

**HERENCIA DE LA RESISTENCIA A UN NUEVO BEGOMOVIRUS EN
HABICHUELA (*Phaseolus vulgaris* L.) EN EL VALLE DEL CAUCA**

PAOLA ANDREA SOTELO CARDONA

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD CIENCIAS AGRARIAS
COORDINACION GENERAL DE POSTGRADOS
PALMIRA
2009**

**HERENCIA DE LA RESISTENCIA A UN NUEVO BEGOMOVIRUS EN
HABICHUELA (*Phaseolus vulgaris* L.) EN EL VALLE DEL CAUCA**

PAOLA ANDREA SOTELO CARDONA

**Trabajo de grado presentado para optar al título de Magister en Ciencias
Agrarias, Línea de investigación Fitomejoramiento**

DIRIGIDO POR:

**DR. FRANCISCO MORALES
VIROLOGIA**

**DR. CARLOS GERMAN MUÑOZ
FITOMEJORAMIENTO**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD CIENCIAS AGRARIAS
COORDINACION GENERAL DE POSTGRADOS
PALMIRA
2009**



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
SEDE PALMIRA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ACTA DE JURADO DE TESIS

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRARIAS
LINEA DE INVESTIGACIÓN FITOMEJORAMIENTO

En Palmira a los 12 días del mes de Noviembre de 2009, se reunió en esta Sede el Jurado Calificador de Tesis, integrado por los doctores ARIEL GUTIERREZ y CESAR CARDONA

Para calificar la Tesis de Grado de:

PAOLA ANDREA SOTELO CARDONA

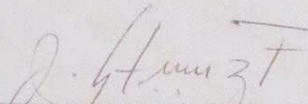
Titulada:

"HERENCIA DE LA RESISTENCIA A UN NUEVO BEGOMOVIRUS EN HABICHUELA (*Phaseolus vulgaris* L.) EN EL VALLE DEL CAUCA" bajo la dirección de los doctores Francisco Morales y Carlos German Muñoz Perea.

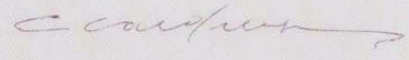
Después de oír el informe del jurado evaluador compuesto por los doctores ARIEL GUTIERREZ y CESAR CARDONA, y de haber cumplido con el proceso de evaluación, la tesis fue calificada como:

APROBADA

REPROBADA



ARIEL GUTIERREZ



CESAR CARDONA

“La facultad y los jurados de tesis no se hacen responsables de las ideas emitidas por el o los autores de este trabajo”

(Artículo 24, resolución 04 de 1979)

Dedico este trabajo a:

Mis padres, Guillermo Sotelo y Patricia Cardona por todo el amor y apoyo incondicional que he siempre recibido.

A mi esposo Carlos Humberto Posso, por su compañía y por darme fortaleza.

A mi familia, a mis hermanos Rodrigo y Luis Felipe, porque siempre he tenido en ellos a unos buenos amigos.

A mi abuela Pola, que aunque ya no se encuentra conmigo siempre ha sido una luz y guía a seguir.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, por aceptarme como estudiante de maestría en mejoramiento y por su excelente calidad académica.

Al Dr. César Cardona, en la Unidad de Entomología de Frijol del CIAT por ser un magnifico guía y profesor a lo largo de mis estudios de pregrado y maestría.

Al profesor José Ariel Gutiérrez por haberme ayudado en la parte inicial de la elaboración del proyecto de tesis y a sus acertadas recomendaciones.

A los Doctores Francisco Morales y Carlos Germán Muñoz por haber aceptado ser mis directores de tesis, por colaborar en la realización de la investigación, y haberme ayudado en la revisión del manuscrito

A la Unidad de Entomología de Frijol del CIAT por el apoyo logístico recibido durante la realización del estudio, en especial a Juan Miguel Bueno, José Flower Valor, Isaura Rodríguez y los técnicos del patio de frijol.

A Mauricio Castaño de la Unidad de Virología del CIAT por realizar las evaluaciones de los síntomas del BLCrV en campo y por su amplia disposición y comentarios acertados.

A Freddy Salazar por su ayuda en la parte del análisis estadístico para medias generacionales.

A Orlando Díaz que por su gran conocimiento a nivel práctico fue una pieza clave para poder obtener todos los cruzamientos requeridos en el estudio, además de comentarios invaluable y su amistad.

A Guillermo Sotelo de la Unidad de Entomología de Forrajes del CIAT por la ayuda logística y revisión del documento.

A mis compañeros y amigos de la Universidad Nacional sede Palmira y CIAT, en especial a Adriana Bohórquez, Carmenza Montoya, Olga Ximena Giraldo y Hugo Jaimes.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION	17
1. DEFINICION DEL PROBLEMA E HIPOTESIS	18
1.1 EL PROBLEMA	18
1.2 HIPÓTESIS GENERAL	19
1.3 HIPÓTESIS ESPECÍFICA	19
2. OBJETIVOS.....	20
2.1 OBJETIVO PRINCIPAL.....	20
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	20
3. MARCO TEORICO	21
3.1 IMPORTANCIA DE LA HABICHUELA EN AMÉRICA LATINA.....	21
3.2 VARIEDADES DE HABICHUELA.....	22
3.3 LA MOSCA BLANCA: <i>Bemisia tabaci</i> (GENN.).....	26
3.4 GEMINIVIRUS TRANSMITIDOS POR MOSCA BLANCA.....	28

	Pág.
3.5 PROBLEMAS CAUSADOS POR BEGOMOVIRUS	31
3.6 BEGOMOVIRUS QUE INFECTAN FRÍJOL COMÚN	32
3.7 MANEJO INTEGRADO DE <i>B. tabaci</i>	36
3.8 CONTROL GENÉTICO: RESISTENCIA VARIETAL HACIA LOS BEGOMOVIRUS.....	37
4. DISEÑO METODOLOGICO.....	40
4.1 LOCALIZACIÓN	40
4.2 PRODUCCIÓN DE SEMILLA F ₁ , P ₁ Y P ₂	40
4.3 OBTENCIÓN DE SEMILLA F ₂ Y DE LOS RETROCRUZAMIENTOS HACIA CADA UNO DE LOS PARENTALES	41
4.4 EVALUACIÓN EN CAMPO DE LAS GENERACIONES F ₁ , F ₂ , RC ₁ P ₁ F ₁ , RC ₁ P ₂ F ₁ , P ₁ (LAGO AZUL) Y P ₂ (PORRILLO SINTÉTICO).	42
4.5 OBTENCIÓN DE DATOS MEDIANTE EVALUACIÓN DE SÍNTOMAS EN CAMPO.....	43
4.6 SÍNTOMAS CARACTERÍSTICOS CAUSADOS POR EL VIRUS.....	44
4.7 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN.....	46
4.8 ANÁLISIS GENÉTICO.....	47
4.8.1 Cuantificación de la variación por el método de retrocruzamiento	47
4.8.2 Gráfica de distribución de frecuencias y estudios de segregación	49

4.8.3 Medias generacionales	50
5. RESULTADOS Y DISCUSION	52
5.1 EVALUACIÓN DE LA DENSIDAD DE POBLACIÓN DE <i>B. TABACI</i> EN PRADERA	52
5.2 CALIFICACIÓN DE SÍNTOMAS OBSERVADOS EN CAMPO PARA CADA GENERACIÓN.....	52
5.3 ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBA DE DIFERENCIAS MÍNIMAS SIGNIFICATIVAS.....	53
5.4 CORRELACIÓN DE VARIABLES	57
5.5 ANÁLISIS GENÉTICO DE LA INFORMACIÓN.....	58
5.5.1 Cuantificación de la variación por el método de retrocruzamiento	58
5.5.2 Distribución de frecuencias para los padres y la generación segregante F_2	59
5.5.4 Estudio de medias generacionales.....	68
6. CONCLUSIONES	75
7. RECOMENDACIONES	78
BIBLIOGRAFIA.....	79

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1: Área cosechada, producción, y rendimiento de frijol seco en los principales países productores en América Latina -.....	21
Tabla 2: Características nutritivas de los diferentes productos comestibles a partir del frijol.....	23
Tabla 3: Área sembrada y cosechada de habichuela en el Valle del Cauca (Hectáreas) durante los años 1996-2008.	24
Tabla 4: Plantas hospederas de <i>B. tabaci</i> en América Latina.	29
Tabla 5: Incidencia del arrugamiento foliar en genotipos de frijol seleccionados e inoculados artificialmente usando ocho individuos de <i>B. tabaci</i> por planta muestreada.	39
Tabla 6: Componentes esperados para las medias de las generaciones evaluadas en términos de m, [a], [d] y asumiendo ausencia de epistasis	50
Tabla 7: Generaciones, promedios y varianzas para el síntoma mosaico.	53
Tabla 8: Generaciones, promedios y varianzas para el síntoma deformación foliar.	53
Tabla 9: Generaciones, promedios y varianzas para el síntoma enanismo.	54
Tabla 10: Generaciones, promedios y varianzas para el síntoma deformación de vainas.....	54
Tabla 11: ANOVA para cada síntoma evaluado en las generaciones obtenidas del cruce “Lago Azul” X “Porrillo Sintético”.	55

Tabla 12: Prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para las poblaciones derivadas del cruce “Lago Azul” X “Porrillo Sintético”.	56
Tabla 13: Coeficientes de Correlación de Pearson para los síntomas evaluados .	57
Tabla 14: Componentes de la variación genética para los síntomas evaluados. Datos obtenidos mediante cuantificación de la variación por el método de retrocruzamiento.	59
Tabla 15: Distribución de frecuencias para la generación segregante F_2 con respecto a los síntomas provocados por el BLCrV	62
Tabla 16: Prueba de X^2 para deformación foliar en la generación segregante F_2 .	65
Tabla 17: Prueba de X^2 para enanismo en la generación segregante F_2	65
Tabla 18: Prueba de X^2 para deformación de vainas en la generación segregante F_2	67
Tabla 19: Prueba de escalas agrupadas para el síntoma Mosaico observado en las generaciones evaluadas para el nuevo virus en Pradera.	69
Tabla 20: Prueba de escalas agrupadas para el síntoma Deformación foliar observado en las generaciones evaluadas para el nuevo virus en Pradera.	70
Tabla 21: Prueba de escalas agrupadas para el síntoma Enanismo observado en las generaciones evaluadas para el nuevo virus en Pradera.....	71
Tabla 22: Prueba de escalas agrupadas para el síntoma Deformación de vainas observado en las generaciones evaluadas para el nuevo virus en Pradera.	72

pág.

Tabla 23: Parámetros estimados m , $[a]$, $[d]$ y coeficiente de determinación para las características evaluadas en la herencia de la resistencia al nuevo virus en habichuela.....	74
---	----

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1: Producción de habichuela para los municipios de Palmira, Pradera y producción total para el Valle del Cauca (toneladas) durante los años 2000-2007.	25
Figura 2: Mosca blanca <i>B. tabaci</i> y planta hospedera.	27
Figura 3: Síntomas característicos provocados por BLCrV en el Valle del Cauca.	35
Figura 4: Daño general y pérdidas en producción observado para la habichuela comercial Lago Azul de Ferry en el corregimiento La Tupia, municipio de Pradera	36
Figura 5: Polinizaciones manuales y marcaje de flores individuales en padre susceptible Lago Azul Ferry usado como hembra.	41
Figura 6: Población de <i>B. tabaci</i>	44
Figura 7: Síntomas observados para el parental resistente “Porrillo Sintético”.....	45
Figura 8: Síntomas observados para el parental susceptible “Lago Azul” ..	46
Figura 9: Evaluación de vainas para determinar el rango de deformación.	47
Figura 10: Distribución de frecuencias para los padres y la generación segregante F2 para cada uno de los síntomas.....	61

RESUMEN

El frijol común *Phaseolus vulgaris* L. es en América Latina y en África la leguminosa de grano más importante para el consumo humano por su alto contenido proteico y aporte calórico. Sin embargo desde el año 2002, en la región del Valle del Cauca, Colombia este cultivo se ha visto severamente afectado por un nuevo begomovirus, denominado como el Virus del arrugamiento foliar del frijol (*'Bean leaf crumple virus'*, BLCrV) el cual es transmitido por el biotipo B de *Bemisia tabaci* Gennadius, y afecta grandes aéreas de producción en habichuela. El objetivo principal de este estudio fue determinar la herencia de la resistencia a los síntomas provocados por el BLCrV los cuales son: 'mosaico', 'deformación foliar', 'enanismo' y 'deformación de vainas'. Se cruzaron dos padres contrastantes, una variedad de frijol de grano negro centroamericano Porrillo Sintético como padre resistente y una variedad comercial de habichuela, tipo Lago Azul de Ferry como padre susceptible, con el fin de obtener las generaciones filiales F1 y F2, y los retrocruces hacia los parentales RCP1F1 y RCP2F1. Los padres y las cuatro familias se utilizaron para cuantificar la variación genética por medio del método de retrocruzamientos, determinar el número de genes de resistencia, estimar la heredabilidad de la resistencia y obtener valores de Chi-cuadrado (χ^2) para cada síntoma evaluado en campo. La resistencia a 'mosaico' fue heredada como un carácter poligenico, y la resistencia a 'deformación foliar' como un carácter digenico. Por otro lado, la resistencia a 'enanismo' fue heredada como un solo gen dominante, mientras que 'deformación de vainas' se heredo como un gen recesivo.

Palabras clave: *Bemisia tabaci*, Virus del arrugamiento foliar del frijol, BLCrV, herencia de la resistencia, retrocruzamientos.

ABSTRACT

The common bean '*Phaseolus vulgaris* L.' is the most important grain legume for human consumption because of its high protein and caloric content. In the Valle del Cauca region of Colombia, common bean has been severely affected by a new begomovirus, known as the bean leaf crumple virus, (BLCrV) since 2002. BLCrV is transmitted by *Bemisia tabaci* Gennadius biotype B, which infests major bean production areas. The main objective of this study was to determine the inheritance of resistance to the symptoms caused by BLCrV which are: 'mosaic', 'leaf deformation', 'dwarfism' and 'deformed pods'. The BLCrV-resistant centroamerican bean variety "Porrillo Sintético" and a susceptible snapbean commercial variety, "Lago Azul" Ferry were crossed to create F1, F2, and backcross (BC) BCP1F1 and BCP2F1 families. The four families were used to quantify the genetic variances occurring through backcrossing, to determine the number of resistance genes, to estimate of the heritability of resistance, and to obtain Chi-square values (χ^2) for each BLCrV damage symptom evaluated in field. Resistance to 'mosaic' was inherited as a polygenic trait, and resistance to 'leaf deformation' was a digenic trait. Resistance to 'dwarfism' was inherited as a single dominant gene, while resistance to 'deformed pods' was inherited as a single recessive gene.

