

Selección de líneas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) que combinan resistencia al gorgojo común (*Acanthoscelides obtectus* Say) con resistencia a los virus BGYMV, BCMV y BCMNV

Por

Bernardo Francisco Mateo Suero

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

en

AGRONOMÍA

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO

RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ

2016

Aprobada por:

James S. Beaver, PhD.
Presidente, Comité Graduado

Fecha

Timothy G. Porch, PhD.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Carlos Rosario, PhD.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

María Vargas PhD
Representante, Estudio Graduado

Fecha

Elvin Román Paoli, PhD.
Director del Departamento

Fecha

Resumen

Durante el almacenamiento, la semilla de frijol puede sufrir considerables pérdidas económicas causadas por los gorgojos tales como el gorgojo común del frijol (*Acanthoscelides obtectus*) Say. Las pérdidas causadas por este insecto pueden ser cuantitativas, como resultado de un daño directo a la semilla o cualitativos tales como semilla contaminada con excrementos o partes del cuerpo del gorgojo. El Virus del Mosaico Dorado Amarillo (BGYMV), el Virus del Mosaico Común de Frijol (BCMV) y el Virus del Mosaico Común Necrótica de Frijol (BCMNV) se encuentran entre las enfermedades virales más graves de frijol, que tienen el potencial de causar pérdidas de hasta el 80% de la producción de frijol. El objetivo de esta investigación fue el desarrollo de líneas de frijol que combinan resistencia al gorgojo común del frijol y resistencia a los virus en tipos de semilla de frijol que tienen valor comercial. Se desarrolló varias poblaciones de cruzamientos dentro y entre los acervos genéticos Mesoamericana y Andino. Muestras de 10 semillas de cada línea de frijol se infestaron con 10 gorgojos adultos para detectar líneas de resistencia al gorgojo común de frijol. Las líneas que no mostraron o mostraron muy pocos daños a los gorgojos se evaluaron de nuevo para confirmar la reacción resistente. Los marcadores moleculares se utilizaron para la selección indirecta de genes asociados con resistencia a los gorgojos y resistencia a los virus. 35 líneas con resistencia al gorgojo se evaluaron en el invernadero con la cepa NL3 de BCMNV para identificar las plantas con resistencia al virus. Se identificaron líneas que combinaron resistencia a los gorgojos y resistencia a los virus en varios tipos de semillas comerciales. Los resultados sugieren la necesidad de identificar marcadores moleculares que son más eficaces para la selección indirecta de la resistencia a los gorgojos. Se utilizó una prueba de Chi-cuadrado para comparar los patrones de segregación entre las poblaciones para resistencia al gorgojo. Todas las poblaciones en la generación F₄ mostraron el mismo patrón de segregación de resistencia y susceptibilidad ante *A. obtectus*. La baja frecuencia de líneas con altos niveles de resistencia a los gorgojos sugiere que el complejo locus APA no es el único factor asociado con la resistencia al gorgojo del frijol común.

Abstract

During storage, bean seed can suffer considerable economic losses caused by bruchids such as the common bean weevil (*Acanthoscelides obtectus*) Say. The losses caused by this insect may be quantitative as the result of direct damage to the seed or qualitative such as seed contaminated by excreta or body parts of the weevil. Bean Golden Yellow Mosaic Virus (BGYMV), Bean Common Mosaic Virus (BCMV) and Bean Common Mosaic Necrosis Virus (BCMNV) are among the most severe viral diseases of beans, having the potential to cause losses up to 80% of bean production. The objective of this research was to develop bean lines that combine common bean weevil and virus resistance into commercial bean seed types. Several populations were developed in crosses between the Mesoamerican and Andean gene pools. Samples of 10 seeds of each bean line were infested with 10 adult weevils to screen lines for resistance to the common bean weevil. Lines that showed no or very little weevil damage were screened again to confirm the resistant reaction. Molecular markers were used for indirect selection for genes associated with weevil and virus resistance. 35 lines with weevil resistance were evaluated in the greenhouse with the NL3 strain of BCMNV to identify plants with resistance to the virus. Lines were identified that combine common bean weevil and virus resistance in commercial seed types. The results suggest the need to identify molecular markers that are more effective for indirect selection for resistance to weevils. A Chi-square test was used to compare patterns of segregation among populations for resistance to the common bean weevil. All of the F₄ populations showed the same pattern of segregation for resistance and susceptibility to the common bean weevil. The low frequency of lines with high levels of resistance to weevils suggests that the complex APA locus is not the only factor associated with resistance to the common bean weevil.

Dedicatoria

A Jehová Dios, por darme la oportunidad de vivir, así como permitirme conocer su divino y santísimo nombre y poder dar a conocer su nombre, así como también sus maravillosos propósitos.

A la memoria de mi madre Cruz María Suero Paniagua, por velar siempre por mi bienestar, guiarme e instruirme por el camino en el cual debía de pisar.

A mi padre Bernardo Mateo, por instruirme desde pequeño, inculcarme amor por la agricultura y ser siempre un modelo a seguir.

A la memoria del Dr. César Ventura Paniagua Guerrero, por sus colaboraciones para que este trabajo se materialice.

Agradecimientos

A mis hermanos Luis, Manuel y Ana Mateo, por su apoyo incondicional.

A mis tías Juana, Milagros, Morena, por tenerme siempre pendiente y darme ánimo.

Al Dr. James Beaver quien me dio la oportunidad de realizar estos estudios de maestría bajo su supervisión y ser presidente de mi comité. Gracias por toda su colaboración y enseñarme muchas cosas sobre el Fitomejoramiento.

A los demás miembros de mi comité Dr. Tim Porch por permitirme realizar los trabajos de marcadores moleculares y ser parte de mi comité, al Dr. Carlos Rosario por ser parte de mi comité.

A los profesores Gabriel Domínguez, Linda Beaver, Fernando Gallardo y Consuelo Estévez, por su apoyo y sus valiosas sugerencias en momento de dudas.

A la Dra. Graciela Godoy, por su gran colaboración para que estos estudios se realizarán.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Agropecuaria y Forestales (CONIAF), por haber financiado gran parte de esta investigación.

A Marisa, Lidia, Anaima, Casimiro, Jacinto, Marcelino, por tenerme siempre presente y brindarme ánimo.

A José, Angelita, Fredy y Roberto Collazo, por recibirme como un miembro de su familia a mi llegada a Mayagüez.

A mis compañeros de estudios que siempre me han prestado apoyo en los momentos difíciles.

Lista de contenido

Resumen.....	ii
Abstract.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de contenido.....	vi
Lista de tablas.....	vii
Lista de figuras.....	ix
Introducción.....	1
Objetivos.....	4
Revisión de literatura.....	5
Materiales y métodos.....	11
Resultados y discusión.....	33
Líneas que combinan resistencia a gorgojos y virus.....	33
Análisis estadístico.....	40
Conclusiones.....	43
Literatura citada.....	44

Lista de tablas

Tabla 1. Genotipos de frijol utilizados como fuentes potenciales de resistencia al gorgojo <i>A. obtectus</i> y los virus BGYMV, BCMV y BCMNV.....	11
Tabla 2. Desarrollo y origen de las poblaciones evaluadas.....	12
Tabla 3. Líneas Andinas F ₄ de frijol evaluadas para su reacción a <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say en el laboratorio durante el verano de 2015.....	13
Tabla 4. Líneas Andinos F ₅ de frijol evaluadas para su reacción a <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say en el laboratorio durante el verano de 2015.....	14
Tabla 5. Líneas negras F ₅ de frijol evaluadas para su reacción a <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say en el laboratorio durante el verano de 2015.....	15
Tabla 6. Líneas negras y moradas F ₅ de frijol evaluadas para su reacción a <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say en el laboratorio durante el verano de 2015.....	16
Tabla 7. Líneas negras y morados F ₄ de frijol evaluadas para su reacción a <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say en el laboratorio durante el verano de 2015.....	17
Tabla 8. Líneas negras y morados F ₄ de frijol evaluadas para su reacción a <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say en el laboratorio durante el verano de 2015.....	18
Tabla 9. Líneas blancas F ₄ de frijol evaluadas para su reacción a <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say en el laboratorio durante el verano de 2015.....	19
Tabla 10. Líneas blancas F ₅ de frijol evaluadas para su reacción a <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say en el laboratorio durante el verano de 2015.....	21

Tabla 11. Líneas Andinos F ₄ de frijol evaluadas para su reacción a <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say en el laboratorio durante el verano de 2015.....	21
Tabla 12. Líneas blancas F ₅ de frijol evaluadas para su reacción a <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say en el laboratorio durante el verano de 2015.....	22
Tabla 13. Líneas blancas F ₄ de frijol evaluadas para su reacción a <i>Acanthoscelides obtectus</i> Say en el laboratorio durante el verano de 2015.....	22
Tabla 14. Líneas resistentes a <i>A. obtectus</i> evaluadas durante verano 2015 y otoño 2015.	33
Tabla 15. Presencia de los marcadores de resistencia a <i>A. obtectus</i> , BGYMV, BCMV, BCMNV y reacción al Virus del Mosaico Necrótico común, inoculado con la cepa Necrótica NL3.....	35
Tabla 16. Comparación de los patrones de segregación de las poblaciones para la reacción de <i>A. obtectus</i>	41

Lista de figuras

Figura 1. <i>Acanthoscelides obtectus</i> (gorgojo común del frijol).....	10
Figura 2. Daños causados por los gorgojos a la variedad de frijol “Badillo” 45 días después de la inoculación.....	27
Figura 3. Envases plásticos utilizados para la exposición de las semillas de frijol con <i>A. obtectus</i>	28
Figura 4. Presencia del marcador SR2 para resistencia al BGYMV.....	30
Figura 5. Reacción de raíz negra de algunas de las líneas a inoculación con NL3.....	38
Figura 6. Necrosis en la hoja de algunas de las líneas a inoculación con NL3..	38
Figura 7. Granos comerciales con resistencia a gorgojos.....	39

Introducción

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es considerado, uno de las leguminosas alimenticias más importantes destinada para el consumo humano (Voysest, 2000). Aproximadamente la mitad de la producción mundial proviene de América Latina, siendo éste el principal consumidor (FAO, 2014). El frijol constituye la principal fuente de proteína, para la población de escasos recursos en muchos países en desarrollo (Rosas et al., 2000).

Durante el almacenamiento, la semilla de frijol puede sufrir considerables pérdidas económicas causada por los insectos. Dichas perdidas pueden ser mayores en países en vías de desarrollo, debido a que estos países generalmente están desprovistos de recursos necesarios, que le permitan tener infraestructuras adecuadas para un buen almacenamiento (Cardona y Posso, 1987; Schoonhoven et al. 1988). En América Latina se estima que hasta 35% de la producción de frijol se pierde a causa de los gorgojos de almacén (Permuy et al., 2008). Cuando los insectos atacan el grano de frijol almacenado, el daño es irreversible (CIAT 1988).

Las especies que causan mayor daño al grano de frijol almacenado son el gorgojo común del frijol *Acanthoscelides obtectus* Say y el gorgojo mexicano del frijol *Zabrotes subfasciatus* Boheman. Ambas especies de gorgojo pertenecen al orden Coleóptera y a la familia Bruchidae. Las pérdidas causadas por estos insectos al frijol pueden ser cuantitativo (daños directos) con un gran número de semillas o porciones de ellas consumidas directamente por los insectos; o cualitativo (daños indirectos) granos contaminados por excrementos o de cuerpo de los mismos insectos (exuvia). El deterioro del grano de frijol como consecuencia del ataque de estos insectos sucede cuando sus larvas se alimentan exclusivamente de las semillas, causando daños considerables al atacar los cotiledones, dejándoles muchas perforaciones que corresponden a las cámaras de alimentación de los insectos, lo que causa disminución de peso y menor cantidad de nutrientes. Posterior al ataque de estos insectos las pérdidas pueden incrementarse, ya que el daño producido deja una vía libre que pueden aprovechar hongos y bacterias para introducirse en el grano (Schoonhoven et al. 1988; De los Mozos, 1997). Los pequeños y medianos agricultores son más susceptibles a las pérdidas poscosechas, ya que sus formas y métodos de almacenajes

tradicionales son ineficaces para la preservación de los productos agrícolas (Mateo y Decena, 2013).

