del patógeno a genotipos de origen geográfico similar, solo se puede conocer utilizando un grupo más amplio de variedades que represente los dos centros de domesticación del frijol y sus respectivas razas.

En el nivel molecular, esa especificidad del patógeno ha sido menos evidente. Estudios realizados utilizando la técnica de RAPD, demostraron que la distancia genética entre haplotipos de *C. lindemuthianum* de aislamientos de Argentina y Ecuador es menor que la distancia entre estos y los mexicanos, aunque algunos alelos encontrados en regiones mesoamericanas son detectados en poblaciones andinas, no así lo contrario (Sicard *et al.*, 1997a). Sin embargo, no fue posible demostrar la asociación entre patrones de bandeo y origen geográfico. Igual limitación se detectó en la comparación de aislamientos colectados en América Latina, África y Europa (Fabre *et al.*, 1995). Más investigación es necesaria al respecto para afinar los procedimientos a usar, con el fin de detectar en el nivel molecular la especificidad encontrada en estudios de virulencia. Es probable que RAPD no sea la técnica más adecuada en estos casos ya que se ha conseguido mayor polimorfismo utilizando otras técnicas (González *et al.*, 1998), o que el muestreo no ha sido suficientemente representativo de las regiones geográficas.

Los resultados demuestran que frecuentemente los genes de resistencia a *C. lindemuthianum* son quebrados por poblaciones simpátricas del patógeno, lo que indica adaptación del patógeno a poblaciones locales, como se ha propuesto en sistemas parásito-hospedante (Kaltz & Shykoff, 1998). Esto lleva a encontrar casos en que las plantas mantienen su resistencia a poblaciones alopatricas.

Uromyces appendiculatus, el agente causal de la roya del frijol, es otro patógeno en el que el proceso de coevolución ha sido estudiado. La presencia de razas fisiológicas fue reportada por primera vez en 1935 (Harter *et al.*, 1935), y hoy día se estima que existen más de 300 razas (Stavely & Pastor-Corrales, 1994), distribuidas principalmente en América Central (Vargas, 1970, 1971), Estados Unidos (Stavely, 1999; Stavely *et al.*, 1989), México (Araya *et al.*, 1996; Crispín y Dongo, 1962) y Brasil (Carrizo *et al.*, 1980). Todos estos informes están basados en la reacción fenotípica del grupo de cultivares diferenciales.

En los últimos años se han introducido las técnicas moleculares para determinar la variabilidad genética en poblaciones del patógeno y su asociación con los centros de diversificación del frijol.

Linde *et al.* (1990) evaluaron la diversidad genética 26 aislamientos de roya del frijol y encontraron polimorfismo en 13 isoenzimas, cuyo análisis fenético generó tres grupos con alto grado de similitud. El análisis de virulencia mostró

mayor polimorfismo pero igual agrupamiento que el análisis isoenzimático. Los datos confirmaron la correlación existente entre virulencia y la base genética de la población del hospedante. Posteriormente, Braitwaite *et al.* (1994), utilizando marcadores RADP, también definieron tres grupos de poblaciones del hongo provenientes de Australia, que denominaron A, B y AB. En ambos estudios aún no se hace referencia al acervo genético del hospedante del que fue tomada la muestra. Los primeros visos de asociación entre el origen del hospedante y el aislamiento los observó Maclean *et al.* (1995), quienes encontraron que todos los aislamientos Australianos conformaban un amplio grupo (A, B y AB) divergente de otro que contenía solo aislamientos de Estados Unidos (grupo C); los patrones RAPD encontrados en los grupos A y C fueron interpretados como producto de la coevolución entre el patógeno y el hospedante.