Key words: *Bemisia tabaci*, bean leaf crumple virus, BLCrV, inheritance of the resistance, backcrosses.

INTRODUCCION

Desde el año 2002, en Colombia y más específicamente en la región del Valle del Cauca, se ha presentado una drástica disminución (60-70%) del área cultivada en frijol y habichuela, específicamente en los municipios de Palmira y Pradera a causa de los begomovirus transmitidos por la mosca blanca *Bemisia tabaci* Gennadius. En ese mismo año, la Unidad de Virología del CIAT publicó un estudio en el que se reportó la aparición de un nuevo begomovirus que afectaba la habichuela en los municipios de Pradera, Roza y Roldanillo, Valle del Cauca. Este begomovirus presenta alta similitud (85%) con el Virus del mosaico dorado amarillo del frijol (BGYMV) en su componente ADN-A, mientras que su ADN-B parece provenir de otro(s) begomovirus y fue denominado tentativamente con el nombre del 'Virus del arrugamiento foliar del frijol' BLCrV, por el Dr. Francisco Morales, jefe de la Unidad de Virología del CIAT. La principal característica de este nuevo virus es un arrugamiento foliar severo, con poco amarillamiento. Desde hace más de 30 años, en el Centro Internacional de Agricultura Tropical, se ha realizado una extensa labor para encontrar fuentes de resistencia a los diferentes begomovirus que infectan el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Sin embargo, en el caso de la habichuela no se ha hecho mejoramiento genético para introducirle resistencia a esta virosis. Por esta razón es de gran importancia iniciar estudios tendientes a determinar cuál es el tipo de herencia de la resistencia hacia este nuevo virus.

1. DEFINICION DEL PROBLEMA E HIPOTESIS

1.1 EL PROBLEMA

Según un estudio realizado por la Unidad de Virología del CIAT en el año 2002 se encontró que muestras de habichuela proveniente de los municipios de Pradera, Roldanillo y Rozo (Valle del Cauca) reaccionaron positivamente con prueba ELISA, un antisuero monoclonal específico para begomovirus. Ninguna de las muestras analizadas reaccionó contra los antisueros para potyvirus o cucumovirus. Así mismo, la secuenciación de un clon de 627 bases obtenido del fragmento amplificado del begomovirus detectado en una muestra de habichuela procedente del municipio de Rozo, mostró una homología a nivel de nucleótidos del 85% con la cápside del Virus del mosaico dorado amarillo del fríjol (BGYMV). Este porcentaje de identidad descendió al 71% cuando la comparación con el BGYMV se hizo a nivel de aminoácidos. Los autores del estudio concluyeron que el begomovirus aislado en habichuela en el Valle del Cauca está muy relacionado con el Virus del mosaico dorado amarillo del fríjol (BGYMV), pero parece ser una nueva especie o un virus híbrido entre el *virus del mosaico dorado amarillo del fríjol* (BGYMV) y otros begomovirus previamente introducidos en el Valle del Cauca, como son el virus del arrugamiento foliar en repollo (CaLcuV), virus del arrugamiento foliar en zapallo (SLCV), y virus del mosaico dorado amarillo en tomate (ToYMV) (CIAT, 2004 y 2006). Así mismo, el BGYMV y el nuevo begomovirus en habichuela se diferencian por los síntomas que causan en fríjol. El BGYMV se caracteriza por causar un amarillamiento notable en las hojas, mientras que el nuevo begomovirus descrito induce un arrugamiento foliar severo,

con poco amarillamiento. Sin embargo debe estudiarse más a fondo este virus para poder determinarlo y mientras tanto se le conoce tentativamente como el Virus del arrugamiento foliar del frijol (Bean leaf crumple virus BLCrV) (Morales *et al.* 2002).

1.2 HIPÓTESIS GENERAL

Se puede identificar el tipo de herencia de la resistencia al BLCrV, mediante la evaluación de dos genotipos contrastantes, "Porrillo Sintético" usado como padre resistente y habichuela comercial "Lago Azul Ferry" usado como padre susceptible y sus generaciones F_1 , F_2 y los retrocruzamientos hacia cada uno de los parentales.

1.3 HIPÓTESIS ESPECÍFICA

La incorporación de los genes responsables de la resistencia en Porrillo Sintético hacia la variedad de habichuela Lago Azul permitirá la reducción de los síntomas causados por el BLCrV.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO PRINCIPAL

El objetivo de este trabajo es estudiar el tipo de herencia del nuevo begomovirus conocido tentativamente como el Virus del arrugamiento foliar BLCrV, transmitido por mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.) usando la progenie de dos padres contrastantes: "Porrillo sintético" (frijol arbustivo seco de grano negro con resistencia al BGYMV) y la habichuela comercial Lago Azul Ferry[®] muy susceptible al virus.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- a) Cuantificar la variación genética usando el método de retrocruzamientos.
- b) Obtención de graficas de distribución de frecuencias y estudios de segregación mendeliana a la herencia de la resistencia al virus mediante análisis estadístico de Chi-cuadrado para la generación segregante F_2 y el cruzamiento de prueba.
- c) Determinar la herencia de la resistencia al virus mediante análisis de medias generacionales para las generaciones resultantes, P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , RCP_1F_1 , RCP_2F_1

3. MARCO TEORICO

3.1 IMPORTANCIA DE LA HABICHUELA EN AMÉRICA LATINA

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa de grano más importante para el consumo humano por su contenido proteico (15-35%) y aporte calórico (ca. 340 cal. /100 gr.). Los datos de la tabla 1 muestran que América Latina es una zona importante de producción de frijol (Voyses 2000).

Tabla 1: Área cosechada, producción, y rendimiento de frijol seco en los principales países productores en América Latina - Año 2007 (Fuente: FAOSTAT).

Mundo & región	País	Área cosechada (ha)	Producción (ton)	Rendimiento (Kg. / ha)
Mundo		26 527 423	18 336 912	691
	América Central	2 119 650	1 486 652	701
	Zona Andina	283 783	282 132	962
	Bolivia	29 400	39 200	1 333
	Colombia	85 038	111 423	1 310
	Ecuador	49 070	12 306	251
	Perú	75 110	81 788	1 089
	Venezuela	45 165	37 415	828
	Cono Sur	4 434 932	3 880 101	875
	El Caribe	170 924	159 526	933

El consumo del frijol común puede hacerse tanto como semilla seca como en semilla o vaina verde (habichuela) (Sibernagel *et al.*1991). Dentro de estos productos del frijol, la habichuela es la más importante debido a su alta productividad y rentabilidad, principalmente en el caso de pequeños y medianos agricultores (Tabla 2) (Sibernagel *et al.* 1991). Según información obtenida de Corpoica (1998), en el año 1997 se sembraron aproximadamente 900 hectáreas de habichuela en Colombia, distribuidas en los departamentos de Tolima (municipio de Cajamarca), Cundinamarca (municipios de Arbeláez, Choachí, Fómez, Fusagasugá, Pásca y Sylvania), Boyacá (municipios de Guayatá, Capilla, Sutatenza y Tenza), y Valle del Cauca (municipios de Palmira y Pradera).

3.2 VARIEDADES DE HABICHUELA

Existen variedades de habichuelas arbustivas y de enredadera. Las arbustivas no han sido muy aceptadas por los agricultores en Colombia debido a que se producen muchas pérdidas en el cultivo por la pudrición de vainas, cuando estas tocan el piso, además de que no son muy apetecidas en el mercado. Entre las variedades arbustivas se pueden citar a 'Tendergreen', 'Top Crop', 'Green Pod', y una variedad producida en Colombia llamada ICATO. Por el contrario, las variedades de enredadera son las más apetecidas tanto por los cultivadores como por los consumidores; siendo la más sembrada 'Lago Azul' (Blue-Lake). Esta variedad tiene una adaptación entre los 1000 y 1600 m.s.n.m. con rendimientos promedios de 1.6 ton/ha cuando es cosechada como semilla (Federación Nacional de Cafeteros, 1985).

Tabla 2: Características nutritivas de los diferentes productos comestibles a partir del fríjol.

Característica	Fríjol seco	Fríjol verde	Hojas de fríjol	Habichuela
Contenido de proteína (%)	20.4	7.0-10.5	3.6	2.1
Calorías	3 020	1 040-1 510	360	290
Vitamina A (I.U)	0	40	1 000-2 000	200
Agua (%)	12.3	58.2-70	86.8	90
Tiempo de cocción (min.)	180	40	10	25
Días desde la siembra hasta primer cosecha	90	55	25	40
Producción (Kg. / ha)	700	1 575	10 000	8 000
Almacenaje post-cosecha	Mediano -largo plazo	Corto	Corto	Corto

Tomado de: Sibernagel *et al.* 1991.

La habichuela es una hortaliza de importancia económica en las regiones planas y montañosas del Valle del Cauca. A pesar de esto, las estadísticas de producción de fríjol y habichuela son muy escasas debido a que la pequeña área de producción por finca, causa que a menudo estos datos sean omitidos. El sistema actual del cultivo requiere grandes cantidades de insumos para garantizar la producción, debido a que las variedades sembradas actualmente, no tienen características apropiadas de resistencia o tolerancia a los principales problemas bióticos y abióticos. Por ejemplo, la variedad Lago Azul, es muy susceptible a enfermedades como la roya (*Uromyces phaseolii*), bacteriosis (*Xanthomonas campestris*), y al arrugamiento foliar causado por el begomovirus transmitido por *B. tabaci* (Morales *et al.* 2002, Tofiño *et al.* 2003).

Para realizar estimativos de las áreas de siembra de habichuela en el Valle del Cauca, se consultó la Secretaría de Agricultura del Valle del Cauca y se trabajó con los datos desde 1996 hasta 2008 (Gobernación del Valle del Cauca, Secretaria de Agricultura 2009). En la tabla 3 se observa el área sembrada y cosechada durante los años 1996-2008, destacándose una drástica disminución (50-70%) del área cultivada en los municipios de Pradera y Palmira, como consecuencia de los problemas bióticos mencionados anteriormente.

Tabla 3: Área sembrada y cosechada de habichuela en el Valle del Cauca (Hectáreas) durante los años 1996-2008.

Año	Valle del Cauca (Has)	Palmira (Has)	Pradera (Has)
1996	473	124	163
1997	355	50	138
1998	530	109	151
1999	520	116	150
2000	468	34	160
2001	453	39	135
2002	450	30	115
2003	399	31	56
2004	361	32	10
2005	607	33	75
2006	821	33	75
2007	881	52	73
2008	920	52	55

Fuente: Gobernación del Valle del Cauca, Secretaria de Agricultura -2009

En la figura 1, se aprecia que la producción de habichuela para el municipio de Pradera ha sufrido una disminución gradual durante los años 2000-2007, lo cual es consistente con la disminución de las áreas sembradas y cosechadas para este municipio como consecuencia de problemas fitosanitarios que afectan la región y que están relacionados con la presencia de mosca blanca. En cuanto a la producción de habichuela para la región del Valle del Cauca hasta el año 2004, la participación de el municipio de Pradera era importante, sin embargo después de este año las estadísticas muestran que los municipios que más están aportando al área sembrada, cosechada y a la producción han sido Sevilla, Guacari, Buga y Dagua (Datos no mostrados, Secretaria de Agricultura del Valle del Cauca 2009).

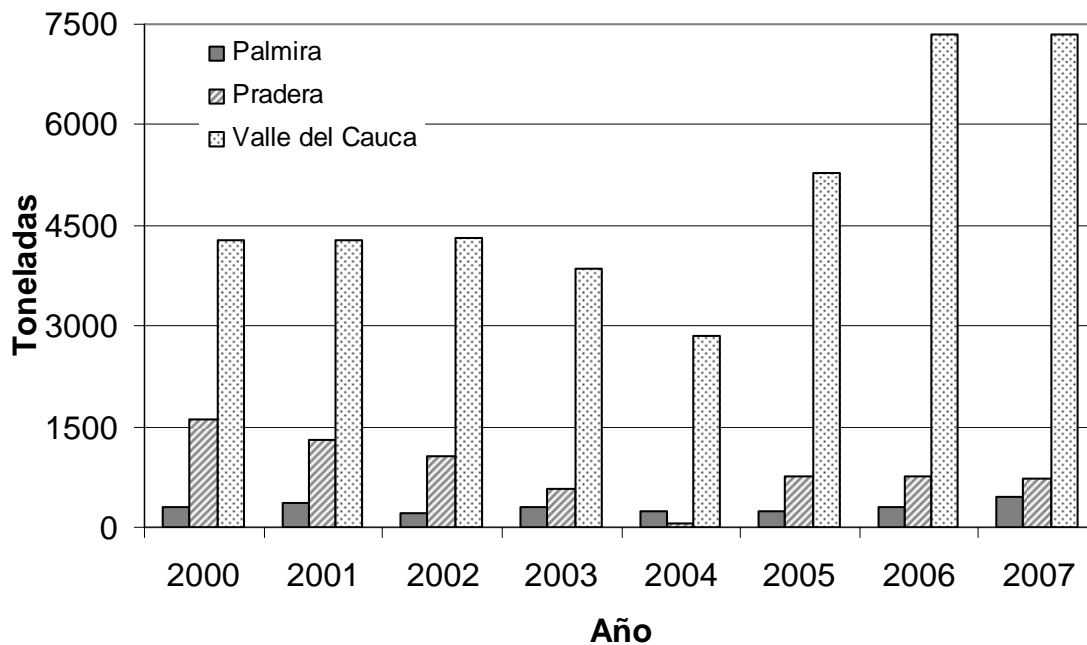


Figura 1: Producción de habichuela para los municipios de Palmira, Pradera y producción total para el Valle del Cauca (toneladas) durante los años 2000-2007. (Fuente: Gobernación del Valle del Cauca, Secretaria de Agricultura-2009).

Los gastos generados por los insumos para hacer un apropiado control sanitario son en promedio del 14%-20% del costo de producción total del cultivo (datos no mostrados, Gobernación del Valle, Secretaria de Agricultura 2009), lo cual trae como consecuencia la disminución en las ganancias que se pueden obtener del cultivo, además del impacto ambiental negativo que puede provocar el uso indiscriminado de agroquímicos.