El empleo constante de productos químicos para controlar los gorgojos, puede contribuir a la contaminación ambiental. Es por eso que el uso de variedades resistentes, permite disminuir de manera natural el daño producido por los gorgojos al frijol almacenado, la cual permite reducir el costo de control del insecto, proporcionando un producto de buena calidad sin la necesidad del uso de plaguicidas (Menéndez, 1977; Schoonhoven et al. 1981). Una variedad tiene resistencia cuando el daño es menor en intensidad por el ataque de un determinado insecto en comparación a otra menos resistente o susceptible (Valencia 2006).

Cardona y Kornegay (1989), indicaron que la antibiosis presente en las variedades resistentes provoca una reducción significativa en el número de gorgojos adultos y su supervivencia, por ende las colonias desaparecen al no poder desarrollarse. El uso de variedades resistentes es una estrategia muy eficaz para los pequeños agricultores, ya que típicamente carecen de recursos económicos y tecnologías modernas en el almacenamiento de granos (Espinal et al., 1993).

Investigadores del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), evaluaron especies silvestres de frijol común de origen Mexicano, donde encontraron materiales con niveles de resistencia satisfactorio a *Zabrotes subfasciatus*. Más tarde identificaron Arcelina, una proteína de la semilla que fue determinada como una fuente de resistencia en frijol al gorgojo *Z. subfasciatus*. Hasta ahora siete alelos de Arcelina, han sido caracterizado (Osborn et al., 1988; Altamirano, 1992). Cardona et al., (1990), demostraron que la selección por la presencia de Arcelina (Arl-1, 2, 4 y 5) permite el desarrollo de líneas de frijol altamente resistente a *Z. subfasciatus* y moderadamente resistente a *A. obtectus*. La actividad insecticida de la Arcelina, sin embargo, no es altamente efectiva contra *A. obtectus* (Cardona y Kornegay, 1989). Mbogo et al., (2009), identificaron tres marcadores moleculares de genes ligados de Arcelina, Fitohemaglutinina y Alfa-amilasa de la línea de germoplasma G 40199 de frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray), dichos marcadores fueron asociados con la resistencia al gorgojo común.

En el Caribe la producción de frijol es afectada por diferentes virus, entre los cuales están: el Virus del Mosaico Dorado Amarillo (BGYMV), el Virus del Mosaico Común (BCMV) y el Virus del Mosaico Común Necrótico (BCMNV). Se identificaron cuatro marcadores moleculares para realizar selección indirecta a estos virus. El marcador SCAR (Sequenced Characterized Amplified Region) SR-2 es efectivo para seleccionar el gen *bgm-1* de resistencia al BGYMV. El marcador SW12 indica la presencia del QTL mayor, que se expresa como una reducción de los síntomas del BGYMV aumentando la eficiencia del gen *bgm-1*. El SCAR SW13 permite la identificación de plantas que poseen el gen *I* para resistencia al BCMV y el marcador molecular ENM del tipo CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) para el candidato *eIF4e*, para el gen *bc-3*, de resistencia al BCMNV (Singh et al., 2000; Naderpour et al., 2010).

Este trabajo pretende seleccionar líneas de frijol que combinan resistencia al gorgojo común del frijol con resistencia a las enfermedades virales de importancia económica de este cultivo. En adición de desarrollar líneas con mayores niveles de resistencia, se pretende obtener una mejor idea del patrón de segregación para resistencia a los gorgojos y evaluar la efectividad de marcadores moleculares actualmente disponibles para seleccionar resistencia a los gorgojos.

Objetivos

1. Desarrollar líneas de frijol que combinan resistencia a los gorgojos y los virus BGYMV, BCMNV y BCMV.
2. Evaluar la estabilidad de resistencia a los gorgojos en líneas que representan los dos acervos genéticos del frijol.
3. Evaluar la efectividad de los marcadores moleculares para identificar líneas con resistencia a los gorgojos.

Revisión de literatura

Generalidades del frijol común Phaseolus vulgaris L.

Phaseolus vulgaris es una especie anual, perteneciente a la familia Fabácea, subfamilia Papilionoideae, tribu Phaseoleae, subtribu Phaseolinae, género *Phaseolus*. El género *Phaseolus* contiene alrededor de unas 50 especies de crecimiento salvaje y cinco especies domesticadas, como el frijol común (*P. vulgaris* L), habas (*P. lunatus* L), la judía (*P. coccineus* L), frijol tépari (*P. acutifolius* A.Gray) y el frijol al año (*P. polyanthus* Greenman). Todas las especies del género son diploides y las mayorías tienen 22 cromosomas ($2n = 2x = 22$) (Gepts, 2001).

El frijol es originario del Nuevo Mundo. Hallazgos arqueológicos indican que ésta leguminosa de grano fue domesticada hace aproximadamente 8000-10000 años. Se denominaron dos grandes acervos genéticos: Mesoamericano (frijoles mayormente con semillas pequeñas, o sea < 25 g/ 100 semillas) y Andino (frijoles mayormente con semillas grandes, o sea > 40 g/ 100 semillas), diferenciados por variaciones en la proteína faseolina, en características morfológicas y moleculares (Gepts y Debouck, 1991; Rosas, 2003).

Generalidades de Acanthoscelides obtectus Say (Coleóptera: Bruchidae).

A. obtectus, comúnmente conocido como el gorgojo común del frijol, es la plaga más importante del frijol almacenado en las regiones altas a partir de 800 m.s.n.m. Es originario de Sudamérica, probablemente de Perú (Barriga, 1990). Artigas (1994), señala que la distribución de este insecto es cosmopolita, ya que se encuentra en todas las regiones donde se cultiva plantas del género *Phaseolus* (Schoonhoven, 1976). El adulto es de color pardo, con pequeñas bandas transversales en los élitros, tinte bronceado. Mide 3.5 a 4.5 mm de longitud. Tiene la cabeza pequeña, con ojos grandes y salientes, antenas largas y aserradas. Cuerpo ovoide grueso y cubierto de pelos, más ancho en la parte posterior. Los élitros son cortos y no cubren completamente la parte posterior del abdomen. El gorgojo común es capaz de volar. Tiene un fémur posterior engrosado con un diente grande y varios dientes pequeños acompañantes. Las hembras son más grandes que los machos (Dell'orto y Arias, 1983; Dell'orto y Arias 1985). Los huevos son muy pequeños, miden 0.7 mm de largo por 0.3 mm de ancho, son de forma cilíndrica a ovalado, transparentes cuando recién puesto,

pero a medida que avanza la incubación se tornan de color lechoso. La oviposición es aislada o en grupos, pero no compactos. Las larvas recién nacidas son de color blanco y miden 0.5 mm de largo por 0.2 mm de ancho, son de tipo vermiforme, ápoda (Capdeville, 1945). Las larvas recién eclosadas permanecen activa entre dos a cuatro días en busca del grano para luego penetrarlo, realizando una perforación de 0.23 mm, la cual es prácticamente imposible de observar a simple vista y a través de ella pueden penetrar una o varias larvas. Las pupas tienen 4 mm de largo y 2 mm de ancho, de color café grisáceo, son de tipo exarata, con cabeza, patas y élitros libres (Artiga, 1994; Vélez, 1997).

Dell'orto y Arias (1985), menciona que esta especie limita su ataque a frijoles, no se alimenta de cereales u otros productos. En el campo, la hembra ovipone los huevos dentro de las vainas con granos fisiológicamente maduros. Durante el almacenamiento los coloca libremente entre los granos. Por el contrario *Z. subfasciatus* adhiere firmemente los huevos en la testa del grano y ataca únicamente semilla almacenada, lo cual lo diferencia del gorgojo común del frijol *A. obtectus* (Bousquet, 1990; Landaverde, 2003). De los huevos emergen las pequeñas larvas, que posteriormente penetran el grano, alimentándose del endospermo que contienen los cotiledones. Cuando la larva completa su desarrollo, forma una cámara pupal con salida al exterior, cuya cutícula se rompe una vez que ha emergido el adulto. Si la infestación ocurre en el campo, el adulto es capaz de perforar las vainas para emerger (Schmale et al., 2002). Según Edje (1984), *A. obtectus* puede destruir toda una cosecha de frijoles en un periodo de dos a tres meses (Parsons y Credland, 2003).

Según Capdeville (1945), el ciclo biológico de *A. obtectus* se completa en cinco o seis semanas aproximadamente, alargándose si la temperatura desciende. Durán (1952), menciona que la temperatura óptima para su desarrollo es 30°C y humedad relativa óptima de 70%. Los adultos son de vida corta; de 10 a 12 días y no se alimentan de granos almacenados. La hembra ovipone un promedio de 63 huevos. (Dell'orto y Arias, 1985).

Métodos de control

Existen varios métodos para controlar *A. obtectus*, en almacenamiento. A nivel de los pequeños agricultores se ha utilizado tradicionalmente materiales como cal y ceniza. Esto genera un efecto mecánico, ya que llena los espacios libres entre los granos lo cual dificulta

la entrada y movimiento de los insectos. La ceniza controla a los insectos ejerciendo un daño físico, debido a que raspa la capa de cera que forma parte de la epicutícula del insecto. Por lo tanto, el gorgojo pierde humedad, causándole la muerte por deshidratación (Schoonhoven, et al., 1988). Golob et al. (1982) indicaron que la ceniza reduce el desarrollo y a la vez repele a los insectos, pero que no ejerce un control directo sobre éstos (Cisneros, 1993).

Los insecticidas sintéticos y fumigantes han sido utilizados por muchos años para combatir plagas de productos y subproductos almacenados (Schoonhoven et al., 1981). Sin embargo, la utilización de productos químicos, puede crear condiciones como el desarrollo de resistencia de insectos a éstos, la destrucción de los insectos benéficos, la contaminación ambiental, el peligro de manejar compuestos tóxicos y la utilización de sustancias químicas en un producto próximo a ser consumido representa un riesgo muy alto. Es por eso que la resistencia varietal se presenta como un método eficaz y seguro de control (Schoonhoven y Cardona, 1982; Dent, 2000).

Control genético

Desde hace varios años, existe la preocupación por tratar de mitigar las pérdidas que causan los gorgojos al frijol. La resistencia genética, es el mejor método de control de plagas que afectan a los cultivos. Ya que es una forma de control natural, debido a la antibiosis (efecto deletéreo), presente en las plantas resistentes, afectando la biología y supervivencia de los insectos (Cardona et al., 1990; Cardona, 1997). Esta forma de represión de las poblaciones de plagas agrícolas es sencilla, no contamina el medio ambiente y es económicamente asequible para los agricultores, que generalmente están desprovistos de recursos necesarios.

En esfuerzo para encontrar una fuente de resistencia a los gorgojos, investigadores del CIAT, evaluaron más de 8,000 líneas de frijol, sin que se encontraran niveles satisfactorios de resistencia (Cardona y Posso, 1987). Luego encontraron semilla de germoplasma de frijol silvestres de origen mexicano con resistencia a los gorgojos. La proteína arcelina, que pertenece a la familia de lectina fue determinada como la causante de la resistencia (Altamirano, 1992). Shade et al. (1987) indicaron que la resistencia a *A. obtectus* es más alta en *P. acutifolius* que en *P. vulgaris*.