Meskine (1995) analizó los patrones de bandeo de RAPD producidos por aislamientos de diferente origen geográfico, pero no logró determinar ninguna asociación entre virulencia y origen geográfico; únicamente encontró bandas polimórficas para diferenciar las razas 38 y 39, que se caracterizan por atacar materiales de origen andino. Resultados más precisos, donde aislamientos de *U. appendiculatus* provenientes de países andinos mostraron la especificidad sobre líneas criollas de frijol típico de esa región, fueron encontrados por Sandlin *et al.* (1999). También, Araya (1996) demostró la gran variabilidad patogénica del hongo partiendo de aislamientos provenientes de países andinos, América Central, México y el Caribe, con base en la reacción de virulencia en el grupo de diferenciales (Stavely *et al.*, 1983) y marcadores RAPD. El análisis estadístico (cluster) separó las poblaciones en tres grupos: a) aislamientos predominantemente Andinos, b) aislamientos predominantemente Mesoamericanos, y c) un grupo heterogéneo conteniendo aislamientos de ambos centros de domesticación del frijol. Los aislamientos tipo mesoamericanos fueron más virulentos y algunos atacaron líneas de frijol tanto andinas como mesoamericanas; por el contrario, la población andina del hongo fue más específica en su patogenicidad sobre líneas de frijol de origen andino (Sandlin *et al.*, 1999). El análisis de patrones RAPD no produjo marcadores específicos para cada región, pero se confirmaron los tres grupos encontrados con la reacción fenotípica, lo que ofrece evidencia sobre coevolución entre de poblaciones de *U. appendiculatus* y *P. vulgaris*.

La separación de los aislamientos en tres grupos distintos, tanto fenotípica como genéticamente, demuestra que el patógeno ha evolucionado paralelamente a su hospedante y que se ha generado una población del hongo especializada y adaptada a variedades locales de frijol (Kaltz & Shykoff, 1998; Sandlin, *et al.*, 1999). La mayor virulencia y variabilidad encontrada en las poblaciones de roya en Mesoamérica, puede ser el reflejo de la mayor variabilidad mostrada por el frijol en esta zona (Singh, 1991 a, b), debido no sólo a flujo ancestral de genes, sino también a la amplia diversidad de frijoles actualmente cultivados en esta región (Voysesst & Dessert, 1991), que incluye materiales de los

acervos genéticos mesoamericano y andino. El tercer grupo, conteniendo aislamientos de ambos orígenes, puede estar influenciado por un proceso evolutivo divergente en desarrollo que también se ha observado en el frijol, sobre todo en materiales de la raza Nueva Granada, que parece ser una región de transición entre ambos acervos (Debouck *et al.*, 1993).

USO PRÁCTICO DE LA DIVERSIDAD EN PATOSISTEMAS DEL FRIJOL

Determinar la diversidad patogenética en organismos tan variables como los causantes de la mancha angular, la antracnosis y la roya del frijol, y la evaluación de germoplasma, debe ser una labor permanente en los programas de mejoramiento. La erosión o pérdida de la resistencia a enfermedades en cultivares comerciales, causado por el surgimiento de patotipos originalmente ausentes o en muy bajas poblaciones, no es un fenómeno nuevo o inesperado; existen antecedentes que demuestran la alta frecuencia con que se puede presentar, muchas veces inducida por el hombre (Harlam, 1972; Young & Kelly, 1997). El fracaso en los programas de mejoramiento por resistencia a esos patógenos no está en retirar del mercado una variedad que se tornó susceptible, sino en la ausencia de un reemplazo en el momento oportuno.

Las implicaciones genéticas de la coevolución en cada ambiente son que las poblaciones del patógeno, nativas o emergentes, poseen diferentes mecanismos de patogenicidad – genes – mientras que sus respectivos hospedantes ofrecerán una diversidad similar en cuanto a genes de resistencia. En este sistema es primordial conocer las razas presentes para seleccionar los materiales con resistencia a esas variantes y eventualmente iniciar la introgresión de esos genes en los cultivares comerciales. Así, será posible identificar altos niveles de resistencia duradera mediante la combinación de diversas fuentes de resistencia presentes en germoplasma de los diferentes centros de domesticación del frijol. Sin embargo, estudios sobre la habilidad combinatoria son necesarios para aumentar la eficiencia de los cruces.

Varios esfuerzos se han hecho en ese sentido, con más éxito en condiciones de clima templado que en regiones tropicales. El gen A (*Co 1*) de resistencia a antracnosis, de origen andino, confiere resistencia a las razas 73, 129, 133, 136, 385, 448, 901, 1409 y 1473, patogénicas sobre diferenciales de origen mesoamericano (Pastor-Corrales *et al.*, 1994, 1995). Young & Kelly (1997) recomiendan el uso específico de genes mayores de origen mesoamericano, como Mexique 3 (*Co 5*) en diferentes combinaciones con genes de origen andino para obtener resistencia durable a la antracnosis del frijol. Otros genes importantes se encuentran en las variedades Catrachita y SEL 1360, que poseen los genes *Co 6* y *Co 7*, respectivamente. El diferencial G2333 posee genes efectivos para todos los aislamientos probados en Estados Unidos (Young & Kelly, 1997), pero su resistencia se ha quebrado con aislamientos de Costa Rica (Araya & Cárdenas, 1999), por lo que para este país, y el resto de América Central,

las fuentes de resistencia recomendadas deben ser más amplias y diversas (Araya & Araya, 2000).