3.3 LA MOSCA BLANCA: *Bemisia tabaci* (GENN.)

Fue descrita por primera vez sobre tabaco en Grecia (Gennadius 1899, Mound & Halsey 1978), pero es originaria del Oriente (Markham & Bedford 1993). Es más pequeña que otras especies de mosca blanca, como el caso de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), conocida como la mosca blanca de los invernaderos. *B. tabaci* Genn. (Hemiptera: Aleyrodidae) (Figura 2A) fue reconocida como plaga del siglo XX, debido a las grandes pérdidas que causó en regiones agrícolas tropicales y subtropicales de los cinco continentes (Brown 1994).

En 1986, se encontró una nueva forma de *B. tabaci* en plantas de poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*) (Figura 2B). Esta nueva forma, llamada biotipo "poinsettia" o biotipo B, se introdujo al suroeste de los Estados Unidos reemplazando rápidamente la forma original, el biotipo "algodón" o biotipo A (Cock, 1986). En América Latina, el biotipo B es ya la plaga predominante en muchos cultivos alimenticios e industriales.

El término biotipo, aplicado a los insectos, se usa para distinguir entre dos o más poblaciones morfológicamente similares, pero que difieren entre ellas en cuanto a la preferencia del hospedante, tiempo de desarrollo, resistencia a insecticidas y otras características de importancia biológica o ecológica (Byrne & Devonshire, 1993). Los dos biotipos mencionados anteriormente no se pueden diferenciar a

nivel morfológico, por lo cual se debe recurrir al uso de pruebas moleculares, tales como RAPD y SCAR (Morales, *et al.* 2006)

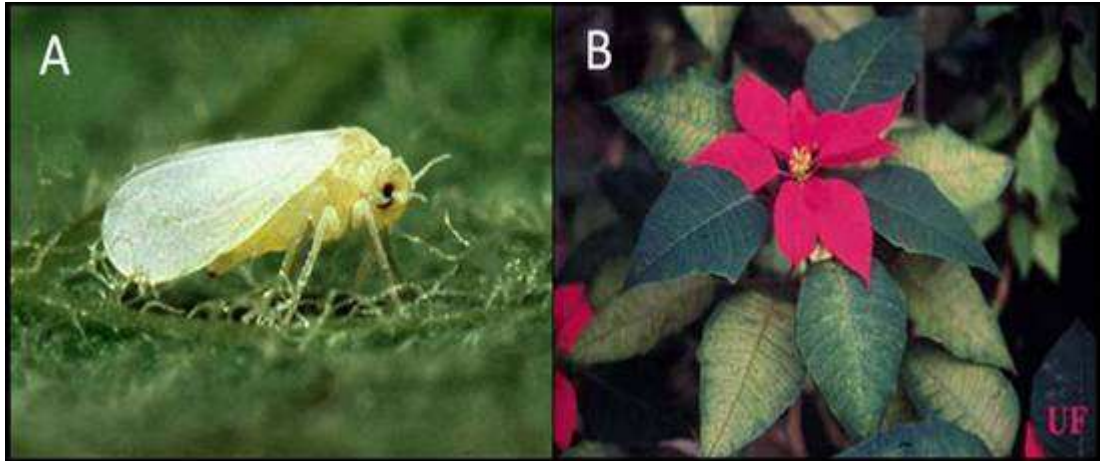


Figura 2: Mosca blanca *B. tabaci* y planta hospedera. **A)** Adulto de *B. tabaci* biotipo B, **B)** Planta de poinsettia presentando clorosis debido a alimentación de los inmaduros de *B. tabaci*. Fuente: Scott Bauer, USDA (A) y Universidad de la Florida (B).

El biotipo B de *B. tabaci* presenta un rango muy amplio de plantas hospederas y una fecundidad mayor que la observada en el biotipo A, lo que conduce a que sus poblaciones sean muy altas. Así mismo, el biotipo B presenta mayor resistencia a insecticidas, lo cual hace que el manejo de poblaciones sea difícil y que el uso incorrecto de los mismos pueda derivarse en la aparición de resistencia a los nuevos insecticidas (Byrne & Devonshire, 1993).

En ambientes tropicales o subtropicales, *B. tabaci* puede producir un promedio de 15 generaciones al año, ovipositando un promedio de 200 huevos en el envés de las hojas en el lapso de 3 a 6 semanas (Morales 2001). Después de un período breve en estado de gateador o 'crawler' y cuatro instares inmóviles, se da la emergencia del adulto. Los inmaduros y adultos pueden causar daños directos

(pérdida de nutrientes en la planta, desordenes fisiológicos o excreciones de melaza, etc.) o indirectos, actuando como vector de un gran número de virus que afectan diversos cultivos (Brown 1994). Según Anderson (2000) y con base en algunos estudios publicados (Arnal *et al.* 1993, Greathead 1986), se infiere que en México, Centro América, el Caribe y Sur América, *B. tabaci* puede completar su ciclo de vida en más de 30 especies de plantas cultivadas (Tabla 4).

Dentro de los principales daños que puede causar el biotipo B de *B. tabaci*, se destacan diversos desordenes fisiológicos, como clorosis en las vainas y pecíolos de la habichuela, maduración irregular en frutos de tomate y el síndrome de la hoja plateada en cucurbitáceas (Morales *et al.* 2006).

3.4 GEMINIVIRUS TRANSMITIDOS POR MOSCA BLANCA

B. tabaci es vector importante de virus reconocidos los cuales se ubican dentro de los géneros Begomovirus (Geminiviridae), Crinivirus (Closteroviridae), Carlavirus (Flexiviridae), e Ipomovirus (Potyviridae). 90% de las especies de virus transmitidos corresponden a begomovirus y por esta razón es uno de los géneros más importantes (Jones 2003).

Los begomovirus son la causa de enfermedades devastadoras en cultivos como algodón, leguminosas de grano y tomate (Duffus 1987, Brown 1994, Morales *et al.* 2000, Varma & Malathi 2003). Los virus transmitidos por *B. tabaci* son en su mayoría del tipo 'semi-persistente', lo cual quiere decir el tiempo de la adquisición y transmisión del virus puede tomar varios minutos o incluso horas, lo cual puede ser ventajoso a la hora de poner en práctica un manejo integrado de plagas y más específicamente el uso de insecticidas sistémicos de nueva generación (Morales *et al.* 2006).

Actualmente, cerca de 150 begomovirus son transmitidos al menos por la mosca blanca *B. tabaci* a más de 20 especies cultivadas de importancia socioeconómica (Morales 2001, Morales et al. 2006). Los virus de la familia *Geminiviridae* consisten de dos partículas casi-isométricas “gemelas” o geminadas, encapsulando una o dos cadenas sencillas de ADN (Stanley et al. 1985).

Tabla 4: Plantas hospederas de *B. tabaci* en América Latina. Fuente: Anderson et al. 2000

Cultivo	Nombre científico
Algodón	<i>Gossypium hirsutum</i>
Batata	<i>Ipomoea batatas</i>
Berenjena	<i>Solanum melongena</i>
Brócoli	<i>Brassica olearacea</i>
Calabazas	<i>Cucurbita argyrosperma, C. maxima, C. moschata y C. pepo</i>
Caupí	<i>Vigna unguiculata (L.) Walp</i>
Chile	<i>Capsicum annuum, C. frutescens</i>
Frijol	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>
Frijol blanco	<i>Phaseolus acutifolius</i>
Frijol lima	<i>Phaseolus lunatus</i>
Girasol	<i>Helianthus annuus</i>
Maní	<i>Arachis hypogaea</i>
Melón	<i>Cucumis melo</i>
Papa	<i>Solanum tuberosum</i>
Pepino	<i>Cucumis sativus</i>
Sandia	<i>Citrullus lanatus</i>
Soya	<i>Glycine max</i>
Tabaco	<i>Nicotiana tabacum</i>
Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>
Yuca	<i>Manihot esculenta</i>

Para poder caracterizar y analizar la variabilidad genética de diversos aislamientos de begomovirus, se han utilizado estudios de infectividad, análisis serológicos, hibridación de ácidos nucleicos, análisis de secuencias y experimentos con pseudo-recombinantes (Murphy *et al.* 1995). Con base en esto, la familia *Geminiviridae* se ha dividido en cuatro géneros (Fauquet *et al.* 2003, Fauquet & Stanley 2003):

Mastrevirus (Maize streak virus): Estos virus se encuentran en el hemisferio oriental, son transmitidos por cicadélidos y se caracterizan por infectar monocotiledóneas. Su genoma monopartito de 2.5-3.0 kb tiene dos marcos (ORF's) de lectura abiertos en sentido viral y dos marcos en sentido complementario, con una región intergénica larga y una corta (Mullineaux *et al.* 1984, Rojas 2000, Varma & Malathi 2003).

Curtovirus (Beet curly top virus): Este virus presenta una distribución mundial, es transmitido por cicadélidos y se caracteriza por infectar dicotiledóneas. Su genoma monopartito tiene tres marcos de lectura abiertos en sentido viral y cuatro en sentido complementario con una región intergénica (Stanley *et al.* 1986, Rojas 2000, Varma & Malathi 2003).

Topocuvirus (Tomato pseudo-curly top virus): Transmitido por el membrácido *Micrutalis malleifera*. Tiene un genoma monopartito con dos marcos de lectura abiertos en sentido viral y cuatro en sentido complementario (Varma & Malathi 2003).

Begomovirus (Bean golden mosaic virus): Estos virus se encuentran distribuidos por todo el mundo. Infectan dicotiledóneas y son transmitidos por la mosca blanca *B. tabaci*. La mayoría tiene genomas bipartitos nombrados como ADN A y ADN B, además de presentar uno o dos marcos de lectura abiertos en sentido viral y cuatro en sentido complementario en el ADN A; mientras que el ADN B tiene un

marco de lectura abierto en sentido viral y uno en sentido complementario. Los dos componentes genómicos comparten una región común que contiene el origen de replicación y las regiones regulatorias para transcripción bi-direccional (Howarth *et al.* 1985, Varma & Malathi 2003).

3.5 PROBLEMAS CAUSADOS POR BEGOMOVIRUS

Los begomovirus transmitidos por la mosca blanca *B. tabaci*, son patógenos de gran importancia económica en cultivos alimenticios e industriales a nivel mundial (Morales *et al.* 2000, Van Regenmortel *et al.* 2000). Además, la facilidad de adaptación del biotipo B ha ampliado el número de huéspedes a cerca de 500 especies, debido básicamente a la capacidad de adaptación climática de este insecto. Los begomovirus son patógenos importantes en regiones agrícolas tropicales y subtropicales, especialmente en América Latina, África y el sudeste Asiático (Brown, 1994). Así mismo, en América Latina, los países más afectados han sido México, los países centroamericanos y caribeños, Venezuela, Argentina y Brasil (Morales & Anderson 2001). Algunos de los principales cultivos afectados son: frijol común, frijol mungo, garbanzo negro de la India, frijol lima, soya, garbanzo, tomate, papa, berenjena, pimienta, chile, melón, sandía, yuca, algodón y papaya (Muniyapa 1980, Brown 1994). Según Varma y Malathi, los síntomas desarrollados en plantas infectadas con begomovirus pueden ser de tres tipos: a) amarillamiento de nervaduras, b) mosaico amarillo y c) arrugamiento foliar (Varma & Malathi 2003). Estos autores plantean además que la frecuencia con la cual nuevos begomovirus están apareciendo es un indicativo que estos virus están evolucionando y plantean una seria amenaza a la sostenibilidad de la agricultura, particularmente en los trópicos y subtrópicos (Brown & Bird 1992, Varma & Malathi 2003).

3.6 BEGOMOVIRUS QUE INFECTAN FRÍJOL COMÚN

Desde la mitad del siglo XX, diferentes geminivirus transmitidos por *B. tabaci* han sido registrados atacando fríjol común *P. vulgaris* en el continente americano (Brown 1994, Morales 2001). El primero de ellos es el virus del mosaico enano del fríjol (BDMV), descrito por primera vez en Brasil (Costa 1965), pero solo demostró su importancia económica alrededor de 1980, cuando causó la pérdida de más de 40000 hectáreas de fríjol común en el noroccidente de Argentina (Morales 2001).

El virus del mosaico dorado del fríjol (BGMV) fue reportado por primera vez en 1961 en Brasil (Costa 1965). Este virus se convirtió en el problema más limitante del fríjol común en Brasil, Argentina y Bolivia en las siguientes dos décadas, debido a la expansión del cultivo de soya (*Glycine max*), el hospedero preferido de *B. tabaci* (Morales 2001).

El virus del mosaico dorado amarillo del frijol (BGYMV) fue considerado inicialmente como BGMV, pero fue posteriormente reconocido como un begomovirus diferente que infecta fríjol común en el sur de México, América Central y la región Caribe (Morales 2001).

El virus del mosaico cálico del fríjol (BCaMV) es un geminivirus transmitido por *B. tabaci* al fríjol común en el noroccidente de México (Brown & Bird 1992). Este begomovirus fue reconocido inicialmente como BGMV, sin embargo, posteriormente se determinó que era una especie diferente pero relacionada con el virus del arrugamiento de la hoja en melón (Loniello *et al.* 1992). El BCaMV causó epidemias en plantaciones de fríjol común en los estados de Sinaloa y Sonora en México (Morales 2000)

Según resultados obtenidos por Morales y Niessen en 1988, se demostró que existen diferentes mecanismos de resistencia al BGMV, BGYMV y los otros geminivirus del frijol. El primero de estos mecanismos de resistencia al BGMV, es el escape a la infección. Esta característica es observada en los materiales de grano negro mesoamericanos, donde típicamente se encuentra un porcentaje de plantas infectadas por el virus, y otro porcentaje que ha escapado la infección. El segundo mecanismo de resistencia es la “Resistencia al amarillamiento” encontrado en Garrapato proveniente del altiplano de México: Esta característica es controlada por el gen recesivo *bgm-1* (Blair & Beaver 1993, Morales 2000)

Otro genotipo de raza mexicana (Durango), en el cual se encontró otro mecanismo de resistencia al BGYMV, fue el Red Mexican 35. Este genotipo reaccionó con “lesiones locales necróticas” a la inoculación mecánica del BGYMV (Morales 2000).

Algunos genotipos andinos de la raza Nueva Granada, presentan un mecanismo de “tolerancia”, definido como la capacidad de producir aceptablemente a pesar de estar sistémicamente infectados por el BGYMV o el BGMV, y manifestar síntomas típicos. Este mecanismo está condicionado por el gen *bgm-2*, presente en genotipos como DOR 303 (Vélez *et al.* 1998, Morales 2000).