Estudios posteriores demostraron que las líneas de frijol tépari, como G40199, confieren alto niveles de resistencia a los gorgojos. Por ende, esta línea podría usarse como una fuente de resistencia al gorgojo (Pratt et al., 1984; 1990; Myers, 2001). El mecanismo de resistencia a *A. obtectus*, encontrado en G40199, está asociado a la presencia de tres genes ligados: Arcelina, Fitohemaglutinina y Alfa-amilasa (el locus complejo APA). Estas proteínas ejercen un efecto antibiosis, afectando el aparato digestivo del insecto, por tal razón se reduce el desarrollo de las larvas y la fertilidad de los adultos (Osborn et al., 1988; Hartweck et al., 1997). Mbogo et al. (2009) realizaron cruces interespecíficos entre *P. vulgaris* y *P. acutifolius*, con el propósito de transferirle la resistencia al frijol común. Luego de la introducción del locus APA al híbrido interespecífico, éste no mostro el mismo nivel de resistencia como el G40199, pero el nivel de resistencia del híbrido interespecífico fue significativamente alto en comparación con los padres susceptibles. Los investigadores concluyeron que el locus APA no es el único factor asociado a altos niveles de resistencia. Sin embargo, los genes del locus APA, se mantuvieron estables después de varias generaciones de autofecundación a una línea interespecífica (Kusolwa y Myers, 2010; 2011). Mbogo et al. (2009) identificaron tres marcadores moleculares para Arcelina, Fitohemaglutinina y Alfa-amilasa que fueron asociados con la resistencia al gorgojo. Singh y Muñoz (1999), comentaron que encontraron problemas en la estabilidad a resistencia a bacteriosis común derivada de un cruzamiento interespecífico, ya que después de una docena de generaciones de autofecundación las líneas continuaban segregando.

Generalidades de los virus BGYMV, BCMV y BCMNV

El virus del Mosaico Dorado Amarillo del Frijol (BGYMV), fue catalogado como una de las enfermedades más severas del frijol en Centroamérica y el Caribe en las últimas décadas (Rosas, 1988). Esta enfermedad puede causar pérdidas hasta un 80% de la producción de frijol (SAG, 1988; Morales, 1999). Este virus es clasificado como una especie del género *Begomovirus*. Este virus es transmitido por la mosca blanca (*Bemisia tabaci* Gennadius) y mecánicamente. Sin embargo, esta enfermedad no es transmisible por medio de la semilla, por lo que esta característica es limitante para su distribución geográfica (Morales, 2000). Los síntomas característicos de esta enfermedad son plantas cloróticas, mostrando una coloración intensa amarillo brillante a dorada, con una coloración blanca en las venas.

Adicionalmente las hojas pueden enrollarse hacia la parte inferior y puede haber deformaciones de las vainas en las etapas reproductivas. En los últimos años, se han liberado varias variedades de frijol con altos niveles de resistencia al BGYMV, cuando combinan el gen *bgm* con el marcador SW12 y el gen que confiere resistencia a la deformación de las vainas *Bgp* (Rosas, 1988; IICA, 2008).

La resistencia a la clorosis del frijol al BGYMV, es conferida por el gen recesivo *bgm-1*. “Garrapato” una línea de frijol criollo de México, fue una de las mejores fuentes de resistencia al Virus del Mosaico Dorado Amarillo del Frijol (Morales, 2000). Urrea et al. (1996) identificaron un marcador RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) co-dominante para el gen *bgm-1*. Posteriormente este marcador RAPD fue convertido al marcador SCAR SR-2, por el CIAT (Beebe et al., 1999). El marcador SW12 indica la presencia del QTL mayor (resistencia cuantitativa), que se expresa como una reducción de los síntomas del BGYMV aumentando la eficiencia del gen *bgm-1* (Singh et al., 2000). Osorno et al. (2003) encontraron dos genes de *Phaseolus coccineus* L. que confieren resistencia al BGYMV, un gen recesivo (*bgm-3*) proporciona resistencia a la clorosis en las hojas y un gen dominante (*Bgp-2*) confiere resistencia a la deformación de la vaina.

Los potivirus Virus del Mosaico Común (BCMV) y el Virus del Mosaico Común Necrótico (BCMNV) son enfermedades transmitidas por áfidos (*Aphis fabae* Scopolis). Además, BCMV y BCMNV pueden propagarse a través de la semilla. Estos virus pueden provocar pérdidas hasta un 80% en el rendimiento del frijol. Los síntomas característicos de estas enfermedades en plantas de frijol son clorosis, presencia de áreas de color verde oscuro, deformaciones en las hojas en el caso de BCMV y lesiones necróticas tanto en las hojas como en el tallo conocido como raíz negra en el caso de BCMNV (Drijfhout, 1978).

La resistencia al BCMV, es conferida por el gen *I*. El marcador molecular SCAR SW13 permite la identificación de plantas resistente al BCMV, portadoras del gen dominante *I*. La combinación de los genes recesivos *bc-u* y *bc-3* con el gen *I* confiere resistencia a todas las cepas conocidas de BCMNV. El marcador molecular ENM del tipo CAPS, está ligado al gen *bc-3* (Melotto et al., 1996; Naderpour et al., 2010).

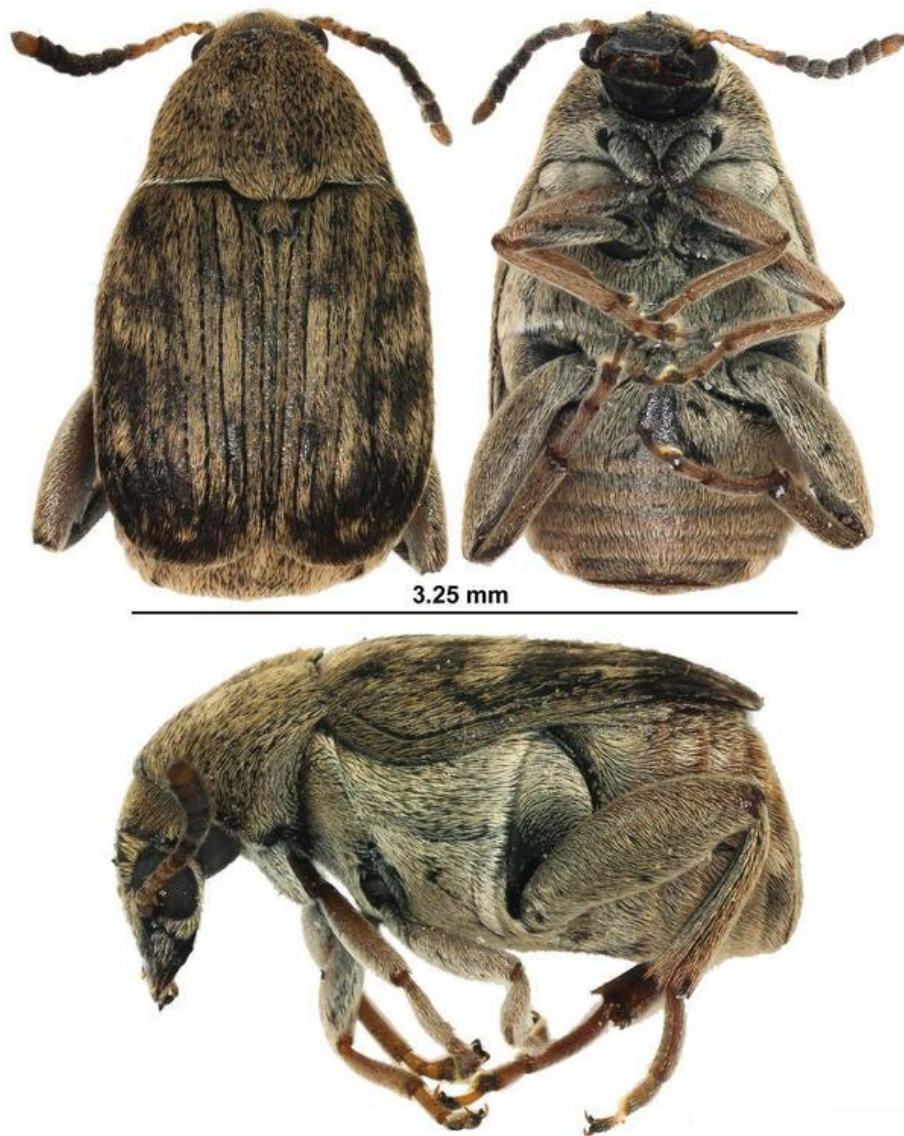


Figura 1. *Acanthoscelides obtectus* (gorgojo común del frijol)

Fuente de la foto: www.ipmimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5502842

Materiales y Métodos

Las evaluaciones con los gorgojos y los ensayos de campo se realizaron en la Subestación de Isabela de la Universidad de Puerto Rico, ubicado en el municipio de Isabela, el cual está localizado en la zona Noroeste de Puerto Rico. Su coordenadas geográficas son: Latitud N 18°27'732", Longitud W 067°03'355", ubicada a 128 metros sobre el nivel del mar (msnm). La temperatura mínima/máxima promedio anual es de 22.2/ 27.8°C, con una precipitación anual promedio de 1630 milímetros. La investigación con los marcadores moleculares se llevó a cabo en el laboratorio del programa investigación de frijol del USDA-ARS-TARS, en Mayagüez, Puerto Rico.

Los cruzamientos se realizaron en los invernaderos del Recinto Universitario de Mayagüez (RUM). Se realizaron cruces entre fuentes de resistencia a los gorgojos y líneas con grano comercial y otras características de valor económico tales como resistencia a las enfermedades o tolerancia al estrés abiótico (Tabla 1).

Tabla 1. Genotipos de frijol utilizados como fuentes de resistencia al gorgojo *A. obtectus* y los virus BGYMV, BCMV y BCMNV.

Genotipos	Tipo de grano	Origen	Características
AO-1012-29-3	Rojo arriñonado	Oregón	<i>bc1</i> ² , Resistencia al gorgojo
PR0637-134	Rojo moteado	UPR	<i>bgm</i> , <i>I</i> , <i>bc3</i>
PR0737-1	Rojo moteado	UPR	<i>bgm</i> , <i>bc3</i>
USCR-7	Crema rayado	USDA-ARS-Prosser	<i>bc3</i>
USLK-1	Rosado arriñonado	USDA-ARS-Prosser	<i>I</i> , <i>bc3</i>
PR1246-7-1	Negro pequeño	UPR	<i>bgm</i> , <i>SW12</i> , <i>I</i> , <i>bc3</i> , Resistencia al gorgojo
Centa Pipil	Rojo pequeño	Zamorano	<i>bgm</i> , <i>I</i>
Beniquez	Blanco	UPR	<i>bgm</i> , <i>I</i> , <i>bc3</i>
PR1217-16	Blanco	UPR	<i>bgm</i> , <i>SW12</i> , <i>I</i> , <i>bc3</i>
PR1217-17	Blanco	UPR	<i>bgm</i> , <i>SW12</i> , <i>I</i> , <i>bc3</i>
PR0806-80A	Blanco	UPR	<i>bgm</i> , <i>I</i> , <i>bc3</i> , <i>Ur4</i> , <i>Ur5</i> , <i>Ur11</i>
PR1246-10-1	Blanco	UPR	<i>bgm</i> , <i>SW12</i> , <i>I</i> , <i>bc3</i> , Resistencia al gorgojo
XRAV-40-4	Negro pequeño	UPR, Rep. Dom.	<i>bgm</i> , <i>I</i> , <i>bc3</i>
AO-1012-29-3A	Rojo arriñonado	UPR	<i>I</i> , <i>bc1</i> ² , Resistencia al gorgojo
PR9920-171	Rosado rayado	Puerto Rico	Alta temperatura, Rendimiento

PR1146-53	Amarillo	UPR	<i>bgm, I</i>
Beluga	Blanco arriñonado	Michigan	<i>I, Co-1</i>

Desarrollo de las poblaciones evaluadas

Se utilizó selección pedigrí, para el desarrollo de las líneas, donde el grano comercial y buenas características agronómicas fueron los criterios de selección. Las siguientes generaciones se sembraron en el campo, en la Subestación de Isabela. Se seleccionaron plantas individuales hasta la generación F₄ (Tabla 2).