La mancha angular es una enfermedad cuya incidencia, severidad y distribución geográfica han aumentado significativamente en los últimos años. Hasta inicios de la década de los 90 no se contaba con suficiente información sobre su variabilidad patogénica, hoy día se sabe que esta es alta y está presente en diferentes países de América Latina. A pesar de esta limitante, se han evaluado colecciones de germoplasma y las primeras fuentes de resistencia han sido identificadas (Araya & Araya, 2000, Schwartz *et al.*, 1982). El estudio de 52 aislamientos de *P. griseola* de América Latina demostró que la mayoría de patotipos mesoamericanos son virulentos sobre diferenciales de ambos acervos genéticos, pero es posible detectar algunos materiales mesoamericanos resistentes a esas poblaciones, lo que permite utilizarlos como padres donantes de genes. Por ejemplo, la combinación de BAT 332 y Cornell 49242 es resistente a todas las razas andinas y a la mayoría de las razas mesoamericanas (Chacón *et al.*, 1997). Otras fuentes de resistencia a poblaciones mesoamericanas del hongo identificadas en Costa Rica son: México 54, G 5686, G 13772, A 222, ICA Pijao, MAR 2 y SEA 2 (Araya & Araya, 2000).

Uromyces appendiculatus, causante de la roya del frijol, es uno de los patógenos más variable y la enfermedad una de las más estudiadas en el mundo, sobre todo en países de clima templado ya que en el neotrópico la enfermedad no ha alcanzado niveles epidémicos, con excepción de Cuba. Muchos genes de resistencia, de amplio espectro y de herencia dominante, están presentes en el germoplasma de frijol. En 1996 se definieron 10 de esos genes, identificados desde *Ur-1* hasta *Ur-10* (Kelly *et al.*, 1996), luego un nuevo gen (*Ur-11*) fue identificado en las líneas PI 181996 y PI 190078 (Stavelly, 1998). Entre esos genes los más utilizados son *Ur-3*, *-4*, *-5*, *-6*, y *-11*, los cuales confieren resistencia a 44, 30, 70, 22 y 89 de las 90 razas identificadas en Estados Unidos (Stavelly, 2000). Algunas fuentes de resistencia, tanto andinas como mesoamericanas, utilizadas en programas de mejoramiento son: Aurora, México 235, México 239, US 3, Olathe, GN 1140, Pompadour, Checa, Cape y Resisto (Kelly *et al.*, 1996).

Nuevas variedades comerciales con resistencia múltiple a estos y otros patógenos pueden ser obtenidas por introgresión de genes mayores efectivos contra múltiples razas en un proceso de piramidación de genes. Otras estrategias de incorporación de genes de resistencia como mezclas de variedades o multilíneas, pueden ser utilizadas para ampliar la base genética del hospedante y protegerlo contra un mayor número de patotipos; no obstante, la estabilidad de los materiales en el campo está en relación directa con la plasticidad genética de las poblaciones del patógeno.

En algunos casos la introducción de genes específicos (“gene deployment”) puede llevar a un sistema más estable y duradero de resistencia (Jones *et al.*, 1995). En el caso de los tres patógenos tratados en este documento, las fuentes de resistencia identificadas en frijol mesoamericano poseen el

potencial de proteger contra una amplia gama de patotipos presentes en la región Andina. La durabilidad de la resistencia tiene mayor probabilidad de éxito en países como Argentina o Bolivia que producen cantidades considerables de frijol mesoamericano para exportación, sin un largo historial de cultivo del frijol y donde la población del patógeno es menos variable (Araya *et al.*, 2001). El caso contrario también es cierto, genes de origen andino tienen mayor potencial de durabilidad en sistemas mesoamericanos, pero debe manejarse adecuadamente el problema de baja fertilidad de las cruces entre acervos genéticos (Beaver & Kelly, 1994; González-García & Grafton, 1996, Jones *et al.*, 1995).