Existe otro mecanismo de resistencia que se define como “resistencia a la deformación de vainas”. En la mayoría de genotipos de frijol que forman vainas a pesar de la infección del BGMV/BGYMV, éstas se deforman. En algunos materiales tipo andino, como el Redlands Greenleaf C, las vainas no se deforman a pesar de manifestar síntomas claros de mosaico dorado en el follaje. Recientemente se ha identificado un gen, *Bgp*, asociado a esta característica (Molina & Beaver 1998, Morales 2000, Acevedo Román *et al.* 2004).

Estos diferentes mecanismos de resistencia al BGYMV fueron evaluados en una cruce dialélica completa para estudiar la genética de esta resistencia. Para tal fin, se seleccionaron seis variedades que representan los diversos mecanismos de resistencia: Porrillo Sintético, Pinto 114, Royal Red, Redlands Greenleaf C, Great Northern 31, PVA 1111, y el control susceptible Alubia Cerrillos. Los 28 híbridos F1, sus recíprocos y los ocho progenitores, fueron evaluados por su reacción al BGYMV en condiciones de invernadero. Las diferencias entre los ocho padres fueron significativas, observándose los mayores valores para los componentes de resistencia evaluados en el caso de Alubia Cerrillos (genotipo más susceptible) y los menores para Porrillo Sintético (el más resistente). La habilidad combinatoria general de las fuentes de resistencia fue positiva, lo cual indica que los mecanismos de resistencia se pueden combinar entre razas diferentes de frijol común (Morales & Singh 1991, Morales 2000).

Colombia había estado relativamente libre de problemas causados por begomovirus, pero en los últimos años se han observado ataques severos de estos patógenos en diversos cultivos de importancia socioeconómica para el país, tales como frijol, tomate, pimentón, chile, tabaco y varias cucurbitáceas (Morales *et al.* 2002). En la región del Valle del Cauca, se han presentado brotes de enfermedades virales antes desconocidas en habichuela (Figuras 3, 4) y tomate.

La ocurrencia de epidemias causadas por begomovirus está estrechamente relacionada con la aparición del biotipo B de *B. tabaci* en esta región a finales de la década de 1990 (Quintero *et al.* 1998). Adicionalmente, se viene presentando en los últimos años en el Valle del Cauca una tendencia al incremento de los periodos de sequía, acompañados por mayores temperaturas diurnas, lo cual favorece la reproducción de la mosca blanca *B. tabaci* (Morales *et al.* 2000).



Figura 3: Síntomas característicos provocados por BLCrV en el Valle del Cauca. A) Deformación de vainas, B) Daño total y C) Arrugamiento foliar y enanismo. (Fuente: Entomología de Fríjol, CIAT)



Figura 4: Daño general y pérdidas en producción observado para la habichuela comercial Lago Azul de Ferry en el corregimiento La Tupia, municipio de Pradera (Fuente: Entomología de Fríjol, CIAT)

3.7 MANEJO INTEGRADO DE *B. tabaci*

Los pequeños agricultores generalmente utilizan agroquímicos para el control de la mosca blanca, lo cual puede suponer una disminución en la presencia de virus transmitidos por *B. tabaci* debido principalmente a que estos virus son persistentes y necesitan de un periodo de incubación dentro del insecto antes de poder ser transmitidos a las plantas afectadas por el insecto. En general, los agricultores conocen cerca 30 ingredientes activos que corresponden a 39 marcas diferentes.

Los 10 ingredientes activos más usados por los agricultores, según Rodríguez y Cardona (2001) fueron en su orden: dimetoato, carbofurán, clorpirifós, metamidofós, metomil, profenofós, monocrotofós, cipermetrina, malatión e imidacloprid. Además, como zonas de uso crítico de insecticidas se encontraron el sur y centro del Valle del Cauca (Pradera y Tenerife) en las que se registraron 20 aplicaciones de productos para el control directo e indirecto de moscas blancas, en promedio. Sin embargo, en un estudio llevado a cabo por Rodríguez y colaboradores (2003) se muestra que el uso indiscriminado y excesivo de estos productos químicos ha desencadenado problemas de resistencia de los insectos a los organofosforados y piretroides.

El manejo integrado de plagas necesita ser adoptado por los cultivadores de habichuela en los trópicos, primero utilizando cultivares resistentes al ataque de la mosca blanca y a los virus transmitidos por ella, complementado con prácticas culturales y defensivos de bajo impacto ambiental. Esto podría significar más adelante la reducción en el uso de pesticidas peligrosos, costosos e ineficaces, los cuales son actualmente empleados en tratamientos preventivos (Morales 2001).

3.8 CONTROL GENÉTICO: RESISTENCIA VARIETAL HACIA LOS BEGOMOVIRUS

Después de que en el año 2002 se reportara la existencia del nuevo begomovirus en el Valle del Cauca, se realizaron evaluaciones con 240 genotipos de fríjol común, para determinar cuáles podrían ser usadas como potenciales fuentes de resistencia. Estos materiales fueron sembrados y evaluados en el municipio de Pradera. Las evaluaciones de campo e invernadero de las fuentes de resistencia y el control susceptible (Topcrop), mostraron que la genética de la resistencia al arrugamiento foliar en fríjol es similar a lo reportado para otros begomovirus que

afectan al frijol común. Las mejores fuentes de resistencia al virus se encontraron en genotipos con semilla negra (Ej.: BAT 304, Porrillo Sintético e ICTA Ligero) (Tabla 5). Desafortunadamente, aunque estos genotipos han sido usados ampliamente como fuentes de resistencia a begomovirus en frijoles de tipo arbustivo, la mayoría de variedades volubles o habichuelas no han sido mejoradas para la resistencia a nuevos virus (CIAT 2004).

El genotipo Porrillo Sintético, es de origen salvadoreño raza mesoamericana, con habito de crecimiento II y, como se dijo anteriormente, con semilla de color negro. Igualmente, este genotipo se caracteriza por ser resistente al Virus del mosaico común, calificación intermedia para mancha angular, y reacción intermedia a la infección del BGYMV (40%) (Singh *et al.* 2000). Este genotipo fue una de las primeras fuentes de resistencia en frijol en ser identificadas, debido a la baja expresión de síntomas y al buen rendimiento, razón por la cual ha sido usado como progenitor de las líneas ICTA de grano negro en Guatemala y hace parte de la genealogía de las líneas de grano rojo conocidas como DOR (Muñoz, 2002).

Aunque Porrillo Sintético no es resistente al Virus del mosaico dorado amarillo (BGYMV) cuando se infecta tempranamente, este material tiene una característica interesante que le permite escapar a la infección tardía del BGYMV, generalmente en condiciones de presión baja o moderada de mosca blanca virulífera. En condiciones controladas, la probabilidad de infectar este material a los 10 días de emergido, se reduce al 60%, con relación a la primera semana de vida de la planta. A las dos semanas de edad, Porrillo Sintético, por lo general escapa a la inoculación tardía (Morales & Niessen 1988).

Con respecto a la presencia de genes de resistencia a los síntomas causados por el BGYMV, es necesario destacar que el año 2000, Singh y colaboradores detectaron el SCAR SW12₇₀₀, el cual se encuentra relacionado con un QTL con efecto mayor en la resistencia a este virus. Además, el SW12₇₀₀ detectó el QTL

en DOR 303 y Porrillo Sintético en ese mismo estudio llevado a cabo en el CIAT (Singh et al. 2000).

Tabla 5: Incidencia del arrugamiento foliar en genotipos de frijol seleccionados e inoculados artificialmente usando ocho individuos de *B. tabaci* por planta muestreada. Fuente: Morales & Niessen 1988

Genotipo	Incidencia de Arrugamiento foliar (%)
Topcrop	100
Red Kloud	100
Redlands Greenleaf-C	83.3
Garrapato	54.2
Great Northern 31	33.3
EAP-9510-77	16.7
Rojo Brasil	16.7
Red Mexican 35	4.5
ICTA Ligero	0
Porrillo Sintético	0
BAT 304	0

4. DISEÑO METODOLOGICO

4.1 LOCALIZACIÓN

El presente estudio fue realizado en las instalaciones del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), sección de Entomología de Fríjol bajo condiciones de campo. El CIAT se encuentra localizado en el municipio de Palmira, departamento del Valle del Cauca, a 3° 31`de latitud norte, 76° 20`de longitud oeste; a 1000 m.s.n.m. Las siembras en campo se hicieron además en la Finca el Rocío, vereda La Floresta, municipio de Pradera, Departamento del Valle del Cauca a 3° 42`de latitud norte, 76° 24`de longitud oeste; a 1147 m.s.n.m.

4.2 PRODUCCIÓN DE SEMILLA F₁, P₁ Y P₂.

La primera parte del estudio se llevó a cabo en las instalaciones del CIAT en Palmira. Durante esta primera fase del estudio, se hicieron polinizaciones manuales usando la habichuela “Lago Azul” como hembra. Cada flor polinizada se marcó con una etiqueta (Figura 5). Se polinizaron al menos 150 flores para obtener alrededor de 500 semillas F₁. Esta semillas F₁ fueron cosechadas y almacenadas en cuartos fríos, para evitar ser dañadas por insectos que atacan granos almacenados. Por otra parte, se cosecharon en forma masal, la semilla de

las plantas de Lago Azul (P_1) y de Porrillo Sintético (P_2), las cuales también fueron almacenadas en cuarto frío.



Figura 5: Polinizaciones manuales y marcaje de flores individuales en padre susceptible Lago Azul Ferry usado como hembra. (Fuente: Entomología de Fríjol, CIAT)

4.3 OBTENCIÓN DE SEMILLA F_2 Y DE LOS RETROCRUZAMIENTOS HACIA CADA UNO DE LOS PARENTALES

Esta segunda fase del estudio también se llevó a cabo en las instalaciones del CIAT en Palmira. Se sembraron 12 surcos ubicados en tres repeticiones con una

densidad de 13 semillas por surco para la generación F_1 y para los padres “Porrillo Sintético” y “Lago Azul”. Una vez identificadas las plantas F_1 como híbridos verdaderos, y no como producto de autofecundación, se hicieron cruces manuales, usando polen de la generación filial F_1 , y transfiriéndolo hacia las flores en anthesis de habichuela Lago Azul y Porrillo Sintético, para obtener los retrocruces hacia cada uno de los parentales. Se polinizaron al menos 150 flores para obtener entre 400-500 semillas de cada uno de los retrocruzamientos $RC_1P_1F_1$ y $RC_1P_2F_1$ y cada polinización se marcó con una etiqueta. Así mismo se cosechó la semilla de las plantas F_1 en forma masal para obtener semilla F_2 .

4.4 EVALUACIÓN EN CAMPO DE LAS GENERACIONES F_1 , F_2 , $RC_1P_1F_1$, $RC_1P_2F_1$, P_1 (LAGO AZUL) Y P_2 (PORRILLO SINTÉTICO).

La evaluación de las seis generaciones estaba planeada para realizarse durante el primer semestre del 2006, sin embargo las condiciones ambientales no permitieron que esto se llevara a cabo en el tiempo previsto. Básicamente el periodo de lluvias fue muy extenso y por lo tanto no fue posible encontrar población de mosca blanca para medir los daños causados por el virus que este insecto transmite. Durante el segundo periodo del 2006 las condiciones climáticas fueron más favorables. Sin embargo fue necesario retrasar la siembra hasta la primera semana de octubre debido a que se debió esperar hasta que el nivel de infestación de este insecto fuera lo suficientemente alto en los bordes sembrados con el material susceptible (habichuela “Lago Azul”).

Las evaluaciones de los síntomas del virus se llevaron a cabo en el municipio de Pradera, estableciéndose un ensayo con los siguientes tratamientos: P_1 = Habichuela comercial Lago Azul; P_2 = Fríjol seco centroamericano “Porrillo Sintético”; F_1 = Lago Azul x Porrillo Sintético; $RC_1P_1F_1$ = Lago Azul x (Lago Azul x

Porrillo Sintético) F_1 ; $RC_1P_2F_1$ = Porrillo Sintético x (Lago Azul x Porrillo Sintético) F_1 ; F_2 = (Lago Azul x Porrillo Sintético) F_2 . El diseño estadístico fue de bloques completos al azar (BCA) con 3 bloques y dentro de cada bloque estaban representadas las 6 generaciones obtenidas, las cuales se distribuyeron aleatoriamente. Las parcelas variaron en tamaño según se tratase de generaciones de constitución genética uniforme (las dos líneas parentales y la generación filial F_1), conformando la parcela 13 plantas por surco y 5 surcos por bloque; mientras que para las generaciones segregantes (generación filial F_2 y retrocruces hacia los parentales) el tamaño de parcela fue duplicado (10 surcos por 13 plantas por surco). Las variables evaluadas durante la época de floración (38 DDS) fueron 'mosaico', 'deformación foliar' y 'enanismo'. La última variable evaluada fue 'deformación de vainas' (50 DDS)

Manejo del experimento: El lote utilizado para evaluar las progenies había sido sembrado con maíz anteriormente. Para garantizar una adecuada densidad de mosca blanca, fue necesario sembrar bordes con una variedad de habichuela susceptible (Lago Azul Ferry).

4.5 OBTENCIÓN DE DATOS MEDIANTE EVALUACIÓN DE SÍNTOMAS EN CAMPO

Durante la primera evaluación en campo (35 DDS) se midieron las características de 'mosaico', 'deformación foliar' y 'enanismo'. Además, durante esta primera evaluación fue necesario obtener una muestra de 50 folíolos recorriendo el lote en forma de Z, para determinar cuál era el promedio de ninfas observadas durante la evaluación (Figura 6). La obtención de la densidad de población de la mosca es importante, ya que se busca ante todo que no se presenten escapes en los materiales y que la densidad de mosca sea lo más homogénea. En la segunda evaluación se midió la característica de 'deformación de Vainas' (50 DDS).



Figura 6: Población de *B. tabaci*. Conteo en el envés de las hojas para determinar la densidad poblacional.

El método seguido en el CIAT ha buscado relacionar los principales síntomas causados por geminivirus con los diferentes mecanismos de resistencia. Los principales parámetros que se quisieron medir fueron:

- Mosaico: Intensidad y área de amarillamiento.
- Enanismo: Reducción en el crecimiento de la planta.
- Deformación foliar de la planta: Lo cual afecta directamente el rendimiento.
- Deformación de vainas: Semillas producidas en vainas deformes pueden ser de mala calidad.