Tabla 2. Desarrollo y origen de las poblaciones evaluadas

Poblaciones	Bloque de cruzamiento	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄
1511	enero 2012	octubre 2012	enero 2013	junio 2013	
1560	enero 2012	octubre 2012	enero 2013	junio 2013	octubre 2014
1526	enero 2013	junio 2013	enero 2014	junio 2014	
1567	enero 2013	junio 2013	enero 2014	junio 2014	enero 2015
1527	enero 2013	junio 2013	enero 2014	junio 2014	
1568	enero 2013	junio 2013	enero 2014	junio 2014	enero 2015
1569	enero 2013	junio 2013	enero 2014	junio 2014	enero 2015
1528	enero 2013	junio 2013	enero 2014	junio 2014	
1570	enero 2013	junio 2013	enero 2014	junio 2014	enero 2015
1577	octubre 2013	enero 2014	junio 2014	octubre 2014	
1557	octubre 2013	enero 2014	junio 2014	octubre 2014	

En la fase inicial de la investigación se evaluaron las reacciones al gorgojo común de líneas del programa de mejoramiento de frijol de la Universidad de Puerto Rico que representan ambos acervos genéticos de frijol (Tabla 3 hasta Tabla 13). Después, las líneas con resistencia al gorgojo fueron evaluadas para la presencia de marcadores moleculares ligados con los genes de resistencia a BGYMV, BCMNV y BCMV. Las líneas que mostraron resistencia en las evaluaciones realizadas durante el verano de 2015 fueron reevaluadas para reacción a gorgojos en el laboratorio durante el otoño de 2015.

Tabla 3. Líneas Andinas F₄ de frijol evaluadas para su reacción a *Acanthoscelides obtectus* Say en el laboratorio durante el verano de 2015.

Líneas	Generación	Tipo de grano	Pedigrí
1511-1-1	F4	Crema moteado	AO1012-29-3 / PR0634-134
1511-1-2	F4	Crema arriñonada	AO1012-29-3 / PR0634-134
1511-1-3	F4	Crema rayada	AO1012-29-3 / PR0634-134
1511-2-1	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0634-134
1511-2-2	F4	Rosado mediano	AO1012-29-3 / PR0634-134
1511-2-3	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0634-134
1511-2-4	F4	Rosado mediano	AO1012-29-3 / PR0634-134
1511-2-5	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0634-134
1511-2-6	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0634-134
1511-6-4	F4	Morado mediano	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-6-5	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-7-2	F4	Morado mediano	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-7-5	F4	Rojo arriñonado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-9-2	F4	Rojo arriñonado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-9-8	F4	Rojo arriñonado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-10-2	F4	Crema arriñonado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-11-3	F4	Rojo arriñonado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-12-1	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-12-2	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-12-4	F4	Morado mediano	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-12-6	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-13-2	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-14-1	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-14-2	F4	Rojo arriñonado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-15-1	F4	Rosado arriñonado	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-16-4	F4	Rojo rayado	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-16-7	F4	Rojo rayado	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-17-1	F4	Crema moteado	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-17-2	F4	Crema rayada	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-17-3	F4	Crema rayada	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-18-2	F4	Rosado arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-18-3	F4	Rosado arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-18-4	F4	Rojo arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-18-5	F4	Rosado arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-19-1	F4	Rosado arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-19-2	F4	Rosado arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-20-1	F4	Rosado arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-20-2	F4	Rojo arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-20-3	F4	Rosado arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-20-4	F4	Rosado arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3

1511-21-1	F4	Rojo arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-21-2	F4	Rosado arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-21-3	F4	Rosado arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-21-5	F4	Rosado arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-22-1	F4	Rojo arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-22-3	F4	Rojo arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-22-4	F4	Rojo arriñonado	USLK-1 / AO1012-29-3
1511-23-2	F4	Rojo rayado	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-23-3	F4	Rojo rayado	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-23-4	F4	Rojo rayado	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-23-5	F4	Rojo rayado	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-23-6	F4	Rosado rayado	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-24-2	F4	Rojo arriñonado	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-24-3	F4	Rojo arriñonado	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-24-5	F4	Rojo arriñonado	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-25-2	F4	Rojo rayado	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-26-1	F4	Rojo moteado	USCR-7 / AO1012-29-3
1511-26-6	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-25-1	F4	Rojo rayado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-27-1	F4	Rojo rayado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-27-2	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-27-4	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-27-5	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-27-6	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-27-7	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-28-1	F4	Rosado mediano	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-28-3	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3 / PR0737-1
1511-28-4	F4	Rosado mediano	AO1012-29-3 / PR0737-1

Tabla 4. Líneas Andinos F₅ de frijol evaluadas para su reacción a *Acanthoscelides obtectus* Say en el laboratorio durante el verano de 2015.

Líneas	Generación	Tipo de grano	Pedigrí
1560-13-1	F5	Rojo moteado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-13-2	F5	Rojo moteado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-13-4	F5	Rojo moteado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-13-3	F5	Crema moteado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-13-5	F5	Rosado mediano	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-13-6	F5	Rosado mediano	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-13-7	F5	Rosado mediano	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-14-1	F5	Rojo arriñonado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-14-2	F5	Rojo arriñonado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-14-3	F5	Rojo arriñonado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-14-4	F5	Rojo arriñonado	AO1012-29-3/ PR0737-1

1560-14-5	F5	Rojo arriñonado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-14-6	F5	Rojo arriñonado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-14-7	F5	Rojo arriñonado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-14-8	F5	Rojo arriñonado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-16-1	F5	Crema moteado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-16-2	F5	Crema moteado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-16-3	F5	Crema moteado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-16-4	F5	Crema moteado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-16-5	F5	Crema moteado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-16-6	F5	Crema moteado	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-16-7	F5	Morado mediano	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-20-1	F5	Morado mediano	AO1012-29-3/ PR0737-1
1560-20-2	F5	Morado mediano	USCR-7/ AO1012-29-3
1560-20-3	F5	Morado mediano	USCR-7/ AO1012-29-3
1560-21-1	F5	Rojo moteado	USCR-7/ AO1012-29-3
1560-21-2	F5	Rojo moteado	USCR-7/ AO1012-29-3
1560-21-3	F5	Rojo moteado	USCR-7/ AO1012-29-3
1560-22-1	F5	Rojo arriñonado	USCR-7/ AO1012-29-3
1560-22-2	F5	Rojo arriñonado	USCR-7/ AO1012-29-3
1560-22-3	F5	Rojo arriñonado	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1560-22-4	F5	Rojo arriñonado	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1560-22-5	F5	Rojo arriñonado	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1560-22-6	F5	Rojo arriñonado	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1560-22-7	F5	Rojo arriñonado	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1560-23-1	F5	Rojo arriñonado	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1560-23-2	F5	Rojo arriñonado	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1560-23-3	F5	Rojo arriñonado	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1560-23-4	F5	Rojo arriñonado	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1560-23-5	F5	Rojo arriñonado	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1560-23-6	F5	Rojo arriñonado	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez

Tabla 5. Líneas negras F₅ de frijol evaluadas para su reacción a *Acanthoscelides obtectus* Say en el laboratorio durante el verano de 2015.

Líneas	Generación	Tipo de grano	Pedigrí
1567-9-1	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1567-9-2	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1567-9-3	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1567-9-4	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1567-9-5	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1567-9-6	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1567-9-7	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1567-9-8	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1567-9-9	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez

1567-9-10	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1567-10-1	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1567-10-2	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1567-10-3	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1567-10-4	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1567-10-5	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1567-10-6	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez
1567-10-7	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1567-10-8	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1567-10-9	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1567-10-10	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1567-16-1	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1567-16-2	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1567-16-3	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1567-16-4	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1567-16-5	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1567-16-6	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1567-16-7	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1567-16-8	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1567-16-9	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1567-16-10	F5	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16

Tabla 6. Líneas negras y moradas F₅ de frijol evaluadas para su reacción a *Acanthoscelides obtectus* Say en el laboratorio durante el verano de 2015.

Líneas	Generación	Tipo de grano	Pedigrí
1568-8-1	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-8-2	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-8-3	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-8-4	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-8-5	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-8-6	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-8-7	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-8-8	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-8-9	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-8-10	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-10-1	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-10-2	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-10-3	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-10-4	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-10-5	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-10-6	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-10-7	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-10-8	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16

1568-10-9	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-10-10	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-14-1	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-14-2	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-14-3	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-14-4	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-14-5	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-14-6	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-14-7	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-14-8	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16
1568-14-9	F5	Morado pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16

Tabla 7. Líneas negras y morados F₄ de frijol evaluadas para su reacción a *Acanthoscelides obtectus* Say en el laboratorio durante el verano de 2015.

Líneas	Generación	Tipo de grano	Pedigrí
1526-1-1	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil / Beniquez
1526-1-2	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil / Beniquez
1526-1-4	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil / Beniquez
1526-1-5	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil / Beniquez
1526-2-1	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil / Beniquez
1526-2-3	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil / Beniquez
1526-2-4	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil / Beniquez
1526-2-5	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil / Beniquez
1526-3-1	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil / Beniquez
1526-3-2	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil / Beniquez
1526-3-3	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil / Beniquez
1526-3-4	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil / Beniquez
1526-3-5	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil / Beniquez
1526-4-1	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-4-2	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-4-3	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-4-5	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-5-1	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-5-2	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-5-3	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-6-1	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-6-2	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-6-3	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-6-4	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-7-1	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-7-3	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-7-4	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-10-1	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16

1526-10-2	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-10-3	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-10-4	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-11-1	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-11-2	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-11-3	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-11-4	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-15-1	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-15-2	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-15-3	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-15-4	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-15-5	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-16-1	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-16-2	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-16-3	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-17-1	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-17-2	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-17-3	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-17-4	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-18-1	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-18-2	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-18-3	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-18-4	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-22-1	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-22-3	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-23-2	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1526-23-3	F4	Negro pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16

Tabla 8. Líneas negras y morados F₄ de frijol evaluadas para su reacción a *Acanthoscelides obtectus* Say en el laboratorio durante el verano de 2015.

Líneas	Generación	Tipo de grano	Pedigrí
1527-3-1	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-3-2	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-3-3	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-3-4	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-3-5	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-3-6	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-3-7	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-3-8	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-4-1	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-4-2	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-4-3	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-5-1	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-5-2	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16

1527-5-3	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-5-4	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-5-5	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-5-6	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-12-1	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-12-3	F4	Morado pequeño	PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16
1527-14-1	F4	Rojo pequeño	PR1276-7-1 /CENTA Pipil // Benítez
1527-14-2	F4	Rojo pequeño	PR1276-7-1 /CENTA Pipil // Benítez
1527-14-3	F4	Rojo pequeño	PR1276-7-1 /CENTA Pipil // Benítez
1527-14-4	F4	Rojo pequeño	PR1276-7-1 /CENTA Pipil // Benítez
1527-15-1	F4	Rojo pequeño	PR1276-7-1 /CENTA Pipil // Benítez
1527-15-2	F4	Rojo pequeño	PR1276-7-1 /CENTA Pipil // Benítez
1527-15-3	F4	Rojo pequeño	PR1276-7-1 /CENTA Pipil // Benítez
1527-15-4	F4	Rojo pequeño	PR1276-7-1 /CENTA Pipil // Benítez
1527-16-1	F4	Rojo pequeño	PR1276-7-1 /CENTA Pipil // Benítez
1527-16-2	F4	Rojo pequeño	PR1276-7-1 /CENTA Pipil // Benítez
1527-16-3	F4	Rojo pequeño	PR1276-7-1 /CENTA Pipil // Benítez

Tabla 9. Líneas blancas F₄ de frijol evaluadas para su reacción a *Acanthoscelides obtectus* Say en el laboratorio durante el verano de 2015.