RECONOCIMIENTOS

El presente trabajo se ha realizado gracias al aporte de PROFRIJOL en el proyecto “Mejoramiento del frijol mesoamericano de grano negro” y el contrato N°ERBIC 18 CT 980317, financiado por la Comunidad Económica Europea

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. Plant Pathology. 3rd ed. Academic Press, N.Y., 803p. 1988.
- ANIKSTER, Y. & WHAL, I. Coevolution of the rust fungi on gramineae and liliaceae and their hosts. Annual Review of Phytopathology 17:367-403. 1979.
- ARAYA, C.M. Pathogenic and molecular variability and telia production of *Uromyces appendiculatus* isolates from the Andean and Middle American centers of domestication of common bean. (PhD thesis). University of Nebraska-Lincoln. 1996.
- ARAYA, C.M. & ARAYA, R. Avances en la selección de fuentes de resistencia a las principales enfermedades del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en Costa Rica. Agronomía Mesoamericana 11:25-29. 2000.
- ARAYA, C.M., & CÁRDENAS, C. Variabilidad patogénica y fuentes de resistencia a poblaciones de *Colletotrichum lindemuthianum* en Costa Rica. Resúmenes XXXIX Reunión Anual APS-CD. Puerto Rico. p.72. 1999.
- ARAYA, C.M., CÁRDENAS, C., PALACIOS, N., ARAUZ, W., & DOOHAN, F. Pathogenic and molecular diversity of *Colletotrichum lindemuthianum* in the domestication centers of common bean. Phytopathology 91:S3. 2001
- ARAYA, C.M., STEADMAN, J.R., & ACOSTA-GALLEGOS, J. Pathogenic variability of *Uromyces appendiculatus* on dry edible beans in México. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative 39:150-151. 1996.
- BALARDIN, R.S., JAROSZ, A.M. & KELLY, J.D. Virulence and molecular diversity *Colletotrichum lindemuthianum* from South, Central and North America. Phytopathology 87:1184-1191. 1997.
- BEAVER, J. Should the Caribbean be considered the source of a secondary gene pool for the Andean red beans? Annual Report of the Bean Improvement Cooperative 36:30-31. 1993.
- BEAVER, J.S. & KELLY, J.D. Comparison of selection methods for bean population derived from crosses between gene pools. Crop Science 34:34-37. 1994.
- BECERRA-VELASQUEZ, L. & GEPTS, P. RFLP diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris*) in its centers of origin. Genome 37:30-31. 1994.