4.6 SÍNTOMAS CARACTERÍSTICOS CAUSADOS POR EL VIRUS

Toda la evaluación de los parámetros se realizó mediante observación visual de los síntomas del virus, planta por planta y registro de su reacción, de acuerdo con

la escala de daños usada en la Unidad de Virología del CIAT, calificando plantas resistentes con el valor mínimo (1) y plantas susceptibles con el máximo valor (5) (Morales 2000). Teniendo en cuenta los síntomas que causa el nuevo virus, los cuales pueden ser: mosaico, deformación foliar, enanismo y deformación de vainas, se estableció una calificación con rango entre 1-5, calificando 1-2 a aquellas plantas que no presentan ningún síntoma (resistentes), 3 para las plantas con calificación intermedia y 4-5 para aquellas plantas totalmente afectadas por los síntomas causados por el virus (Figuras 7, 8 y 9).



Figura 7: Síntomas observados para el parental resistente “Porrillo Sintético”. A) Muy poco amarillamiento (Calificación 2), sin deformidad de vainas (Calificación 1) y sin enanismo (Calificación 1), B) Comportamiento intermedio de “Porrillo Sintético” con calificación de 2 para ‘mosaico’, 3 para ‘deformación foliar’ y 1 para ‘enanismo’.

Después de determinar el rango dentro del cual se debía calificar cada una de las generaciones, se procedió a realizar la evaluación individual para cada una de las plantas con respecto a las tres características que se midieron en la primer evaluación: ‘mosaico’, ‘deformación foliar’ y ‘enanismo’.

Dos semanas después se procedió a obtener los datos individuales para la última característica evaluada la ‘deformación de vainas’. Los datos obtenidos para cada una de los síntomas se encuentran en las tablas 7, 8, 9 y 10 en donde se compila la información de promedios, varianzas estimadas, y desviaciones estándar.



Figura 8: Síntomas observados para el parental susceptible “Lago Azul,”. A) Surcos muy afectados, con calificaciones por encima de 3 para ‘mosaico’, ‘deformación foliar’ y ‘enanismo’. B) La máxima calificación obtenida para la línea comercial habichuela “Lago Azul Ferry” es 5 para cada una de las características mencionadas anteriormente.

4.7 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN.

Se realizó un análisis de varianza siguiendo el procedimiento GLM, mediante el paquete estadístico SAS para determinar diferencias significativas entre cada uno de las generaciones con respecto a cada una de las características presentadas en plantas susceptibles como respuesta al virus (mosaico, deformación, etc.). Una

vez determinada la diferencia significativa entre generaciones fue necesario realizar una prueba de diferencias mínimas significativas (LSD) ($P \leq 0.05$) para establecer cuáles eran las generaciones que más diferían dentro del estudio para cada una de las variables estudiadas. Posteriormente se hizo correlación de síntomas mediante el paquete estadístico de SAS (Correlación de Pearson) y finalmente se inicio el análisis genético de la información.



Figura 9: Evaluación de vainas para determinar el rango de deformación. A) Vainas poco afectadas por la deformación, con una calificación de 2-3 B) Calificación de 5 para el síntoma de deformación de vainas, cuando se presenta una curvatura marcada, provocada por el virus.

4.8 ANÁLISIS GENÉTICO

4.8.1 Cuantificación de la variación por el método de retrocruzamiento

El fin que se tiene al usar la cuantificación de variación por el método de retrocruzamiento es separar los componentes de la varianza genotípica. Para tal fin, debe cuantificarse cuanta proporción de la variación fenotípica es debida a efectos ambientales y cuanto se debe a efectos genéticos, donde $F = G + E$. De esta manera, las varianzas ambiental y genéticas según lo sugerido por Vallejo y Estrada (2002) se obtienen de la siguiente manera:

- **Varianza ambiental**

$$V. E. = 1/3 (V. P_1 + V. P_2 + V. F_1)$$

La varianza ambiental se obtuvo a partir de las varianzas observadas para las generaciones no segregantes, en este caso a partir de los parentales y la generación filial F_1 .

- **Varianza genética de la generación segregante F_2**

$$V. G. F_2 = V. F. F_2 - V. E.$$

La varianza genética de la generación filial F_2 se obtuvo mediante la substracción de la varianza fenotípica observada para la generación filial F_2 y la varianza ambiental (V. E).

- **Varianza aditiva**

$$V. A. = 2(V. F. F_2) - (V. F. RCP_1F_1 - V. F. RCP_2F_1)$$

La varianza aditiva se obtuvo por medio de las varianzas observadas de la generación segregante F_2 y de las retrocruzas hacia cada uno de los parentales. Este cálculo me permite estimar cuanta proporción de la variación genotípica es fijable en la generación filial segregante F_2 .

- **Varianza de dominancia**

$$V. D. = (V. F. RCP_1F_1 + V. F. RCP_2F_1) - V. F. F_2 - V. E.$$

La varianza de dominancia se obtuvo por medio de las varianzas de las retrocruzas hacia los parentales, la varianza observada para la generación

segregante F_2 y la varianza ambiental. La varianza de dominancia es una medida de la variación no fijable y que hace parte de la varianza genotípica observada para las generaciones segregantes.

- **Heredabilidad en sentido estrecho**

$$h^2_e = V. A. / V. A. + V. D. + V. E.$$

La heredabilidad en sentido estrecho se obtuvo al dividir solamente el componente aditivo de la varianza genética y dividido entre la varianza fenotípica de la F_2 , la cual a su vez se compone de las varianzas ambiental, de dominancia y la ambiental. La variabilidad en sentido estrecho determina cuanta proporción de la variación genética es fijable o heredable en las generaciones segregantes.

- **Heredabilidad en sentido amplio**

$$h^2_a = (V. A. + V. D.) / V. A. + V. D. + V. E.$$

En este caso, la heredabilidad en sentido amplio se calculó utilizando el componente aditivo y de dominancia del total de la varianza genética de la generación segregante F_2 y dividido entre la varianza fenotípica de la F_2 .

- **Cálculo del número de genes**

$$\# \text{ Genes} = (\bar{P}_1 - \bar{P}_2)^2 / 8 * V. G. F_2$$

El cálculo del número de genes se realizó mediante los promedios observados para los padres y con base en la varianza genética calculada para la generación segregante F_2 .

4.8.2 Gráfica de distribución de frecuencias y estudios de segregación

La distribución de frecuencias se hizo inicialmente para evaluar visualmente cual era el rango de distribución de las calificaciones hacia los diferentes síntomas con respecto a las calificaciones visuales obtenidas por los parentales. Posterior a

esto se realizaron estudios de segregación para evaluar la forma en que segregaban cada una de las características. Para tal fin se obtuvieron los siguientes datos: Total, media, desviación, plantas resistentes vs. susceptibles (observadas) de la generación segregante F_2 , plantas resistentes vs. susceptibles (esperadas), y Chi cuadrado.

4.8.3 Medias generacionales

El análisis de medias generacionales se hizo por separado para cada una de las características. Se determinó si los datos obtenidos se ajustaban a un modelo aditivo-dominante. Para tal fin, se tomó el origen (m), como punto medio o promedio del fenotipo de las dos líneas homocigotos. Los parámetros que se definieron fueron: a = distancia de cada uno de los homocigotos al punto medio m y d = distancia del heterocigoto (F_1) al punto medio m . Los componentes esperados para las medias de las generaciones evaluadas en términos de m , $[a]$, $[d]$ y asumiendo ausencia de epistasis se encuentran en la tabla No. 6.

Tabla 6: Componentes esperados para las medias de las generaciones evaluadas en términos de m , $[a]$, $[d]$ y asumiendo ausencia de epistasis

Generación	Fenotipo		
	m	$[a]$	$[d]$
P_1	1	1	0
P_2	1	-1	0
F_1	1	0	1
F_2	1	0	1/2
$RC_1P_1F_1$	1	1/2	1/2
$RC_1P_2F_1$	1	-1/2	1/2

Para comprobar la validez del modelo $= m + a + d$, se utilizó la prueba de escalas agrupadas. Esta prueba es una metodología general, en donde se calculan los parámetros m , $[a]$ y $[d]$ a partir de los promedios de todas las generaciones disponibles, seguido de una comparación entre esas medias observadas y las medias estimadas en función de los parámetros genéticos citados antes. Esta prueba se puede hacer de dos maneras, mediante el análisis de regresión suministrado por el paquete estadístico SAS o mediante forma matricial, según lo recomendado por Ceballos 1998 (ver tablas 19, 20, 21 y 22 en sección de Resultados y Discusión).

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 EVALUACIÓN DE LA DENSIDAD DE POBLACIÓN DE *B. TABACI* EN PRADERA

Para determinar si la población de *B. tabaci* era la adecuada en el campo, se tomaron 50 foliolos al azar siguiendo un recorrido en Z, anotando el promedio de inmaduros que se encontraban dentro del ensayo (Figura 5). Para el trayecto norte, se tomaron 12 foliolos, encontrándose entre 84 -1684 insectos en estado inmaduro. Para el lado sur del recorrido también se tomaron 12 foliolos al azar y se contaron entre 18-1656 inmaduros y, finalmente, en el recorrido de la diagonal, se tomaron 26 muestras, contándose entre 12-2093 inmaduros, lo cual da un promedio general de 471 insectos en estado inmaduro/foliolo dentro del ensayo. Después de determinar la densidad de la población del insecto se realizó la evaluación visual de los síntomas causados por el nuevo virus.

5.2 CALIFICACIÓN DE SÍNTOMAS OBSERVADOS EN CAMPO PARA CADA GENERACIÓN

A continuación se muestran los valores obtenidos para el total de plantas evaluadas en cada generación, los valores promedio de los síntomas evaluados, las varianzas estimadas y las desviaciones estándar, compilados en las tablas 7, 8, 9 y 10. Estos valores fueron utilizados posteriormente para el análisis de varianza y determinar diferencias significativas entre generaciones (Tabla 11).

Tabla 7: Generaciones, promedios y varianzas para el síntoma mosaico.

Generación	No. plantas	Promedio	Varianza estimada	Desviación estándar
P₁	122	4.238	0.497	0.705
P₂	150	2.080	0.114	0.338
F₁	148	3.095	0.821	0.906
F₂	243	2.523	0.589	0.768
RC₁P₁F₁	253	3.134	0.561	0.749
RC₁P₂F₁	323	2.198	0.178	0.422

Tabla 8: Generaciones, promedios y varianzas para el síntoma deformación foliar.

Generación	No. plantas	Promedio	Varianza estimada	Desviación estándar
P₁	122	4.107	0.922	0.960
P₂	150	1.273	0.401	0.633
F₁	148	2.865	0.675	0.822
F₂	243	2.144	1.289	1.135
RC₁P₁F₁	253	3.043	0.812	0.901
RC₁P₂F₁	323	1.551	0.714	0.845

5.3 ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBA DE DIFERENCIAS MÍNIMAS SIGNIFICATIVAS

Para las cuatro características evaluadas se observaron diferencias significativas para las generaciones evaluadas, por lo tanto se hizo necesario realizar una prueba de diferencias mínimas significativas (Tabla 12) para determinar cuáles

eran los genotipos que más diferían para cada uno de los síntomas dentro del estudio.

Tabla 9: Generaciones, promedios y varianzas para el síntoma enanismo.

Generación	No. plantas	Promedio	Varianza estimada	Desviación estándar
P₁	122	3.541	0.564	0.751
P₂	150	1.227	0.378	0.615
F₁	148	2.574	0.586	0.766
F₂	243	1.844	1.132	1.064
RC₁P₁F₁	253	2.893	0.850	0.922
RC₁P₂F₁	323	1.378	0.584	0.764

Tabla 10: Generaciones, promedios y varianzas para el síntoma deformación de vainas.

Generación	No. plantas	Promedio	Varianza estimada	Desviación estándar
P₁	122	4.730	0.199	0.446
P₂	150	2.573	0.716	0.846
F₁	148	3.595	0.542	0.736
F₂	243	3.486	1.102	1.050
RC₁P₁F₁	253	4.510	0.465	0.682
RC₁P₂F₁	323	2.963	0.446	0.668

Tabla 11: ANOVA para cada síntoma evaluado en las generaciones obtenidas del cruce “Lago Azul” X “Porrillo Sintético”.

Fuente de variación	G. L	Mosaico		Deformación foliar		Enanismo		Deformación de vainas	
		C. M ^a	F calc ^b	C. M ^a	F calc ^b	C. M ^a	F calc ^b	C. M ^a	F calc ^b
Generación	5	11.083	76.05 **	20.448	118.77 **	16.077	130.95 **	14.391	119.98 **
Bloque	2	2.003	4.60 ^{N.S}	1.999	11.61 **	0.069	0.57 ^{N.S.}	0.235	1.96 ^{N.S.}
Rep * bloque	3	1.059	7.22 *	0.831	4.83 ^{N.S}	0.297	2.42 ^{N.S.}	0.378	3.16 ^{N.S.}
	R²	0.775		0.841		0.848		0.837	
	C. V.	13.703		17.214		16.023		9.498	

^a C.M.: Cuadrado Medio, ^b Fcal: Valor de F calculado, ** Significancia al 1%, R²: Coeficiente de determinación, C. V.: Coeficiente de Variación

Al realizar la prueba LSD para determinar diferencias entre generaciones se observaron valores contrastantes para los padres con respecto a cada uno de los síntomas evaluados. En cuanto al síntoma ‘mosaico’, las generaciones que presentaron valores por debajo de 3, es decir aquellas generaciones que presentaron resistencia moderada o intermedia a este síntoma fueron: P₂ Porrillo Sintético, la generación filial F₂ y la RCP₂F₁ y las generaciones más susceptibles a este síntoma fueron la generación filial F₁, la RCP₁F₁ y el padre susceptible ‘Lago Azul’.

Al evaluar la variable ‘deformación foliar’, las generaciones P₂, F₁, F₂ y RCP₂F₁ también presentaron valores por debajo de 3, es decir presentaron resistencia o fueron considerados intermedios para este síntoma y aquellas generaciones que presentaron susceptibilidad con respecto a esta variable fueron P₁ y RCP₁F₁.

Tabla 12: Prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para las poblaciones derivadas del cruce “Lago Azul” X “Porrillo Sintético”.

Generación	Mosaico	Deformación foliar	Enanismo	Deformación vainas
P₁	4.20a ¹	4.10a	3.54a	4.73a
P₂	2.09d	1.27e	1.22e	2.57f
F₁	3.14b	2.90b	2.60c	3.59c
F₂	2.52c	2.14c	1.84d	3.49d
RCP₁F₁	3.13b	3.04b	2.89b	4.51b
RCP₂F₁	2.19d	1.55d	1.38e	2.96e

¹ Valores de las medias con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes

Con respecto a la variable ‘enanismo’, las generaciones con calificación por debajo de 3 fueron todas con excepción de la generación P₁. Sin embargo es necesario hacer la claridad de que hubo diferencias claras entre los dos parentales, pero los rangos obtenidos son más bajos que con respecto a las dos variables evaluadas anteriormente, lo cual puede ser un indicativo de que esta característica no es crucial a la hora de determinar los daños causados por este nuevo virus.