Líneas	Generación	Tipo de grano	Pedigrí
1528-3-1	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// Benítez
1528-3-2	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// Benítez
1528-3-3	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// Benítez
1528-3-4	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// Benítez
1528-5-1	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// Benítez
1528-5-2	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// Benítez
1528-6-1	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// Benítez
1528-6-2	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// Benítez
1528-7-1	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// PR1217-16
1528-7-2	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// PR1217-16
1528-7-3	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// PR1217-16
1528-7-6	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// PR1217-17
1528-7-7	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// PR1217-17
1528-7-8	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// PR1217-17
1528-8-2	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// PR1217-17
1528-8-3	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// PR1217-17
1528-9-1	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// PR1217-17
1528-9-2	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// PR1217-17
1528-9-3	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// PR1217-17
1528-12-1	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// PR1217-17
1528-12-2	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// PR1217-17
1528-13-1	F4	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil// PR1217-17

Tabla 10. Líneas blancas F₅ de frijol evaluadas para su reacción a *Acanthoscelides obtectus* Say en el laboratorio durante el verano de 2015.

Líneas	Generación	Tipo de grano	Pedigrí
1569-68-1	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-17
1569-68-2	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-17
1569-68-3	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-17
1569-68-4	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-17
1569-68-5	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-17
1569-68-6	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-17
1569-68-7	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-17
1569-68-8	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-17
1569-68-9	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-17
1569-68-10	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-17

Tabla 11. Líneas Andinos F₄ de frijol evaluadas para su reacción a *Acanthoscelides obtectus* Say en el laboratorio durante el verano de 2015.

Líneas	Generación	Tipo de grano	Pedigrí
1557-18-2	F4	Amarillo mediano	Beluga/ AO1012-29-3-3A
1557-12-3	F4	Amarillo mediano	Beluga/ AO1012-29-3-3A
1557-8-1	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3/PR1146-53
1557-12-4	F4	Amarillo mediano	Beluga/ AO1012-29-3-3A
1557-15-2	F4	Amarillo mediano	Beluga/ AO1012-29-3-3A
1557-16-3	F4	Rojo arriñonado	Beluga/ AO1012-29-3-3A
1557-6-3	F4	Rojo arriñonado	AO1012-29-3/PR1146-53
1557-18-1	F4	Rojo arriñonado	Beluga/ AO1012-29-3-3A
1557-13-3	F4	Rojo arriñonado	Beluga/ AO1012-29-3-3A
1557-5-3	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3/PR9920-171
1557-5-2	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3/PR9920-171
1557-5-1	F4	Rojo arriñonado	AO1012-29-3/PR9920-171
1557-10-1	F4	Rojo arriñonado	AO1012-29-3/PR1146-53
1557-17-2	F4	Rojo arriñonado	Beluga/ AO1012-29-3-3A
1557-17-3	F4	Rojo arriñonado	Beluga/ AO1012-29-3-3A
1557-4-1	F4	Rojo arriñonado	AO1012-29-3/PR9920-171
1557-13-1	F4	Rojo arriñonado	Beluga/ AO1012-29-3-3A
1557-17-1	F4	Rojo arriñonado	Beluga/ AO1012-29-3-3A
1557-13-2	F4	Rojo arriñonado	Beluga/ AO1012-29-3-3A
1557-7-2	F4	Rojo arriñonado	AO1012-29-3/PR1146-53
1557-18-3	F4	Blanco arriñonado	Beluga/ AO1012-29-3-3A
1557-12-1	F4	Blanco arriñonado	Beluga/ AO1012-29-3-3A
1557-12-2	F4	Blanco arriñonado	Beluga/ AO1012-29-3-3A
1557-18-4	F4	Blanco arriñonado	Beluga/ AO1012-29-3-3A

1557-9-3	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3/PR1146-53
----------	----	------------------	-----------------------

Tabla 12. Líneas blancas F₅ de frijol evaluadas para su reacción a *Acanthoscelides obtectus* Say en el laboratorio durante el verano de 2015.

Líneas	Generación	Tipo de grano	Pedigrí
1570-47-1	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-47-2	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-47-3	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-47-4	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-47-5	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-48-1	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-48-2	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-48-3	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-48-4	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-48-5	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-48-6	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-48-7	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-48-8	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-48-9	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-48-10	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-50-1	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-50-3	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-50-4	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-50-5	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-50-6	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-50-7	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-50-8	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-50-9	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17
1570-50-10	F5	Blanco pequeño	PR1246-7-1/CENTA Pipil//PR1217-17

Tabla 13. Líneas blancas F₄ de frijol evaluadas para su reacción a *Acanthoscelides obtectus* Say en el laboratorio durante el verano de 2015.

Líneas	Generación	Tipo de grano	Pedigrí
1577-394	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3-3A/PR0633-8
1577-395	F4	Rojo moteado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR0633-8
1577-404	F4	Rojo moteado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR0633-8
1577-415	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-416	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-420	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171

1577-425A	F4	Rojo arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-425B	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-429	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-421	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-427	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-428	F4	Rojo moteado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-444A	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-444B	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-445	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-446	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-447	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-448	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-492	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-504	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-509	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-515	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-517	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-519	F4	Rojo arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-520	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-521	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-522	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-523	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-533	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-535	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-536A	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-536B	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-538A	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-538B	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-542	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-543A	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-543B	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-544	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-545	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-546	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-547A	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-547B	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53

1577-548A	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-548B	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-549A	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-549B	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-552	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-564	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-575	F4	Blanco mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-579	F4	Amarillo mediano	AO1012-29-3-3A/PR1146-53
1577-618	F4	Blanco mediano	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-621A	F4	Blanco mediano	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-628	F4	Blanco mediano	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-633	F4	Blanco mediano	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-635	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-639	F4	Blanco mediano	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-652	F4	Blanco mediano	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-653A	F4	Blanco mediano	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-621B	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-625	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-626	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-623	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-629	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-630	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-636	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-640	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-641	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-642	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-645	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-646	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-648	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-650	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-653B	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-655	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-658	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-661	F4	Rosado arriñonado	Beluga/AO1012-29-3-3A
1577-473	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-477	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-465	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-479A	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-479B	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-463	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-454	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-411	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171

1577-413	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-467A	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-467B	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-455	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-469B	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-469A	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-484	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-464	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-475	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-483B	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-483A	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-460A	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-460B	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-476	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-461	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-452	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-486	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-451	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-453	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-439	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-418	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-433	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-437	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-458	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-468	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-435	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-466B	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-466A	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-430	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-466	F4	Rojo rayado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171

		arriñonado	
1577-434B	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-434A	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-432B	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-432A	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-440	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-480	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-443	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-508B	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-508A	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-499	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-503	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-513	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-506B	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-495	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-506A	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-493	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-487	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-511	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-494	F4	Rosado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171
1577-507	F4	Rojo rayado arriñonado	AO1012-29-3-3A/PR9920-171

Evaluación de las líneas a los gorgojos

Las líneas F₃ y F₄ de las poblaciones se sembraron en la Subestación de Isabela en febrero de 2015 para incrementar la semilla para las evaluaciones a la reacción a gorgojos durante el verano de ese mismo año. Luego en septiembre de 2015, se evaluaron las líneas que mostraron resistencia a los gorgojos (o sea, líneas que no mostraron ningún tipo o poco daño 60 días después de la infestación), para confirmar su resistencia. La escala de evaluación usada fue: 1= 0 semillas de 10 semillas evaluadas dañadas, 2= 1 semilla de 10 dañadas, 3= 2 semillas de 10 dañadas, 4= 3 semillas de 10 dañadas, 5= 4 o más semillas de 10 dañadas.

Se evaluaron las líneas individuales para la resistencia al gorgojo, colocando en un envase plástico 10 semillas de frijol, a las cuales se agregaron 10 gorgojos adultos de *A. obtectus*. La probabilidad de que una muestra aleatoria de 10 gorgojos adultos sean todos machos o hembras es baja ($P= 0.00098$). Los adultos fueron retirados de las semillas a los 30 días, luego se procedió a contar el número total de perforaciones causadas por los gorgojos a la semilla de frijol en cada envase, a los 30, 45 y 60 días después de la inoculación. Las variedades de frijol “Verano” y “Badillo” fueron utilizadas como testigos susceptibles al ataque del gorgojo (Figura 2). Para poder manipular los gorgojos adultos se expusieron al frío colocándolos en la nevera a -20°C durante un periodo de cinco minutos. Posteriormente se podían contar y colocar en los envases correspondientes sin el riesgo que los insectos se escaparan volando. El envase plástico tenía una capacidad de 118 cc, el cual se selló para evitar el escape de los gorgojos o infestación de otros insectos (Figura 3). La tapa agujereada en el centro se cubrió con tela para ventilar el envase. Estos envases fueron colocados a temperatura ambiente.

Figura 2. Daños causados por los gorgojos a la variedad de frijol “Badillo” 45 días después de la infestación.



Figura 3. Envases plásticos utilizados para la exposición de las semillas de frijol con *A. obtectus*.



La colonia original de *A. obtectus* fue seleccionada de semillas de frijol en la Subestación de Isabela, la cual fue identificada por el profesor Edwin Abreu, entomólogo de la Estación Experimental Agrícola, utilizando claves entomológicas para confirmar su identificación. La colonia fue multiplicada y mantenida utilizando semillas de la variedad de habichuela “Verano”. Todos los meses las colonias fueron renovadas y se verifico que no hubiese contaminación con otras especies de insecto. Para el desarrollo y mantenimiento de la colonia se colocaron cerca de 250 g de habichuela con cerca de 200 de gorgojos adultos dentro de un envase plástico. Las tapas de los envases tienen una ventana cubierta con malla para permitir la ventilación y evitar la salida o entrada de insectos. Los envases de habichuelas infestadas con gorgojos fueron guardados en un cuarto oscuro con temperaturas ambientales.

Evaluación de las líneas a los marcadores moleculares

Se evaluaron dos réplicas de cada línea con resistencia a los gorgojos para la presencia de los marcadores moleculares para Arcelina, Fitohemaglutinina y Alfa amilasa de frijol teparí, asociado a la resistencia de *A. obtectus* (Kusolwa y Myers, 2011) y para los marcadores SCAR asociados con resistencia al BGYMV, BCMV y BCMNV. Las semillas de las líneas de frijol fueron germinadas en platos Petri, luego se colectaron las hojas de las plántulas germinadas y se combinaron 45 ml AP1, 112.5 µl Rnase A, y 112.5 µl DX. Se añadió 395 µl de la mezcla y esferas de acero inoxidable en cada micro tubo. Una vez preparado el plato se colocaron en el “Tissue Lyser II, Qiagen” por 1.5 min. a 30 Hz para

triturar las muestras, después se rotuló el plato en la máquina y se dejó triturando por 1.5 minutos adicionales. Al terminar el proceso de trituración se removieron los platos y luego se colocó en la centrifugadora a 2000 RPM para secar las tapas. Las tapas fueron descartadas y se añadió 130 µl de AP2 en cada hueco. Una vez colocadas las nuevas tapas de cada micro tubo se cubrió el plato y luego fue agitado vigorosamente por 15 segundos. Luego los platos se colocaron en el centrifugador a 2000 RPM y se incubaron las muestras a -20°C por 10 min.

Al finalizar el período de incubación, las muestras fueron centrifugadas a 5050x RPM por 8 minutos. Una vez centrifugadas las muestras, se descartaron las tapas y fueron transferidos 400 µl del sobrenadante sin perturbar las partículas en los nuevos platos; 1.5 vol. de AP3/E fueron añadidos en cada hueco y se colocaron nuevas tapas. Los platos se agitaron nuevamente de manera vigorosa por 15 segundos y luego se secaron en el centrifugador. El plato “Dneasy” de 96 muestras se colocó encima del “S-Blocks” y se transfirió 1 ml de las muestras a este nuevo plato.