- BEEBE, S.E. & PASTOR-CORRALES, M.A. Breeding for disease resistance. In A. van Schoonhoven & O. Voysest (Eds). Common bean, research for crop improvement. CIAT. Cali, Colombia. 1991. pp.561-618.
- BEEBE, S.E., SKROCH, P.W., TOHME, J., DUQUE, M.C., PEDRAZA, F. & NIENHUIS, J. Structure of genetic diversity among common bean landraces of Middle American origin based on correspondence analysis of RAPD. *Crop Science* 40:264-273. 2000.
- BONILLA, N. Producción de semilla de frijol posterior al huracán Mitch en Nicaragua. *Agron. Mesoamericana* 11:1-5. 2000.
- BRAITHWAITE, K.S., MANNERS, J.M., IRWIN, J.A.G., MAXLEAN, D.J. DNA markers reveal hybrids between two diverse background genotypes in Australian collections of the bean rust fungus *Uromyces appendiculatus*. *Australian Botany* 42:255-267. 1994.
- BURDON, J.J. Genetic variation in pathogen populations and its implication for adaptation to host resistance. In: Jacobs, T. & Parveliet, J.E. (Eds.) Durability of Disease Resistance. Amsterdam. Kluwer. 1992. pp.41-56
- BURDON, J.J. Phenotypic and genetic patterns of resistance to the pathogen *Phakopsora pachyrhizi* in populations of *Glycine canescens*. *Oecología* 73:257-367. 1997.
- BURDON, J.J. & JAROZ, A.M. Temporal variation in the radical structure of flax rust (*Melampora lini*) populations growing on natural strands of wild flax (*Linum marginale*): local versus metapopulation. *Plant Pathology* 41:165-179. 1992.
- BURDON, J.J. & SILK, J. Sources and patterns of diversity in plant-pathogenic fungi. *Phytopathology* 87:664-669. 1997.
- CARLILE, M.J. & WATKINSON, S.C. The fungi. N.Y. Academic Press. 1996. pp.203-250.
- CARRIJO, I.V., CHAVES, G.M. & PEREIRA, A.A. Reação de vinte e cinco variedades de *Phaseolus vulgaris* a trinta e nove raças fisiológicas de *Uromyces phaseoli* var. *typica* Arth., em condições de casa-de-vegetação. *Fitopatologia Brasileira* 5:245-255. 1980.
- CIAT. Trends in CIAT commodities. Working Doc. N° 128. Cali, Colombia. s.p. 1993.
- CIAT. Sistemas estándar de evaluación de germoplasma. Cali, Colombia. 56p. 1987.
- CRISPIN, A. & DONGO, S. New physiologic races of *Uromyces phaseoli typica*, from Mexico. *Plant Disease* 46:411-413. 1962.
- CHACÓN, M.I., JARA, C., CASTELLANOS, G., POSSO, C.E., BURUCHARA, R., CUASQUER, J.B., & PASTOR-CORRALES, M.A. Diversidad genética y relación entre aislamientos de Africa y América Latina del hongo de la mancha angular del frijol común: implicaciones para el mejoramiento genético. In: Singh, S.P. & Voysest, O. Taller de mejoramiento de frijol para el siglo XXI. Bases de una estrategia para América Latina. CIAT. Cali, Colombia. 1997. pp.135-142.
- DEBOUCK, D.G., TORO, O., PAREDES, O.M. JOHNSON, W.C. & GEPTS, P. Genetic diversity and ecological distribution of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) in northwestern South America. *Economic Botany* 47:408-423. 1993.
- FABRE, J.B., JULIEN, J., PARIOST, D. & DRON, M. Analysis of diverse isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* infecting common bean using molecular markers. *Mycological Research* 99:429-435. 1995.
- FAO. 2001. FAOSTAT data. USDA Bean Market News.
- FLOR, H.H. Current status of the gene-for-gene concept. *Ann. Rev. Phytopathology* 9:275-296. 1971.