Para el síntoma de ‘deformación de vainas’, las calificaciones en general fueron más altas para todas las generaciones con respecto a los síntomas que fueron evaluados tempranamente, presentando los valores más bajos, el padre resistente y la retrocruza hacia este padre RCP₂F₁. Estos altos valores pueden explicarse como consecuencia de la prolongación del ataque por *B. tabaci* y en consecuencia de la mayor exposición al virus.

5.4 CORRELACIÓN DE VARIABLES

Haciendo uso del paquete estadístico SAS fue posible obtener correlaciones para las variables evaluadas dentro del estudio las cuales se muestran en la tabla 13. La estimación de las correlaciones se hizo mediante los coeficientes de correlación de Pearson. Según se observa en esta tabla, todas las variables se encuentran altamente correlacionadas unas con otras lo cual es un buen indicador de la exactitud en la medición visual de los diferentes síntomas generados por el virus y además sugiere que no es necesario esperar hasta un desarrollo avanzado de la planta en el que se pueden evaluar los daños causados a las vainas para asegurar que se está hablando del nuevo virus sino que el reconocimiento se puede dar simplemente usando cualquiera de las otras tres características evaluadas en la etapa temprana. Así mismo esta alta correlación entre variables es un buen indicador para la selección de materiales, ya que la respuesta de selección hacia una variable puede afectar positivamente la selección de cualquier otra variable involucrada en la respuesta de resistencia al virus.

Tabla 13: Coeficientes de Correlación de Pearson para los síntomas evaluados

VARIABLES	Deformación foliar	Enanismo	Deformación de vainas
Mosaico	0.906 **	0.865 **	0.745 **
Deformación foliar		0.902 **	0.822 **
Enanismo			0.880 **

** Altamente significativo (Prob. < .0001)

5.5 ANÁLISIS GENÉTICO DE LA INFORMACIÓN.

5.5.1 Cuantificación de la variación por el método de retrocruzamiento

Con la información disponible basada en los promedios y varianzas estimadas de los progenitores Lago Azul y Porrillo Sintético, y de las generaciones filiales F_1 , F_2 , y las retrocruzas RCP_1F_1 y RCP_2F_1 se puede hacer un bosquejo general sobre los componentes de la variación genética obtenidos para cada uno de los síntomas evaluados, el cual se encuentra en la tabla 14.

La variación ambiental para la característica 'mosaico' y 'deformación foliar' fue más alta que la varianza genética, lo que pudo influir en la segregación observada dentro del campo para estos síntomas. Así mismo, la tabla anterior muestra la gran importancia de la varianza aditiva dentro del componente genético, lo cual es positivo porque la herencia de la resistencia a cada uno de los síntomas puede ser fácilmente transferible a las generaciones filiales y esto es ratificado de nuevo por las altas heredabilidades observadas teniendo en cuenta solo el componente aditivo de la variación genética. Sin embargo, resulta poco claro el hecho de que las varianzas de dominancia hayan dado negativas para la evaluación de cada uno de los síntomas. Con base en el número de genes encontrados mediante la cuantificación de la variación se realizó el estudio de segregación para determinar si efectivamente los datos se ajustaban a lo teóricamente planteado.

Tabla 14: Componentes de la variación genética para los síntomas evaluados. Datos obtenidos mediante cuantificación de la variación por el método de retrocruzamiento.

Síntomas	V. F. F ₂	V. E.	V. G. F ₂	V. A.	V. D	h _e	h _a	#. genes
Mosaico	0.59	0.48	0.11	0.44	-0.33	0.74	0.19	5
Def. foliar	1.29	0.66	0.63	1.05	-0.42	0.81	0.49	2
Enanismo	1.13	0.51	0.62	0.83	-0.21	0.73	0.55	1
Def. vainas	1.10	0.49	0.61	1.29	-0.68	1.17	0.55	1

V. F. F₂= Varianza fenotípica de la generación filial F₂, V. E. = Varianza ambiental, V. G. F₂= Varianza genética de la generación filial F₂, V. A.= Varianza aditiva, V. D.=Varianza de dominancia, h_e= Heredabilidad en sentido estrecho, h_a= Heredabilidad en sentido amplio.

Posterior a este primer paso del análisis de varianza, la determinación de diferencias mínimas significativas entre generaciones, y la correlación de variables, se realizó el análisis genético de la información, el cual consistió de un análisis gráfico de la distribución de frecuencias para la generación segregante F₂ y un estudio de segregación mendeliana mediante prueba de χ^2 y mediante análisis de medias generacionales.

5.5.2 Distribución de frecuencias para los padres y la generación segregante F₂

Se realizaron gráficas de distribución de frecuencias para cada uno de los síntomas en donde se muestran los valores observados para los padres y la

generación segregante F_2 (Figura 9). En esta figura se encuentran compiladas las observaciones hechas para cada uno de los síntomas, en donde se muestra una tendencia de la generación filial F_2 a tener un comportamiento intermedio para cada uno de los síntomas con respecto a los valores encontrados en los padres, por lo cual se supone que la herencia observada para cada una de las características puede deberse a pocos genes y por tal razón las comparaciones se empezaran con los modelos genéticos que muestren la interacción entre dos genes según lo planteado por Muñoz (2002) en el caso del estudio de herencia de la resistencia al virus del mosaico dorado amarillo del frijol.

Al observar los valores de los parentales Porrillo Sintético y Lago Azul puede decirse que hay una segregación de los parentales con base en los cuatro síntomas evaluados, lo cual sugiere que esos parentales muestran limitaciones para la determinación de la herencia de la resistencia a los síntomas provocados por BLCrV. Al comienzo del estudio se asumió que Porrillo Sintético y Lago Azul eran líneas puras, ya que así lo han demostrado con respecto a características agronómicas. Sin embargo, la segregación observada puede ser el resultado del extensivo mejoramiento de estas variedades hacia las características de interés agronómico más no hacia factores bióticos como es el caso del BLCrV

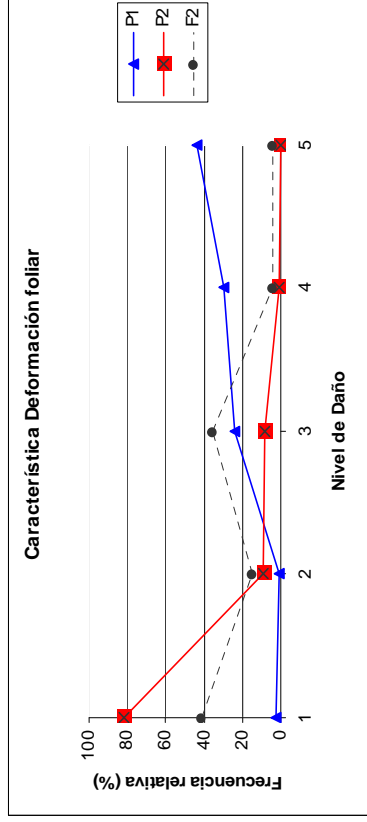
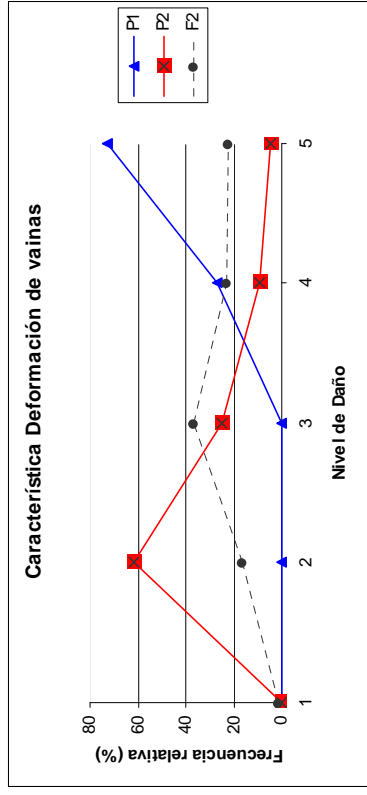
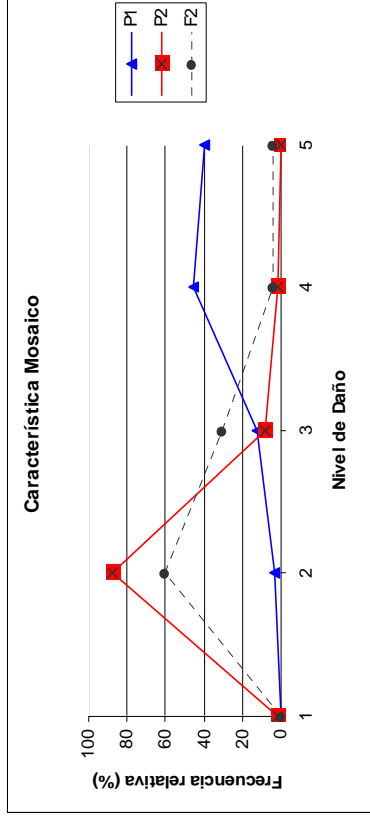
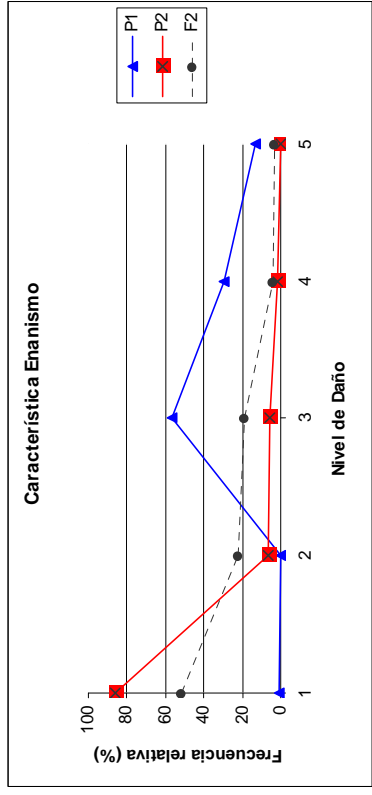


Figura 10: Distribución de frecuencias para los padres y la generación segregante F2 para cada uno de los síntomas. P1= “Lago Azul Ferry ®” (Susceptible), P2= Porrillo Sintético (Resistente) y F2= Generación filial segregante F2.

5.5.3 Estudio de segregación mendeliana mediante prueba de Chi-cuadrado (χ^2)

Teniendo en cuenta lo obtenido en la parte de la cuantificación de la variación por retrocruzamientos, se asumió que el número de genes resistentes para 'mosaico' 'deformación foliar', 'enanismo' y 'deformación de vainas' era de 5, 2, 1 y 1 respectivamente. Así mismo, el estudio de segregación mendeliano permitió comparar los valores observados y esperados en plantas resistentes y susceptibles, en donde se hizo uso de una prueba χ^2 con el fin de determinar un modelo genético que se ajustara al comportamiento observado. En la tabla 15 se pueden observar las frecuencias observadas en la generación filial segregante F_2 del cruce Lago Azul Ferry/ Porrillo Sintético, con respecto a cada uno de los síntomas evaluados.

Tabla 15: Distribución de frecuencias para la generación segregante F_2 con respecto a los síntomas provocados por el BLCrV

Calificación	Mosaico	Deformación foliar	Enanismo	Deformación de vainas
1	0	101	126	3
2	147	36	54	40
3	75	86	46	90
4	11	10	9	56
5	10	10	8	54
Total	243	243	243	243

◆ **Síntoma 'mosaico'**

Como se dijo anteriormente, se asumió que el número de genes involucrados en la herencia de la resistencia al síntoma 'mosaico' era el mismo que se obtuvo mediante la cuantificación de la variación genética al hacer uso del método de retrocruzamiento. Según esa estimación, son cinco genes los que actúan para la herencia de la resistencia a este síntoma. Con base en la teoría, tenemos las siguientes ecuaciones:

Genes: $n = 5$,

El número de gametos = $2^n = 32$

Las combinaciones totales para la generación segregante $F_2 = 4^n = 1024$

Combinaciones diferentes de la generación segregante $F_2 = 3^n = 243$

Las líneas observadas en $F_2 = 2^n = 32$

Al comienzo del estudio se asumió que la herencia de la resistencia podría estar dictada por pocos genes, sin embargo para el caso particular de 'mosaico' los cálculos sugieren la acción de cinco genes. Una de las principales limitantes que se tienen en este caso es que la generación segregante F_2 cuenta con una representación de 243 plantas, que en este caso sería igual al número de combinaciones diferentes que se podrían observar para este síntoma y asumiendo la herencia poligénica. Por lo tanto el número de plantas evaluadas no fue suficiente en este caso. Más adelante, mediante el análisis de medias generacionales se tratará de dar una explicación a las observaciones realizadas para este síntoma.

Al estudiar el tipo de herencia de la resistencia para el mosaico dorado amarillo del fríjol, en estudio llevado a cabo en Puerto Rico (Muñoz 2002), el modelo que se obtuvo fue para dos genes en la proporción 9:6:1 o modelo de genes dominantes

con efectos aditivos, en el caso de líneas $F_{2:3}$ de “Arroyo Loro/I9557”. Sin embargo, en una investigación realizada en el año 2007 por Carmenza Montoya, como tesis de maestría de la Universidad Nacional de Colombia y en la cual se buscaba incorporar resistencia al BLCrV mediante un programa de retrocruzamientos y con asistencia de marcadores moleculares, no fue posible correlacionar la herencia de la resistencia al mosaico conferida por dos variedades centroamericanas Amadeus-77 y Tío Canela-75. En esta investigación se llegó a la conclusión de que los genes que actuaban hacia la resistencia eran diferentes a los genes marcados con SCAR SDOR21 y SCAR SW12.

◆ **Síntoma ‘deformación foliar’**

Con respecto a las características ‘deformación foliar’, las proporciones observadas se ajustaron al modelo 9:6:1 o modelo de genes dominantes con efectos aditivos, donde la dominancia es ejercida por el padre resistente Porrillo Sintético, según se muestra en la tabla 16. Así mismo, con respecto a ‘deformación foliar’, las proporciones observadas de la generación filial F_1 se ajustan a los valores esperados teniendo en cuenta la interacción de genes dominantes con efectos aditivos, que sería 1:2:1, donde el 25% de la población evaluada presento valores característicos del padre susceptible, 50% presento valores intermedios y el restante 25% presento valores del padre resistente.