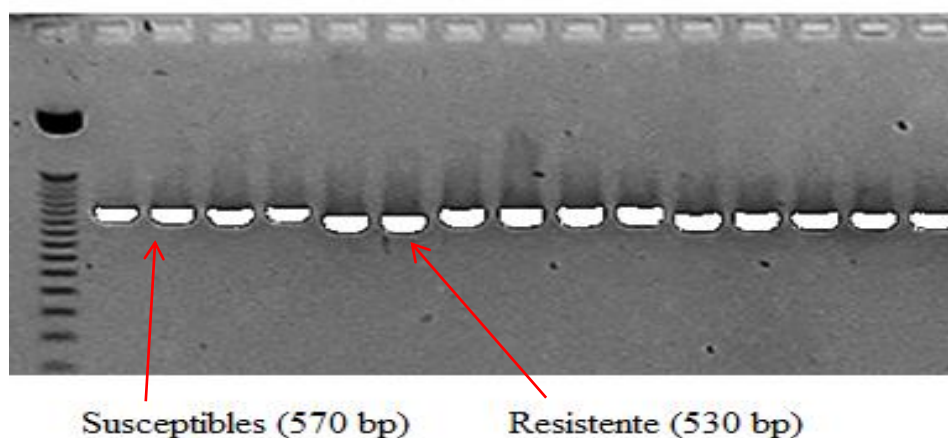
Después de la transferencia se cubrió el plato “Dneasy” con la cinta “AirPore” para luego proceder a centrifugarlo a 5050x RPM por 6 minutos. La cinta fue removida y se descartaron los residuos del “S-Block”, luego se colocaron nuevamente el plato en el “S-Block”, se añadió 800 µl de AW y se cubrió otra vez con una cinta “AirPore” nueva y se centrifugo a 5050x RPM por 15 min. Finalmente, se removió la cinta, luego se procedió a diluir el ADN en los tubos de dilución, añadiendo 100 µl de AE. Se cubrió el plato con la cinta “AirPore” y se incubó por 1 minuto a temperatura ambiente; al final de la incubación se centrifugó a 5050x RPM por 2 minutos. Este paso de dilución del ADN se repitió nuevamente y luego de ser centrifugado se almacenó en el congelador a -20°C.

La amplificación del ADN se llevó a cabo mediante la técnica de PCR. Una vez llevada a cabo la dilución del extracto de ADN crudo se procedió a preparar los platos para los termocicladores. En cada espacio provisto en el micro plato se agregaron 2ul de ADN y 23ul de la mezcla de PCR. Cada placa posee 96 espacios para las muestras, se calculó el volumen final para 110 reacciones, para un total de 2760 ml. de solución de PCR por micro plato. Una vez agregado el ADN y la solución de PCR al micro plato se llevó al termociclador para realizar la amplificación de las bandas del marcador.

Programación del termo ciclado para el marcador de (“Ar-2”, “ α -AI” y “PHA”). Desnaturalización de 5 minutos a 94°C, 35 ciclos de 30s a 94°C, 40s a 62°C, 60s a 72°C, 1 ciclo de 5 minutos a 72°C. La duración aproximada del programa es de 2 horas y media. Una vez terminada la amplificación se procedió a preparar el gel de agarosa siguiendo los siguientes pasos: Se preparó un gel de agarosa con 150 ml de 1x TBE con 1.5 gramos (1%) de agarosa y 15ul de SYBR Safe, se dejó enfriar y se agregaron en la cubeta de electroforesis y se dejó reposar por 30 minutos, esta cubeta se colocó en la cámara de electroforesis la cual contiene buffer de corrida TBE 1x. Luego se sembraron en cada pozo del gel 12ul de reacción dejando espacios al principio para sembrar la escalera. Se conectó el equipo de electroforesis a la fuente de corriente dejando correr las bandas sobre el gel a 100 voltios por 35 minutos. Por último, se procedió a leer el gel en la cámara de luz ultravioleta para verificar la presencia de las bandas y se tomaron las fotos. La “Arcelina” de frijol tepará muestra bandas a 800 pares de bases (pb), mientras que para alfa amilasa se encuentran a 750 pb y para fitohemaglutinina se encuentran a 830 pb (Mbogo et al., 2009).

El SCAR SR-2 tiene dos bandas (Figura 4), la banda para *bgm-1* se encuentra a 530 pb y expresa resistencia, mientras que para *Bgm-1* se encuentran a 570 pb y expresa susceptibilidad (Alvarado, 2009).

Figura 4. Presencia del marcador SR2 para resistencia al BGYMV



Evaluación de las líneas a la cepa NL3 de BCMNV

Se sembraron en el invernadero de la Universidad de Puerto Rico en Mayagüez dos plantas por tiesto, de las líneas que mostraron resistencia a los gorgojos, con el propósito de evaluar su reacción a la cepa NL3 de BCMNV. Las inoculaciones se realizaron una semana después de la siembra y se evaluaron la reacción al virus una semana después las inoculaciones. El tejido de frijol, de donde se extrajo el BCMNV, fue de PR0443-151 una variedad susceptible al virus. El virus se obtuvo desde plantas con síntomas de mosaico sistémico. La preparación se hizo de la siguiente manera: Se colectaron hojas infectadas con el virus y se añadieron 30 ml de solución amortiguadora (fosfato de potasio 0.01 M. pH 7.5), para facilitar la maceración. Se maceraron las hojas siempre en frío con un poco de arena para romper las paredes de las células. La suspensión preparada con el volumen total de 1: 10 (p/v)¹ se filtró a través de capas de gasa y se adicionó carborundum. La inoculación se efectuó en las hojas primarias utilizando hisopos de algodón. Las plantas inoculadas permanecieron en oscuridad por un periodo de 24 h. Después de este periodo, las plantas permanecieron en el invernadero con luz natural con una temperatura entre 25°C y 35°C. Las plantas que combinan los genes *I* y *bc-1*² mostraron los síntomas necróticos en las venas de las hojas primarias después de la inoculación con NL3. Las plantas con solamente el gen *I* manifestaron una reacción de ‘raíz negra’ ante la presencia de BCMNV. Las líneas con los genes *I* y *bc-3* no mostraron síntomas. Se usó como control positivo la variedad ‘Verano’ que tiene el gen *I* (Beaver, et al. 2008).

Se calculó la frecuencia de las líneas de cada población que poseen resistencia a los gorgojos. Estas frecuencias deben proveer una indicación preliminar de la herencia de la resistencia a los gorgojos. Se utilizó la prueba de Chi Cuadrado (χ^2) realizada en InfoStat, para determinar si la frecuencia de resistencia a los gorgojos varía entre las poblaciones. La cantidad de plántulas observada en cada celda se denota como n_{ij} .

Las cantidades esperadas de plántulas en cada celda se calculan como:

$$E_{ij} = n_{i.}n_{.j} / n_{..} = (\text{total de fila } i) (\text{total de columna } j) / \text{total general}$$

La forma precisa de comparar cada valor observado con cada valor esperado es:

$$\chi^2 = \sum [(n_{ij} - E_{ij})^2 / E_{ij}]$$

Si lo que observamos es exactamente igual a lo que esperamos, entonces $\chi^2 = 0$. Si lo que observamos está muy lejos de lo que esperamos, entonces el valor de χ^2 será muy grande. Para la interpretación de los análisis, se utilizó una tabla de distribución Chi Cuadrado con un valor crítico de 5%.

Resultados y Discusión

Líneas que combinan resistencia a gorgojos y virus

Fueron evaluadas un total de 512 líneas de frijol, de ambos acervos genéticos (Mesoamericano y Andino), de las cuales 37 líneas mantuvieron un alto nivel de resistencia en ambas evaluaciones (Tabla 14). En estas líneas se observó una reducción de la emergencia de los gorgojos adultos hasta un 100%. Los testigos susceptibles casi siempre mostraron daños significativos (más de 8 de 10 semillas perforadas), lo cual indicaban que había presión adecuada para realizar selección para resistencia a los gorgojos. La inoculación de muestras de 10 semillas de cada línea con 10 gorgojos adultos permitió la identificación de líneas resistente a gorgojos (≤ 2 semillas perforadas /pote a los 60 días después de la infestación).

Tabla 14. Líneas resistentes a *A. obtectus* evaluadas durante verano 2015 y otoño 2015.

Líneas	Lecturas ¹ de los gorgojos durante el verano de 2015			Lecturas de los gorgojos durante el otoño de 2015		
	30 días	45 días	60 días	30 días	45 días	60 días
1511-1-1	1, 0/9	1, 0/9	1, 0/9	1, 0/10	3, 2/10	3, 2/10
1511-12-6	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1511-14-1	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1511-18-3	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10
1511-25-1	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10
1526-3-1	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1527-4-2	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1527-5-3	1, 0/10	1, 0/5	1, 0/5	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1557-5-2	1 0/10	1 0/10	1 0/10	1, 0/10	3, 2/10	3, 2/10
1557-18-3	1 0/10	1 0/10	1 0/10	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10
1557-12-2	1 0/10	1 0/10	1 0/10	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10
1557-18-4	1 0/10	1 0/10	1 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1557-9-3	1 0/10	1 0/10	1 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1560-14-3	1 0/10	1 0/10	1 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1560-20-1	1 0/10	1 0/10	1 0/10	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10
1560-22-2	1 0/10	1 0/10	1 0/10	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10
1567-9-6	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	3, 2/10	3, 2/10
1567-9-7	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10
1567-9-8	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10
1567-9-9	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	3, 2/10	3, 2/10
1567-10-6	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1567-16-2	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10
1568-8-1	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10

1568-8-2	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	3, 2/10	3, 2/10
1568-14-6	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1569-68-3	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10
1569-68-5	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1569-68-7	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1569-68-9	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1577-430	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	3, 2/10	3, 2/10
1577-451	1, 0/9	1, 0/9	1, 0/9	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1577-475A	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	3, 2/10	3, 2/10
1577-475B	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	3, 2/10	3, 2/10
1577-508A	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1577-536	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10	2, 1/10	2, 1/10
1577-629	1, 0/10	3, 2/10	3, 2/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10
1577-640	1, 0/10	3, 2/10	3, 2/10	1, 0/10	1, 0/10	1, 0/10

¹ Basada en una escala de 1-5 donde 1= 0 semillas dañadas, 5= 4 o más semillas dañadas y el número de semillas dañadas/número de semilla evaluada.

Presencia de los marcadores moleculares

Las 35 líneas de poblaciones que mostraron resistencia a los gorgojos, fueron evaluadas en el laboratorio para la presencia de los marcadores moleculares para Arcelina, Fitoheماغلutinina y Alfa amilasa (el locus complejo APA). Algunas líneas no amplificaron para el locus complejo APA, pero mantuvieron su resistencia al gorgojo, sin embargo, otras líneas amplificaron a estos marcadores y cedieron a la presión del gorgojo y no mostraron alto niveles de resistencia, otras solo amplificaron uno o dos marcadores del locus APA y fueron resistente al gorgojo. Por lo tanto, es necesario identificar marcadores moleculares más efectivos para la selección indirecta para resistencia a los gorgojos. Estos resultados concuerdan con estudios previos (Hartweck et al. 1997).

Las líneas con resistencia a los gorgojos fueron evaluadas para los marcadores de resistencia a los virus BGYMV, BCMV y BCMNV (Tabla 15). De las cuales 12 líneas tuvieron el marcador SR2 para el gen *bgm* para resistencia al BGYMV, 19 amplificaron para el marcador SW12 para la presencia del QTL mayor (resistencia cuantitativa) al BGYMV, 23 tuvieron el marcador SW13 para el gen *I* para resistencia al BCMV, 16 tuvieron el marcador PveIF4E² para el gen *bc3* para resistencia al BCMNV. Seis de estas líneas combinan los tres marcadores para resistencia a los virus, 8 combinan los marcadores SR2 y SW12, 11 combinan los marcadores SW13 y PveIF4E². El 90.71% de ambas réplicas de las líneas evaluadas para los marcadores de resistencia a los virus coincidieron.