- FRY, W. E., GOODWIN, S.B., DYER, A.T., MATUSZAK, J.M. DRENTH, A., TOOLEY, P.W., SUJKOWSKI, L.S., KOH, Y.J., COHEN, B.A., SPIELMAN, L.J. DEAHL, K.L. INGLIS, D.A. & SANDLAN, K.P. Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: chronology, pathways, and implications. *Plant Disease* 77:653-661. 1993.
- GEPTS, P. Phaseolin as an evolutionary marker. In: Gepts, P. (Ed.). Genetic resources of *Phaseolus* beans. Kluwer. Dordrecht, the Netherlands. 1988. pp.215-240.
- GEPTS, P. & BLISS, F.A. Phaseolin variability among wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris*) from Colombia. *Economic Botany* 40:469-478. 1986.
- GEPTS, P. & DEBOUCK, D. Origin, domestication and evolution of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: van Schoonhoven, A. & Voysest, O. (Eds). Common Beans; Research for Crop Improvement. CIAT, Cali, Colombia. p.7-53. 1991.
- GONZÁLEZ-GARCIA, V.F. & GRAFTON, K.F. Inheritance of rust resistance in common bean of diverse origin. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 39:174-175. 1996.
- GONZALEZ, M., RODRIGUEZ, R., ZAVALA, M.E., JACOBO, J.L., HERNÁNDEZ, F., ACOSTA, J., MARTINEZ, O. & SIMPSON, J. Characterization of Mexican isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* by using differential cultivars and molecular markers. *Phytopathology* 88:292-299. 1998.
- GOODWIN, S.B., SUJKOWSKI, L.S. & FRY, W.E. Rapid evolution of pathogenicity within clonal lineages of the potato late blight disease fungus. *Phytopathology* 85:669-676. 1995.
- GUZMÁN, O., GILBERTSON, R.L., NODARI, R., JOHNSON, W.C., TEMPLE, D. MANDALA, D., MKANDAWIRE, A.B.C. & GEPTS, P. Characterization of variability in the fungus *Phaeoisariopsis griseola* suggests coevolution with the common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Phytopathology* 85:600-607. 1995.
- GUZMÁN, P., MANDALA, D., GEPTS, P., NODARI, R., JOHNSON, B., TEMPLE, S., MSUKU, W.A.B., MKANDAWIRE, A.B.C. & GILBERTSON, R.L. Genetic diversity among isolates of the angular leaf spot fungus (*Phaeoisariopsis griseola*) revealed by random amplified polymorphic DNA (RAPDs) analysis. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 36:158-159. 1993.
- HARTER, L.L., ANDRUS, C.F. & ZAUMEYER, W.J. Studies on bean rust caused by *Uromyces appendiculatus typica*. *Journal of Agricultural Research* 50:737-759. 1935.
- HARLAM, J.R. Genetics of disaster. *Journal of Environmental Quality* 1:212-215. 1972.
- JONES, S.S., MURRAY, T.D. & ALLAN, R.E. Use of alien genes for the development of disease resistance in wheat. *Annual Review of Phytopathology* 33:429-443. 1995.
- KAPLAN, L. & KAPLAN, L.N. *Phaseolus* in archeology. In: Gepts, P. (Ed). Genetic Resources of *Phaseolus* beans. Kluwer, Dordrecht, Netherland. 1988. pp.125-143.
- KALTZ, O. & SHYKOFF, J.A. Local adaptation in host-parasite systems. *Heredity* 81:361-370. 1998.
- KELLY, J.D., STAVELY, J.R. & MIKLAS, P.N. Proposed symbols for rust resistance genes. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 39:25-31. 1996.
- LEONARD, K.L. Stability of equilibria in a gene-for-gene coevolution model of host- parasite interactions. *Phytopathology* 84:70-77. 1994.
- LINDE, D.C., GROTH, J.V. & ROELFS, A.P. Comparison of isozyme