Tabla 16: Prueba de χ^2 para deformación foliar en la generación segregante F_2

Calificación	Proporción esperada	Deformación foliar		
		Observado	Esperado	Chi-cuadrado
Resistentes (1-2)	9	137	136.69	0.00068
Segregantes (3)	6	86	91.12	0.28
Susceptibles (4-5)	1	20	15.19	1.53
	Total	243	243	1.81^{N.S.}

◆ **Síntoma ‘enanismo’**

Para el caso de la característica de enanismo, las frecuencias observadas, esperadas y la prueba de χ^2 se presentan en la tabla 17. Las proporciones obtenidas en este caso se ajustaron a un modelo 3:1, frecuencia clásica para la acción de un gen.

Tabla 17: Prueba de χ^2 para enanismo en la generación segregante F_2

Calificación	Proporción esperada	Enanismo		
		Observado	Esperado	Chi-cuadrado
Resistentes (1-2)	3	180	182.25	0.027
Susceptibles (3-5)	1	63	60.75	0.083
	Total	243	243	0.110^{N.S.}

En una investigación llevada a cabo en el 2005 por un grupo de investigación en España se encontró un gen dominante asociado a la resistencia al begomovirus monopartito causante del Virus del arrugamiento foliar amarillo en Tomate (TYLCV). Este virus se caracteriza por afectar frijol común, causando la enfermedad foliar en frijol *P. vulgaris*, manifestada como enanismo, proliferación anormal de raíces, reducción de entrenudos, adelgazamiento y arrugamiento de hojas infectadas, abortos florales y deformación de vainas (Monci et al. 2005). Sin embargo, para el caso del BLCrV, el estudio de los síntomas y su herencia solo se registro herencia monogénica dominante con respecto al síntoma de enanismo.

◆ **Síntoma ‘deformación de vainas’**

Con respecto a la última característica evaluada, deformación de vainas, los datos observados, esperados y la prueba de χ^2 se encuentran en la tabla 18. En este caso las proporciones se ajustaron a un modelo 3:1 o segregación clásica para un gen, donde la resistencia se encuentra en forma recesiva y lo cual se puede confirmar respecto a los datos observados para la generación filial F_1 y al cruzamiento prueba hacia el parental Lago Azul, donde todas las plantas obtenidas mostraron susceptibilidad hacia la deformación. Sin embargo, el cruzamiento prueba hacia el padre Porrillo sintético presenta datos conflictivos con los esperados, lo cual puede ser producto de la segregación observada del padre resistente con respecto a este síntoma.

Tabla 18: Prueba de X^2 para deformación de vainas en la generación segregante F_2

Calificación	Proporción esperada	Deformación de vainas		
		Observado	Esperado	Chi-cuadrado
Resistentes (1-2)	1	43	60.75	5.18
Susceptibles (3-5)	3	200	182.25	1.73
	Total	243	243	6.90^{N. S}

En el 2004, Acevedo-Román y colaboradores estudiaron la herencia a la resistencia del BGYMV con respecto al síntoma de la deformación de vainas en una cruce entre las líneas PR9556-158 (susceptible a deformación de vainas) y PR9556-171 (vainas normales). En este estudio se concluyó que la herencia de la resistencia a este síntoma estaba regida por un gen dominante denominado *Bgp-1*. Sin embargo los datos encontrados para la herencia del nuevo virus BLCrV contrastan con lo encontrado para la resistencia a deformación causada por BGYMV en Puerto Rico.

En una extensa revisión de literatura hecha en el 2005 por Kang y colaboradores sobre la genética de la resistencia a virus en plantas se reportaban varios genes de resistencia a varios grupos de virus para el caso particular del frijol común, dentro de los que se encontraban, el gen dominante *Bdm* que provoca respuesta hipersensitiva al BDMV (Begomovirus) (Sudarshana et al. 1997, Wang et al. 1999, Garrido-Ramírez et al. 2000, Seo et al. 2002, Seo et al. 2004); el gen *Bgp-1* responsable de formación normal de vaina y resistente al BGMV (Begomovirus) (Acevedo-Román et. al 2004); dos genes recesivos *bgm-1* y *bgm-2*, con reducción de síntomas causados por BGMV y detectados mediante el marcador OR2 (Vélez

et al. 1998). Así mismo se reportaba resistencia monogénica dominante a varios virus del grupo potyvirus y fabavirus para el caso particular del frijol común (Kang et al. 2005). Sin embargo el principal problema que se ha presentado con la variedad Porrillo Sintético es que ha mostrado ser resistente a la infección por virus, para el caso particular del BGYMV mostrando clorosis tardía cuando la presión del virus es baja, pero bajo condiciones de presión severa la resistencia se ha roto lo cual ha significado pérdidas importantes en rendimiento (Singh 2000, Lapidot & Friedmann, 2002).

5.5.4 Estudio de medias generacionales

Debido principalmente a la falta de claridad sobre el número de genes involucrados en la segregación mendeliana, fue necesario complementar esta investigación con el estudio de medias generacionales el cual permite explicar cuáles son los efectos genéticos más importantes que dominan sobre la herencia de la resistencia al BLCrV y específicamente, sobre cada una de las características evaluadas. En primera instancia, lo que se buscó con este tipo de estudio fue explicar los efectos genéticos con base en el modelo más simple, basado en el efecto de la media, el efecto aditivo y el de dominancia, sin tener en cuenta los efectos de interacción. A continuación se muestran los cálculos hechos mediante una prueba de escalas agrupadas, la cual se basa en realizar una prueba χ^2 para los datos esperados mediante el modelo m, [a], y [d] (Tablas 19, 20, 21 y 22).

Tabla 19: Prueba de escalas agrupadas para el síntoma Mosaico observado en las generaciones evaluadas para el nuevo virus en Pradera.

Generación	No. plantas	V (m)	1/N(m)	Modelo			Media observada	Media esperada	Diferencia (obs-esp)	(obs-esp) ²	(obs-esp) ² *peso
				m	a	d					
P ₁	122	0.4265	2.3444	1	1	0	4.2208	3.9500	0.2708	0.0733	0.1719
P ₂	150	0.0101	99.1400	1	-1	0	2.0904	2.0831	0.0073	0.0001	0.0054
F ₁	152	0.5957	1.6786	1	0	1	3.1148	2.3027	0.8121	0.6596	1.1071
F ₂	243	0.0608	16.4605	1	0	0.5	2.5069	2.6596	-0.1527	0.0233	0.3838
RCP ₁ F ₁	253	0.1915	5.2212	1	0.5	0.5	3.1239	3.1263	-0.0024	0.0000	0.0000
RCP ₂ F ₁	323	0.0183	54.6857	1	-0.5	0.5	2.1892	2.1929	-0.0037	0.0000	0.0007
χ² calculado											1.6690
											N.S.
P											0.8928

Tabla 20: Prueba de escalas agrupadas para el síntoma Deformación foliar observado en las generaciones evaluadas para el nuevo virus en Pradera.

Generación	No. plantas	V(m)	1/V(m)	Modelo			Media observada	Media esperadas	Diferencia (obs-esp)	(obs-esp) ²	(obs-esp) ² * peso
				m	a	d					
P ₁	122	0.5725	1.7466	1	1	0	4.1137	3.8344	0.2793	0.0780	0.1363
P ₂	150	0.0379	26.3871	1	-1	0	1.2705	1.2127	0.0578	0.0033	0.0880
F ₁	152	0.2944	3.3967	1	0	1	2.9017	2.3094	0.5923	0.3508	1.1916
F ₂	243	0.2357	4.2424	1	0	0.5	2.1189	2.4165	-0.2976	0.0886	0.3757
RCP ₁ F ₁	253	0.2049	4.8814	1	0.5	0.5	3.0013	3.0719	-0.0706	0.0050	0.0243
RCP ₂ F ₁	323	0.0936	10.6809	1	-0.5	0.5	1.5348	1.7611	-0.2263	0.0512	0.5468
X² calculado											2.3628
N.S.											
P											0.7970

Tabla 21: Prueba de escalas agrupadas para el síntoma Enanismo observado en las generaciones evaluadas para el nuevo virus en Pradera.

Generación	No. plantas	V(m)	1/N(m)	Modelo			Media observada	Media esperadas	Diferencia (obs-esp)	(obs-esp) ²	(obs-esp) ² *peso
				m	a	d					
P ₁	122	0.0109	91.8938	1	1	0	4.7332	4.7442	-0.0110	0.0001	0.0112
P ₂	150	0.1179	8.4832	1	-1	0	2.5641	2.4785	0.0856	0.0073	0.0621
F ₁	152	0.2051	4.8751	1	0	1	3.6051	3.6641	-0.0590	0.0035	0.0170
F ₂	243	0.1829	5.4673	1	0	0.5	3.4907	3.6377	-0.1470	0.0216	0.1182
RCP ₁ F ₁	253	0.1183	8.4523	1	0.5	0.5	4.4916	4.2042	0.2874	0.0826	0.6983
RCP ₂ F ₁	323	0.1168	8.5645	1	-0.5	0.5	2.9487	3.0713	-0.1226	0.0150	0.1288
χ² calculado											1.0356
											N.S.
P											0.9596

Tabla 22: Prueba de escalas agrupadas para el síntoma Deformación de vainas observado en las generaciones evaluadas para el nuevo virus en Pradera.

Generación	No. plantas	V(m)	1/N(m)	Modelo			Media observada	Media esperadas	Diferencia (obs-esp)	(obs-esp) ²	(obs-esp) ² *peso
				m	a	d					
P ₁	122	0.0109	91.8938	1	1	0	4.7332	4.7442	-0.0110	0.0001	0.0112
P ₂	150	0.1179	8.4832	1	-1	0	2.5641	2.4785	0.0856	0.0073	0.0621
F ₁	152	0.2051	4.8751	1	0	1	3.6051	3.6641	-0.0590	0.0035	0.0170
F ₂	243	0.1829	5.4673	1	0	0.5	3.4907	3.6377	-0.1470	0.0216	0.1182
RCP ₁ F ₁	253	0.1183	8.4523	1	0.5	0.5	4.4916	4.2042	0.2874	0.0826	0.6983
RCP ₂ F ₁	323	0.1168	8.5645	1	-0.5	0.5	2.9487	3.0713	-0.1226	0.0150	0.1288
										χ² calculado	1.0356
											N.S.
										P	0.9596

Debido a que las generaciones segregantes F_2 , RCP_1F_1 y RCP_2F_1 presentan altas varianzas, fue necesario obtener una mayor cantidad de plantas y en consecuencia tener un mayor número de observaciones para estas generaciones. Así mismo, las varianzas muestrales, δ^2 , en general son muy altas, es necesario que para esta prueba de escalas agrupadas se hagan dos tipos de correcciones sobre los datos. La primera corrección se basó en obtener la varianza de las medias (δ^2/n), las cuales tendían a ser similares, ya que se hizo ponderación por la cantidad de observaciones para cada una de las generaciones y la segunda corrección se basó en obtener un peso o ponderación para las varianzas de las medias, es decir se trabajó con la inversa de la varianza de la media ($1 / [\delta^2/n]$), para cada generación.

La base teórica para trabajar con la ponderación es que si la varianza de la media es grande, debido a la segregación de una determinada generación, entonces, el peso o ponderación de esta generación tiene que ser más bajo con respecto a la ponderación de las generaciones no segregantes.

Según lo observado en los datos obtenidos mediante forma matricial, el modelo $m [a] [d]$ es suficiente para explicar los efectos genéticos predominantes para cada uno de los síntomas evaluados. Como parte final del análisis de medias generacionales es necesario conocer cuáles fueron los aportes debidos a cada uno de los efectos (Tabla 23).

Tabla 23: Parámetros estimados m, [a], [d] y coeficiente de determinación para las características evaluadas en la herencia de la resistencia al nuevo virus en habichuela

Síntomas evaluados	Parámetros						R ²
	m	Error estándar	a	Error estándar	d	Error estándar	
Mosaico	3.01**	0.190	0.93*	0.185	-0.71 ^{n.s}	0.313	0.907
Deformación foliar	2.52**	0.279	1.31**	0.271	-0.21 ^{n.s}	0.509	0.918
Enanismo	2.34**	0.164	1.15**	0.162	-0.26 ^{n.s}	0.392	0.947
Deformación de vainas	3.61**	0.090	1.13**	0.090	0.05 ^{n.s}	0.230	0.984

Pr > |t|, * Significancia al 5%, ** Significancia al 1%, n.s.=No significancia.

La tabla anterior muestra que los aportes generados por la media (m), los efectos de aditividad [a] y dominancia [d] son suficientes para explicar el comportamiento de los las generaciones evaluadas con base en los síntomas observados para el nuevo virus. Se observa además que los efectos aditivos son muy importantes ya que estos determinan la heredabilidad de la resistencia y con base en los valores negativos de los aportes de dominancia se debe decir que estos valores se obtienen debido a que el padre que está ejerciendo la dominancia, en este caso Porrillo Sintético es el que está contribuyendo para la disminución de los síntomas en las generaciones segregantes. Así mismo, esta información se apoya en estudios realizados por Morales y Singh (1991) donde se determinaba que la resistencia de Porrillo Sintético era en su mayor parte de componente aditivo.