Inoculación con la cepa necrótica NL3

Al mismo tiempo estas líneas fueron inoculadas en el invernadero con la cepa necrótica NL3 de BCMNV. Se encontraron 22 líneas que no mostraron síntomas, 6 con una reacción de raíz negra (reacción necrótica), que indica la presencia del gen *I* (Figura 5), 4 tenían síntomas de mosaico común, 2 mostraron una necrosis en la hoja, lo que indica la presencia de los genes *bc-1*² + *I* (Figura 6) y 1 mostro raíz negra y necrosis en la hoja, los que indica que esta línea estaba segregando para los genes *I* y *bc-1*². Las reacciones de los marcadores SW13 y PveIF4E² con la cepa necrótica NL3, no concordaron completamente, ya que 10 líneas no mostraron los resultados esperados, es decir amplificaron a estos marcadores y fueron susceptibles a la cepa NL3, otras mostraron resistencia a esta cepa y no amplificaron a estos marcadores, pudiendo ser un escape. Solo 23 líneas concuerdan con los marcadores SW13 y PveIF4E² y la cepa necrótica NL3.

Tabla 15. Presencia de los marcadores de resistencia a *A. obtectus*, BGYMV, BCMV, BCMNV y reacción al Virus del Mosaico Necrótico común, inoculado con la cepa Necrótica NL3.

Líneas	Presencia de los marcadores de resistencia a los gorgojos			Presencia de los marcadores de resistencia a los virus BGYMV, BCMV y BCMNV				Lectura ¹ de severidad del BCMNV
	ARL2	α AI	PHA	SR2 <i>bgm-1</i>	SW12 QTL BGYMV	SW1 3 <i>I</i>	PveIF4 E ² <i>bc-3</i>	Cepa NL3
1511-1-1	-	+	+	-	-	+	-	2/2 NS
	-	+	+	-	-	+	+	
1511-12-6	-	+	+	-	-	+	-	1/1 TN
	-	+	+	-	-	-	-	
1511-14-1	-	+	+	+	-	+	-	2/2 TN
	-	+	+	+	-	+	-	
1511-18-3	+	+	+	-	-	+	+	2/2 NS
	+	+	+	-	-	+	+	
1511-25-1	+	+	+	-	-	+	-	1/2 TN
	+	+	+	-	-	+	-	
1526-3-1	-	-	-	+	+	+	+	2/2 NS
	-	-	-	+	+	+	+	
1527-4-2	+	+	+	+	+	-	+	2/2 M
	+	+	+	+	+	+	+	

1527-5-3	+	+	-	+	+	-	+	2/2 NS
	+	+	+	+	+	+	+	
1557-5-2	-	-	-	-	-	-	-	ND
	-	-	-	-	-	+	-	
1557-9-3	+	+	-	-	-	-	-	2/2 NS
	+	+	-	-	+	-	-	
1557-12-3	-	-	-	-	+	-	-	ND
	-	-	-	-	+	-	-	
1557-13-2	+	+	-	-	+	+	-	ND
	-	+	-	-	+	+	-	
1557-18-3	-	-	-	-	-	+	-	1/2 TN 1/2 LN
	-	-	-	-	-	+	-	
1560-14-3	-	+	+	+	-	+	-	1/1 M
	-	+	+	+	-	-	-	
1560-22-2	-	+	+	+	-	+	-	2/2 NS
	-	+	+	+	-	+	-	
1560-22-3	-	+	+	+	-	+	-	ND
	+	+	+	+	-	+	-	
1560-22-6	-	-	-	+	+	+	+	ND
	-	-	-	+	+	+	+	
1567-9-6	-	-	-	-	+	+	+	2/2 NS
	-	-	-	-	+	+	+	
1567-9-7	-	-	-	-	+	+	+	2/2 NS
	-	-	-	-	+	+	+	
1567-9-8	-	-	-	-	+	-	+	2/2 NS
	-	-	-	-	+	+	+	
1567-9-9	-	-	-	-	+	-	-	2/2 NS
	-	-	-	-	+	+	-	
1567-10-6	+	+	-	-	+	-	-	2/2 M
	-	-	-	-	+	+	-	
1567-16-2	+	+	-	-	+	-	+	1/2 TN
	+	+	-	-	-	+	+	
1568-8-1	-	+	-	-	+	+	+	2/2 NS
	-	+	-	-	+	+	+	
1568-8-2	-	+	+	-	+	-	+	2/2 NS
	-	+	+	-	+	-	+	
1568-14-6	-	-	-	+	+	+	+	2/2 NS
	-	-	-	+	+	+	+	
1569-68-3	-	-	-	+	+	+	+	2/2 NS
	-	-	-	+	+	+	+	

1569-68-5	-	-	-	+	+	+	+	2/2 NS
	-	-	-	+	+	+	+	
1569-68-7	-	-	-	+	+	+	+	2/2 M
	-	-	-	+	+	+	+	
1569-68-9	+	+	+	-	-	+	-	2/2 NS
	+	+	+	-	-	+	-	
1577-430	-	-	-	-	-	-	-	2/2 NS
	+	+	+	-	-	-	-	
1577-451	-	-	-	-	-	+	-	2/2 NS
	-	-	-	-	-	+	-	
1577-475A	-	-	-	-	+	+	-	2/2 NS
	-	-	-	-	-	+	-	
1577-475B	+	+	-	-	-	-	-	2/2 NS
	+	+	-	-	-	-	-	
1577-508A	-	-	-	-	-	+	-	2/2 NS
	-	-	-	+	-	+	-	
1577-536	-	-	-	-	+	+	-	2/2 LN
	-	-	-	-	+	+	-	
1577-629	-	-	-	-	-	-	-	ND
	-	-	-	-	-	-	-	
1577-640	-	+	+	-	-	+	-	2/2 NS
	-	+	+	-	-	-	-	

¹ Basada en 1/1= es la única planta en el tiesto, 1/2= una planta de dos mostró síntomas, 2/2= dos plantas de dos mostraron síntomas. ND= No hay datos, TN= Síntomas necrótico, M= Mosaico, LN= Necrosis en la hoja, NS= ausencia de síntomas.

Figura 5. Reacción de raíz negra (gen *I* solo) de algunas de las líneas a inoculación con NL3.



Figura 6. Necrosis venal en la hoja primaria ($I + bc-1^2$) de líneas inoculadas con la cepa NL3 de BCMNV.



Figura 7. Granos comerciales con resistencia a gorgojos



1624-54-1 ($I + bc-1^2$)



1624-44-1 (I)



1624-50-1 (SW12 + I)



1624-45-1 (I)

Figura 7. Continuación



1618-8-4 (Seg. I)



1619-6-1 (I + seg. *bgm*)



1624-23-1

bgm + SW12+ *I* + *bc*-3



1624-43-1

bgm + SW12+ *I* + *bc*-3



1624-29-1

bgm + SW12+ *I* + *bc*-3

Análisis estadístico

El análisis estadístico Chi Cuadrado (Tabla 16), revela que todas las poblaciones en la generación F₄ mostraron el mismo patrón de segregación de resistencia o de susceptibilidad ante *A. obtectus*. Un promedio de 7.4% de las líneas F₄ mostraron un alto nivel de resistencia a los gorgojos. Estos resultados sugieren que se necesita más de un gen de resistencia para conseguir un alto nivel de resistencia. Estos resultados concuerdan con estudios previos (Mbogo et al. 2009).

Tabla 16. Comparación de los patrones de segregación de las poblaciones para la reacción de *A. obtectus*.

Pedigrí de las poblaciones Mesoamericanas		No. total de líneas F ₄ evaluadas por población con resistencia	No. total de líneas F ₄ evaluadas por población susceptible
PR1246-7-1/CENTA Pipil / Benítez		1	13
PR1246-7-1 /CENTA Pipil / PR1217-16		2	19
PR1246-7-1/CENTA Pipil/ Benítez		2	16
PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16		1	14
PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-16		2	29
PR1246-7-1/CENTA Pipil/ PR1217-17		1	10
Total		9	101
Pedigrí de las poblaciones Andinos		No. total de líneas F ₄ evaluadas por población con resistencia	No. total de líneas F ₄ evaluadas por población susceptible
AO1012-29-3 / PR0737-1		3	31
USLK-1 / AO1012-29-3		1	17
AO1012-29-3/ PR0737-1		2	23
AO1012-29-3-3A/PR9920-171		4	58
AO1012-29-3-3A/PR1146-53		1	20
Beluga/AO1012-29-3-3A		2	26
Total		13	175
Resistentes	%	Susceptibles	%
22	7.4	276	92.6
Chi Cuadrado Pearson= 1.10			
$\chi^2_{cal} = 1.10 < \chi^2_{tab} = 19.68$ con $\alpha= 0.05$ y gl = 11			

Los métodos utilizados por esta investigación fueron exitosos en transferir resistencia a gorgojos en granos comerciales (Figura 7), además se desarrollaron líneas de frijol Mesoamericano y Andino que combinan resistencia a gorgojos y virus. Las líneas que combinan resistencia a gorgojos y virus pueden servir como progenitores para desarrollar líneas de frijol que combinen diferentes tipos de resistencia biótica y abiótica. En el caso

de las líneas con grano morado sería necesario cruzar otra vez con líneas rojos pequeños para obtener un grano comercial.

Conclusiones

Fueron evaluadas en el verano y el otoño de 2015 un total de 512 líneas de frijol de ambos acervos genéticos (Mesoamericano y Andino), para la reacción de *A. obtectus*, de las cuales 37 líneas mantuvieron su resistencia a gorgojos. La baja frecuencia de líneas con altos niveles de resistencia a los gorgojos sugiere que el complejo locus APA no es el único factor asociado con la resistencia al gorgojo del frijol común. Se pretende evaluar estas líneas a las reacciones de diferentes ecotipos de *A. obtectus*, así como también para el gorgojo mexicano del frijol *Zabrotes subfasciatus*. Recientemente se obtuvo del Dr. Kelvin Kamfwa una población endogámica recombinante que debe segregar para la resistencia a los gorgojos. Las líneas son derivadas del cruzamiento entre ‘Solwezi’, una variedad criolla de frijol de Zambia, y PR1012-29-3, una línea con resistencia al gorgojo común de frijol (Kamfwa et al., 2015). Las líneas recombinantes endogámicas actualmente están en el proceso de evaluación para la resistencia a gorgojo utilizando los métodos descritos en esta tesis. Se pretende utilizar análisis QTL para explorar la base genética de la resistencia al gorgojo derivada de un cruzamiento con AO-1012-29-3.

El programa de mejoramiento de frijol de la Universidad de Puerto Rico planea entrecruzar las líneas de frijol andinos con resistencia a los gorgojos para desarrollar diferentes tipos de semillas comerciales que tienen resistencia a los virus BGYMV, BCMV y BCMNV. El Dr. Juan Carlos Rosas en Zamorano tiene semilla de las líneas con color morado que combinan resistencia a múltiples virus y gorgojos. El pretende realizar cruces con líneas rojas pequeñas élite para generar líneas con resistencia a los gorgojos para esta clase de semilla.