- and virulence diversity patterns in the bean rust fungus *Uromyces appendiculatus*. *Phytopathology* 141:147. 1990.
- MACLEAN, D.J., BRATHWAITE, K.S., IRWIN, J.A.G., MANNERS, J.M. & GROTH, J.V. Random amplified polymorphic DNA relationships among diverse genotypes in Australian and American collections of *Uromyces appendiculatus*. *Phytopathology* 85:757-765. 1995.
- MESKINE, M. Bean rust pathogen variability measured by virulence and the random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. (PhD thesis). University of Nebraska-Lincoln. 1995.
- NODARI, R.O., KOINANGE, E.M.K., KELLY, J.D. & GEPTS, P. Toward and integrated linkage map of common bean I. Development of genomic DNA probes and levels of restriction fragment length polymorphism. *Theoretical and Applied Genetics* 84:186-192. 1992
- PACHICO, D. Tendencias en la producción mundial de frijol común. In: Pastor-Corrales, M.A. & Schwartz, H.F. (Eds.). *Problemas de producción del frijol en los trópicos*. CIAT. Cali, Colombia. 1989. pp.1-10.
- PASTOR-CORRALES & M.A., JARA, C.E. La evolución de *Phaeoisariopsis griseola* con el frijol común en América Latina. *Fitopatología Colombiana* 19:15-24. 1995.
- PASTOR-CORRALES, M.A., OTOYA, A.M. & MAYA, M.M. Diversidad de la virulencia de *Colletotrichum lindemuthianum* en Mesoamérica y la región Andina. *Fitopatología Colombiana* 17:31-38. 1993.
- PASTOR-CORRALES, M.A., OTOYA, M.M., MOLINA, A. & SINGH, S.P. Resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Middle American and Andean South America in different common bean races. *Plant Disease* 79:63-67. 1995.
- PASTOR-CORRALES, M.A. & TU, J.C. Anthracnosis. In: Pastor-Corrales, M.A & Schwartz, H.H. (Eds.). *Problemas de producción de frijol en los trópicos*. 2da. Edic. CIAT, Cali, Colombia. 1994. pp.87-120.
- PROFRIJOL. Producción de semilla de frijol en Centro América; experiencias y planteamientos para el futuro. Memoria Taller Regional de Semillas. Costa Rica. 145p. 1999.
- ROELFS, A.P. & GROTH, J.V. A comparison of virulence phenotypes in wheat stem rust populations reproducing sexually and asexually. *Phytopathology* 70:855-862. 1980.
- SANDLIN, C.M., STEADMAN, J.R., ARAYA, C.M. & COYNE, D.P. Isolates of *Uromyces appendiculatus* with specific virulence to landraces of *Phaseolus vulgaris* of Andean origin. *Plant Disease* 83:108-113. 1999.
- SCHOONHOVEN, A.VAN & VOYSEST, O. Common beans in Latin America and their constraints. In: CIAT. *Bean Production Problems in the Tropics*. Cali, Colombia. 1989. pp.33-58.
- SCHWARTZ, J.F., PASTOR-CORRALES, M.A. & SINGH, S.P. New sources of resistance to anthracnose and angular leaf spot of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica* 31:741-754. 1982.
- SICARD, D., BUCHET, S., MICHALAKIS, Y., & NEEMA, C. Genetic variability of *Colletotrichum lindemuthianum* in wild populations of common bean. *Plant Pathology* 46:355-365. 1997a.
- SICARD, D., MICHALAKIS, Y., DRON, M. & NEEMA. Genetic diversity and pathogenic variation of *Colletotrichum lindemuthianum* in the three centers of diversity of its host, *Phaseolus vulgaris*. *Phytopathology* 87:807-813. 1997b.
- SINGH, S.P., GEPTS, P. & DEBOUCK, D.G. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Economic Botany* 45:379-396. 1991a
- SINGH, S.P. GUTIERREZ, J.A., MOLINA, A., URREA, C. & GEPTS, P. Genetic diversity in cultivated common bean: II. Marked-based analysis of morphological and Agronomic traits. *Crop Science* 31:23-29. 1991b.
- SINGH, S.P., NODARI, R. & GEPTS, P. Genetic diversity in cultivated common bean. I. Allozymes. *Crop Sc.* 31:19-23. 1991c.
- SINGH, S.P., ROCA, W.M. & DEBOUCK, D. Ampliación de la base genética de los cultivares de frijol: hibridación interespecífica en *Phaseolus* especies. En: Singh, S.P & Voysest, O. (Eds.). *Taller de Mejoramiento de Frijol para el siglo XXI*. CIAT. Cali, Colombia. 1996. pp.9-19.
- SMART, J. Morphological and biochemical changes in *Phaseolus* beans. Klumer. Dordrecht, Netherlands. 1988. pp.143-161.
- STAVELY, J.R. Pyramiding rust and viral resistance genes using traditional and marker techniques in common bean. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 43:1-4. 2000.
- STAVELY, J.R. Bean rust in the United States in 1998. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 42:35-36. 1999.
- STAVELY, J.R. Recombination of two dominant rust resistance genes that are linked in repulsion. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 41:17-18. 1998.
- STAVELY, J.R. & PASTOR-CORRALES, M.A. Royá . In: Pastor-Corrales, M.A. & Schwartz, H.H. (Eds.). *Problemas de producción de frijol en los trópicos*. 2da. edic. CIAT, Cali, Colombia. 1994. pp.185-225.
- STAVELY, J.R., FREITAG, G.F., STEADMAN, J.R. & SCHWARTZ, H.H. The 1983 bean rust workshop. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 37:247-248. 1983.
- STAVELY, J.R., STEADMAN, J.R. & SCHWARTZ, H.H. New pathogenic variability of *Uromyces appendiculatus* in North America. *Plant Disease* 428-432. 1989.
- THOMPSON, J.N. & BURDON, J.J. Gene-for-gene coevolution between plants and parasites. *Nature* 360:121-125. 1992.
- VARGAS, E. Determinación de las razas fisiológicas de la roya de frijol en Nicaragua y Honduras, en la segunda siembra de 1968. *Memorias XVI Reunión PCCMCA. IICA, Costa Rica*. 1970. pp.50-51.
- VARGAS, E. Determinación de las razas fisiológicas de la roya del frijol en El Salvador. *Memorias XVII Reunión Anual PCCMCA. Panamá*. 1971. pp.40-41.
- VOYSEST, O. & DESSERT, M. Bean cultivars: classes and commercial seed types. In: Van Schoonhoven, A. & Voysest, O. (Eds.) *Common Beans; Research for Crop Improvement*. CIAT. Cali. Colombia. 1991. pp.119-162.
- WELLINGS, C.R. & MCINTOSH, R.A. *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Australasia: pathogenic changes during the first ten years. *Plant Pathology* 39:316-325. 1990.
- YOUNG, R.A. & KELLY, J.D. RAPD markers linked to three major anthracnose resistance genes in common bean. *Crop Science* 37:940-946. 1997.