Literatura Citada

- Altamirano Pólit, R.C. 1992. Efecto de arcelina en la tasa de crecimiento y reproducción de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman). Tesis Ing. Agr. Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamerica. 96 p.
- Alvarado, P.G. 2009. Optimización del protocolo para el marcador molecular SR-2 del gen *bgm-1* de resistencia al virus del mosaico dorado amarillo del frijol. Tesis Ing. Agr. Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 30 p.
- Artigas, J. 1994. Entomología económica: insectos de interés agrícola, forestal, médico y veterinario. Nativos, introducidos y susceptibles de ser introducidos. Volumen 2. Ediciones Universidad de Concepción, Concepción. 943p.
- Barriga, E. 1990. Revisión de los Brucos de Importancia Agrícola y Cuarentenaria en Chile (Coleóptera: Bruchidae). Tesis Agron. Santiago, Chile. Universidad de Chile. 243 pp.
- Beaver, J.S., Porch, T.G., Zapata, M. 2008. Registration of Verano white bean. Journal of Plant Registration, 2.
- Beebe, S., Quintero, C. M., Tohme, J. and Teran, H. 1999. Selection of an important gene for BGMV resistance using MAS. Annual report, Project IP1: Bean improvement for sustainable productivity input use efficiency, and poverty alleviation. CIAT. p. 37-39.
- Bousquet, Y. 1990. Beetles associated with stored products in Canada, An Identification Guide. Minister of Supply and Services in Canada. Ottawa, Canada. 215 pp.
- Capdeville, C. 1945. Plagas de la agricultura en Chile. Imp. Pacífico, Valparaíso, Chile. 358p.
- Cardona, C. 1997. Resistencia Varietal a Insectos. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira, Colombia. 86p.
- Cardona, C. y J. Kornegay. 1989. Use of wild *Phaseolus vulgaris* to improve beans for resistance to bruchids. In p 90-98: S. Beebe (ed), Current topics in breeding of common beans. Cali, Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical.

Cardona, C., J. Kornegay, C. Posso, F. Morales y H. Ramirez. 1990. Comparative value of four arcelin variants in the development of dry bean lines resistant to the Mexican bean weevil. *Entomología Experimental y Aplicada* 56:197-206.

Cardona, C. y Posso, C. E. 1987. Resistencia de variedades de frijol a los gorgojos del grano almacenado. *Boletín Informativo del Programa de Frijol del CIAT* 9: 1-4.

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 1988. Principales insectos que atacan el grano de frijol almacenado y su control: Guía de estudio para ser usada como complemento de la unidad audio-tutorial sobre el mismo tema. 3A ed. Cali, Colombia. Publicaciones de CIAT. 45p.

Cisneros, R. A. 1993. Comparación entre sistemas: tradicionales y mejorados de control de *Acanthoscelides obtectus* Say. En frijol almacenado. Tesis Ing. Agr. Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 142p.

Dell'Orto, H; Arias, C. 1983. Distribución e importancia de los insectos que dañan granos almacenados en Chile. FAO, Santiago, Chile. 67p.

Dell'Orto, H; Arias, C. 1985. Insectos que dañan granos y productos almacenados. Oficina regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Chile Serie: Tecnología Postcosecha. 142 pp.

De los Mozos, M. 1997. Plagas de los Productos Almacenados. Centro de Investigación Agraria de Albaladejito. España. 17p.

Dent, D. 2000. *Insect Pest Management*. 2nd Edition. CABI publishing, Wallingford, UK.

Drijfhout, E. 1978. Genetic interaction between *Phaseolus vulgaris* and bean common mosaic virus with implications for strain identification and breeding resistance. *Agricultural Research Reports*, Centre for Agriculture Publishing and Documentation, Wageningen, The Netherlands. 872 p.

Duran, L. 1952. Los insectos perjudiciales a los productos almacenados y los Procedimientos para combatirlos. Santiago. 185p.

Espinal, R., R. Higgins, y V. Wright. 1993. Economic losses associated with *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) and *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) infestations of stored dry red beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in Southeastern Honduras. *Ceiba* 45:107-119.

Edge, O. T. 1984. Effects of storing bean seeds with bean pod ash and other insecticides. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 27:145-147.

Gepts, P.; Debouck, D. 1991. Origin, Domestication, and Evolution of the common bean *Phaseolus vulgaris* L. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali. Colombia. 980p.

Gepts, P. 2001. *Phaseolus vulgaris* (Beans). Disponible en <http://www.plantsciences.ucdavis.edu/gepts/a1749.pdf>, verificado el 2 de enero de 2016.

Golob, P.; Mwambula, J.; Meango, V.; Ngulube, F. 1982. The use of locally available materials as protectants of maize grain against insect infestation during storage in Malawi. *Journal of Stored Product Research* 18: 67-74.

Hartweck, L.M., Cardona, C. and Osborn, T.C. 1997. Bruchid resistance of common bean lines having an altered seed protein composition. *Theoretical Applied Genetics* 95:1018-1023.

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. 2008. Guía de identificación y manejo integrado de las enfermedades del frijol en América Central / IICA/ Proyecto Red SICTA, COSUDE. Managua: IICA, 2008. 32 p.

Kamfwa, K., Cichy, K.A., Kelly, J.D. 2015. Genome-wide association analysis of symbiotic nitrogen fixation in common bean. *Theoretical and Applied Genetics*. 128(10):1999-2017.

Kusolwa, P.M. and Myers, J.R. 2010. Phylogenetic relationship of lectin-like proteins expressed in tepary and common beans. *Aspects of Applied Biology* 96:52-57.

Kusolwa, P.M. and Myers, J.R. 2011. Seed storage proteins ARL2 and its variants from the APA locus of wild tepary bean 255 G40199 confer resistance to *Acanthoscelides*

obtectus when expressed in common beans. Africa Crop Science Journal.Vol. 19. Num. 4, pp 255-265.

Landaverde, R. 2003. Las Plagas de los Productos Alimenticios Almacenados en la Región del Oirsa. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). San Salvador, el Salvador. 171 pp.

Mateo, B. F.; Renato, A. D. 2013. Estudio de artrópodos en granos almacenados en la Provincia San Juan, República Dominicana. Tesis Ing. Agr. Universidad Autónoma de Santo Domingo. 72 pp.

Mbogo, P.K., Myers, J.R. and Davis, J. 2009. Transfer of the Arcelin-Phytohemmagglutinin α Amylase inhibitor seed protein locus from tepary bean (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) to common bean (*P. vulgaris* L.). Biotechnology 8:285-295.

Melotto, M., Afanador, L. and Kelly, J. D. 1996. Development of a SCAR marker linked to the gene *I* in common bean. Genome 39: 1216-1219.

Menendez, A. E. 1977. El uso de variedades resistente de frijol como una alternativa para evitar el daño causado por gorgojos en el frijol almacenado. Mexico, D. F. pp 25-29.

Myers JR, Davis J, Kean D, Nchimbi-Msolla S, Misangu R (2001) Backcross Breeding to Introduce Arcelin Alleles into Improved African Bean Cultivars. Bean/Cowpea Collaborative Research Support Program. East Africa Proceedings: Bean Seed Workshop Arusha, Tanzania January 12-14.

Morales, F.J. 1999. Situación actual de las enfermedades virales del frijol común en América Central, México y El Caribe. Hojas de PROFRIJOL (Guatemala), 6:2-3.

Morales, F. J. 2000. El mosaico dorado y otras enfermedades del fríjol común causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina. CIAT, Cali, Colombia, 169p.

Narderpour, M., O.S. Lund, R. Larsen y E. Johansen. 2010. Potyviral resistance derived from cultivars of *Phaseolus vulgaris* carrying *bc-3* is associated with the homozygotic presence of a mutated *elF4E* allele. Molecular Plant Pathology 11(2):255-263.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 2014. Dirección de Estadísticas: FAOSTAT. Disponible en <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/S>.

Osborn T.C., Alexander D., Sun S.S.M., Cardona C. and F.A. Bliss. 1988. Insecticidal activity and lectin homology of arcelin seed protein. *Science* 240:207-210.

Osorno, J.M., Beaver, J. S., Ferwerda, F. and Miklas, P.N. 2003. Two genes from *Phaseolus coccineus*, L. confer resistance to bean golden yellow mosaic virus. *Ann. Rep. Bean Improv. Coop.* 46: 147-148.

Parsons, D.M. and P.F. Credland. 2003. Determinants of oviposition in *Acanthoscelides obtectus*: A nonconformist bruchid. *Physiol. Entomol.*, 28:211-231.

Permuy, N., O. Chaveco, J. Gonzalez, E. Garcia y F. Hidalgo. 2008. Pérdida de grano de frijol común en un sistema de almacenamiento tradicional. *Agricultura Técnica en México* 34: 91-100.

Pratt, R.C., Singh, N.K. and Bressan, R.A. 1984. Transfer of an apparent 30 kD seed polypeptide from tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) to common bean (*Phaseolus vulgaris*) (abstract No. 795). *Plant Physiology* 75:5-141.

Pratt, R.C., Singh, N.K., Shade, R.E., Murdock, L.L. and Bressan, R.A. 1990. Isolation and partial characterization of a seed lectin from tepary bean that delays bruchid beetle development. *Plant Physiology* 93:1453-1459.

Rosas, J.C. 1998. El cultivo del frijol común en América Tropical. Zamorano, Honduras, Zamorano Academic Press. 52 p.

Rosas, J. C.; Castro, A.; Beaver, J.; Pérez, C.; Morales, A.; Lepi, R. 2000. Mejoramiento genético para tolerancia a altas temperaturas y resistencia al mosaico dorado en frijol común. *Agronomía Mesoamericana*. 11: 01-10.

Rosas, J. C. 2003. El cultivo del frijol común en América Tropical. Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras. 56 p.

SAG (Secretaría de Agricultura y Ganadería). 1998. El cultivo del frijol: Guía para uso de empresas privadas, consultores individuales y productores. Ed. por Federico Rodríguez y Andrés C. Gómez. Honduras, ZAS. 39 p.

Schoonhoven, A. y C. Cardona. 1982. Low levels of resistance to the Mexican bean weevil in dry beans. *Journal of Economic Entomology*, 75:567-569.

Schoonhoven, A.V. 1976. Pest of stored beans and their economic importance in Latin America. *Proceedings of the XV International Congress of Entomology*, Washington D. C., 691-698. 15th. 824 pp.

Schoonhoven, A. Van., Cardona, C. y García, J. 1988. Principales insectos que atacan el grano almacenado y su control; guía de estudio para ser utilizada como complemento de la unidad audiovisual sobre el mismo tema. 3ra ed. Cali, Colombia. CIAT. 48 p.

Schoonhoven, A. Van.; Cardona, C.; Valor, J. F. 1981. Niveles de resistencia al gorgojo pintado *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) en frijoles cultivados y silvestres. *Rev. Entomológica*. 7: 41-45.

Schmale, I.; Wäckers, F.; Carsona, C.; Dorn, S. 2002. Field infestation of *Phaseolus vulgaris* by *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae), parasitoid abundance, and consequences for storage pest control. *Environmental Entomology* (On line). 31: 859-863.

Shade, R. E.; Prats, R. C.; Pomeroy, M. A. 1987. Development and mortality of the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae), on mature seed of tepary beans, *Phaseolus acutifolius*, and common beans, *Phaseolus vulgaris*. *Enviro. Entomol.* 16: 1067-1070.

Singh, S.P. and Muñoz, C.G. 1999. Resistance to common bacterial blight among *Phaseolus* species and common bean improvement. *Crop Science* 39:80-89.

Singh, S.P., F.J. Morales, P.N. Miklas y H. Terán. 2000. Selection for Bean Golden Mosaic Resistance in Intra- and Interracial Bean Populations. *Crop Science* 40:1565-1672.

Urrea, C. A.; Miklas, P.; Beaver, J.; and Riley, R. 1996. A codominant randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) marker useful for indirect selection of bean golden mosaic virus resistance in common bean. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 121:1035-1039.

Valencia Cataño, S. J. 2006. Efectos sub-letales de resistencia antibiótica a inmaduros en la demografía de adultos de los gorgojos del frijol *Acanthoscelides obtectus* (Say) y *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleóptera: Bruchidae). Tesis Ing. Agr., Palmira, Colombia. Centro Internacional de Agricultura Tropical. 135p.

Vélez, A. R. 1997. Plagas agrícolas de impacto económico en Colombia. Bionomía y manejo integrado. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. 480 p.

Voysest O., 2000. Legado de variedades de América Latina 1930–1999. P. 31-40. In. Mejoramiento genético del fríjol (*Phaseolus vulgaris* L). CIAT. Cali. Colombia.