6. CONCLUSIONES

- El padre resistente Porrillo Sintético reconocido anteriormente como fuente de resistencia al Virus del mosaico dorado amarillo del frijol presentó valores bajos en la escala de calificación para cada uno de los síntomas evaluados inducidos por el nuevo virus de habichuela en el Valle del Cauca.
- El escape a la infección parece no ser la única forma de resistencia por parte de Porrillo Sintético, por que los análisis permitieron dilucidar la acción de diferentes genes.
- La cuantificación de la variación genética observada con respecto a los síntomas 'mosaico', 'deformación foliar', 'enanismo' y 'deformación de vainas' fue usada como base para determinar el número de genes involucrados en la herencia de la resistencia al virus BLCrV en habichuela.
- La prueba de X^2 para los síntomas observados y esperados mostro compatibilidad con los datos obtenidos por medio de las varianzas genéticas, y por lo tanto se puede concluir que la herencia de la resistencia al BLCrV está regida en forma poligénica para el 'mosaico', mediante proporción 9:6:1 o digénica dominante con efectos aditivos para la 'deformación foliar',

monogénica dominante para 'enanismo' y monogénica recesiva para 'deformación de vainas'

- Los estudios de medias generacionales ratifican que la herencia de la resistencia al nuevo virus en habichuela se debía a pocos genes para todos los síntomas con excepción de 'mosaico', ya que el modelo más simple de m, [a] y [d] se ajustó para cada uno de los síntomas evaluados en las generaciones obtenidas en el estudio.
- El estudio de medias generacionales mostró además que para tres de las características: 'mosaico', 'deformación de vainas' y 'enanismo', el padre que ejerce la mayor dominancia para cada caso es Porrillo Sintético, con contribuciones importantes a la disminución de los síntomas presentados en las generaciones filiales.
- La aditividad es el componente más importante dentro de los modelos obtenidos para medias generacionales, indicando que las características deseables en el padre resistente Porrillo Sintético pueden ser fácilmente transferibles a las líneas filiales.
- La alta correlación observada para los síntomas evaluados indica que la detección del virus se puede hacer en forma temprana, simplemente teniendo como base la evaluación de caracteres como deformación foliar y/o mosaico,

y no es necesario esperar hasta la deformación de vainas para ratificar que se trata del nuevo virus en habichuela. Esta alta correlación es útil con respecto al mejoramiento genético ya que reduciendo la incidencia del virus para una característica también se refleja en la menor expresión de síntomas y mayores rendimientos.

7. RECOMENDACIONES

- La segregación observada para el padre resistente Porrillo Sintético sugiere que esta variedad ha sido mejorada con respecto a características agronómicas, pero en la parte de respuesta a factores bióticos, como en este caso la respuesta al BLCrV no fue uniforme como se esperaba. Por lo tanto, se recomienda hacer escogencia de las plantas provenientes del padre Porrillo Sintético con el fin de lograr una depuración hacia la resistencia al BLCrV.
- Se hace necesario complementar este estudio con la confirmación y búsqueda de genes a nivel molecular para Porrillo Sintético, así como también identificar otras fuentes de resistencia al BLCrV.
- Debido a la dificultad en determinar la herencia de la resistencia al síntoma 'mosaico' es importante volver a repetir el estudio de segregación y cuantificación de la variación con una mayor cantidad de plantas para la familia segregante F₂.

BIBLIOGRAFIA

Acevedo-Román M., A. M. Castañeda, J.C. Ángel, C.G. Muñoz and J.S. Beaver. 2004. Inheritance of normal pod development in bean golden yellow mosaic resistant common bean. *J. Amer. Soc. Hort. Sci*, 129(4): 549-552.

Anderson P. K. 2000. La mosca blanca vectora: *Bemisia tabaci* (Genn.). *En: El Mosaico Dorado y otras enfermedades del frijol común causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina.* Centro Internacional de Agricultura Tropical CIAT, Cali, Colombia. pp. 107-128

Arnal E., L. M. Russell, E. Debrot, F. Ramos, M. Cermeli, R. Marcano and A. Montagne. 1993. A List of whiteflies (Homoptera, Aleyrodidae) and their host plants in Venezuela. *Florida Entomologist*, 76(2):365-381.

Blair M. W. and J. S. Beaver. 1993. Inheritance of bean golden mosaic resistance from bean genotype A 429. *Annu. Rpt. Bean Improv. Coop.* 36: 143

Brown J. K. 1994. An update on the whitefly-transmitted geminiviruses in the Americas and the Caribbean Basin. *FAO, Plant Protection Bulletin*, 5-23.

Brown J. K. and J. Bird. 1992. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease*, 76: 220-225.

Byrne F. J. and A. L. Devonshire. 1993. Insensitive acetylcholinesterase and esterase polymorphism in susceptible and resistant populations of the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.). *Pesticide Biochemistry & Physiology*, 45: 34-42.

Ceballos H. 1998. Manual de Genética Cuantitativa. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. 60 p.

CIAT 2004. Annual Report, Project IP-1: Bean Improvement for the tropics. CIAT, pp. 84-98.

CIAT 2006. Annual Report, Project IP-1: Bean Improvement for the tropics. CIAT, pp. 61

Cock M. J. W. 1986. *Bemisia tabaci*: a literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography. Food and Agriculture Organization of the United Nations. International Institute of Biological Control. London. 121 p.

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA. 1998. Las Grandes Transformaciones del Sector Agropecuario en la Última Década: Una Visión Regional. Santafé de Bogotá, 301 p.

Costa A. S. 1965. Three whitefly-transmitted virus diseases of beans in São Paulo, Brazil. *FAO Plant Protection Bulletin*, 13: 121-130.

Duffus J. E. 1987. Whitefly transmission of plant viruses. *Current topics in Vector Research* 4: 73-91

FAOSTAT. 2009. FAO Statistical Databases. (Citado 13 Noviembre/2009). Disponible en: [http:// faostat.fao.org](http://faostat.fao.org)

Fauquet C. M. and J. Stanley. 2003. Geminivirus: classification and nomenclature: progress and problems. *Ann. App. Biol.*, 142: 165-189.

Fauquet C. M., D. M. Bisaro, R. W. Briddon, J. K. Brown, B. D. Harrison, E. P. Rybicki, D. C. Stenger and J. Stanley. 2003. Revision of taxonomic criteria for species demarcation in the family Geminiviridae, and an updated list of begomovirus species. *Arch. Virology*, 148: 405-421.

Federación Nacional de Cafeteros. 1985. El cultivo de la habichuela. *Boletín técnico*, 19 p.

Garrido-Ramirez E. R., M. R. Sudarshana, W. J. Lucas and R. L. Gilbertson. 2000. Bean dwarf mosaic virus BV1 protein is a determinant of the hypersensitive response and avirulence in *Phaseolus vulgaris*. *Mol. Plant Microbe Interact*, 13: 1184-94

Gennadius P. 1889. Disease of tobacco plantations in the Trikonía. The aleurodid of tobacco. *Ellenike Georgia*, 5, pp.1-3

Gobernación del Valle del Cauca, Secretaria de Agricultura. 2009. (Citado 13 Noviembre/2009). Disponible en: <http://www.valledelcauca.gov.co/agricultura/>

Greathead A. H. 1986. Host plants. In: Cock M. J. W. (Ed.) *Bemisia tabaci*: a literature survey. CABI, Inst. Biol. Control. Silwood Park, pp. 17–26

Howarth A. J., J. Caton, M. Bossert, and R. M. Goodman. 1985. Nucleotide sequence of bean golden mosaic virus and a model for gene regulation in geminiviruses. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 82: 3572-3576.

Jones D. R. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 195-219.

Kang B. C., I. Yeam, and M. M. Jahn. 2005. Genetics of Plant Virus Resistance. *Annu. Rev. Phytopathology*, 43:581-621

Lapidot M. and M. Friedmann. 2002. Breeding for resistance to whitefly-transmitted geminiviruses. *Ann. Appl. Biol.*, 140:102-127

Loniello A. O., R. T. Martinez, M. R. Rojas, R. L. Gilbertson, J. K. Brown and D. P. Maxwell. 1992. Molecular characterization of bean calico mosaic geminivirus. *Phytopathology*, 82: 1149.

Markham P. G and I. D. Bedford. 1993. Comportamiento y modos de acción de *Bemisia tabaci* (Gennadius): Capacidad de transmitir virosis. *En: 4th simposio: La virosis en los cultivos hortícolas mediterráneos. Phytoma España, No. 50* Junio/Julio, pp. 47-52.

Molina-Castañeda A. and J. S Beaver. 1998. Inheritance of normal pod development in bean golden mosaic resistant common beans. *Annu. Rpt. Bean Improv. Coop.*, 41:3-4

Monci F., S. García-Andrés, J. A. Maldonado, and E. Moriones 2005. Resistance to Monopartite Begomoviruses Associated with the Bean Leaf Crumple Disease in *Phaseolus vulgaris* Controlled by a Single Dominant Gene. *Phytopathology*, 95(7): 819-826

Montoya C. 2007. Programa de retrocruzamiento para incorporar resistencia a un nuevo virus en habichuela (*Phaseolus vulgaris* L.) con la asistencia de marcadores moleculares. M. Sc. Tesis. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. 82 p.

Morales F. J. 2000. Métodos de control de begomovirus del frijol. *En: F. J. Morales (Ed.) El Mosaico Dorado y otras enfermedades del frijol común causadas*

por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), pp. 133-154.

Morales F.J. 2001. Conventional breeding for resistance to *Bemisia tabaci*-transmitted geminiviruses. In S. E. Naranjo and P. C. Ellsworth (Eds.), Special Issue: Challenges and Opportunities for Pest Management of *Bemisia tabaci* in the New Century. *Crop Prot.*, 20(9): 825-834 pp.

Morales F. J. 2006. History and Current Distribution of Begomovirus in Latin America. *Advances in Virus Research*, 67: 127-162

Morales F. J. and P. K. Anderson. 2001. The emergence and dissemination of whitefly-transmitted geminiviruses in Latin America. *Arch. Virol.*, 146(3): 415-441.

Morales F. J and A. I. Niessen 1988. Comparative responses of selected *Phaseolus vulgaris* germplasm inoculated artificially and naturally with bean golden mosaic virus. *Plant Disease* 72: 1020-1023

Morales F. J. and S. P. Singh. 1991. Genetics of resistance to bean golden mosaic virus in *Phaseolus vulgaris* L. *Euphytica*. 52: 113-117.

Morales F. J., C. Muñoz, M. Castaño and A. C. Velasco. 2000. Geminivirus transmitidos por mosca blanca en Colombia. *Fitopatología Colombiana*, 24(2): 95-98

Morales F. J., A. K. Martínez and A. C. Velasco. 2002. Nuevos brotes de begomovirus en Colombia. *Fitopatología Colombiana*, 26(2):75-79.

Mound L. A. and S. H. Halsey. 1978. Whitefly of the world : a systematic catalogue of the aleyrodidae (Homoptera) with host plant and natural enemy data. British Museum (Natural History) and Wiley, Chichester, GB. 340 p.

Mullineaux P. M., J. Donson, B. A. Morris-Krsinich, M. I. Boulton and J. W. Dacies. 1984. The nucleotide sequence of maize streak virus DNA. EMBO J. 3: 3063-3068.

Muniyappa V. 1980. Whiteflies. In K.F. Harris and K. Maramorosch (Eds.), Vectors of Plant Pathogens. Academic Press, New York, USA. pp 39-85.

Muñoz C. G. 2002. Estudio de la herencia e identificación de marcadores moleculares para genes de Resistencia al virus del mosaico dorado Amarillo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). M. Sc. Tesis. Universidad de Puerto Rico, 58 p.

Murphy F. A., C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop, S. A. Ghabrial, A. W. Jarvis, G. P. Martelli, M. A. Mayo and M. D. Summers. 1995. Virus Taxonomy: Classification and nomenclature of viruses. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Springer-Verlag, New York. 586 p.

Quintero C., C. Cardona-Mejía, D. Ramírez y N. Jiménez. 1998. Primer registro del biotipo B de *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) en Colombia = First report of the B biotype of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 24(1-2):23-28.

Rodríguez I. & C. Cardona. 2001. Problemática de *Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) como plagas de cultivos semestrales en el Valle del Cauca. *Revista Colombiana de Entomología*, 27(1): 21-26

Rodríguez I., H. Morales, y C. Cardona. 2003. Líneas base, dosis diagnóstico y medición periódica de resistencia a insecticidas en poblaciones de adultos e inmaduros de *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) en el Valle del Cauca, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 29 (1): 21-27

Rojas M. R. 2000. Los begomovirus. *En:* F. J. Morales (Ed.) El Mosaico Dorado y otras enfermedades del frijol común causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en la América Latina. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). pp. 87-97

SAS Institute. 2000. SAS/STAT guide for personal computers, version 8. SAS Institute, Cary, NC.

Seo Y. S., W. J. Lucas and R. L. Gilbertson. 2002. Study of genetics of resistance and identification of genes involved in resistance in *Phaseolus vulgaris* cv. Othello to Bean dwarf mosaic virus. *Phytopathology*, 92: S75

Seo Y. S., P. Gepts and R. L. Gilbertson. 2004. Genetics of resistance to the geminivirus, Bean dwarf mosaic virus, and the role of the hypersensitive response in common bean. *Theor. Appl. Genet.*, 108: 786-93

Sibernagel M., W. Janssen, J. Davies and G. Montesdeoca. 1991. Snap bean: Production in the tropics implications for genetic improvement. *In:* Van Schonhoven, A. and O. Voysest (Eds.). Common beans: research for crop improvement. CAB-CIAT, Cali.

Singh S. P., F. J. Morales, P. N. Miklas and H. Terán. 2000. Selection for Bean Golden Mosaic Resistance in Intra- and Interracial Bean Populations. *Crop Sci.*, 40: 1565-1572.

Stanley J., R. Townsend and S. J. Curson. 1985. Pseudorecombinants between

cloned DNAs of two isolates of cassava latent virus. *J. Gen. Virol.*, 66: 1055-1061.

Stanley J., P. G. Marham, R. J. Callis and M. S. Pinner. 1986. The nucleotide sequence of an infectious clone of the geminivirus beet curly top virus. *EMBO J.* 5: 1761-1767.

Sudarshana M. R., H. L. Wang, W. J. Lucas and R. L. Gilbertson. 1997. Inhibited phloem translocation of viral DNA confers resistance to systemic infection by bean dwarf mosaic geminivirus in *Phaseolus vulgaris* cv. Pinto Othello. *Phytopathology* 87: S95

Tofiño A., C. H. Ocampo, y O. Toro. 2003. Evidencia fenotípica y bioquímica de introgresión mesoamericana en accesiones de habichuela (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivadas en centros secundarios de domesticación. *Agronomía Colombiana*, 21 (3): 154-164

Vallejo F. A. y E. I. Estrada 2002. Mejoramiento genético de plantas. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. 403 p.

Vam Regenmortel M. H. V., C. Fauquet, D. H. L. Bishop, E. B. Carstens, M. K. Estes, S. M. Lemon, J. Maniloff, M. A. Mayo, D. J. McGeoch, C. R. Pringle and R. B. Wickner. 2000. Virus taxonomy : seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, San Diego, CA, USA. 1162 p.

Varma A. and V. G. Malathi. 2003. Emerging geminivirus problems: A serious threat to crop production. *Ann. Appl. Biol.*, 142(2): 145-164.

Velez J. J., M. J. Basset, J. S. Beaver, and A. Molina. 1998. Inheritance of resistance to bean golden mosaic virus in common bean. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 123: 628-631.

Vidavsky F. and H. Czosnek 1998. Tomato breeding lines resistant and tolerant to tomato yellow leaf curl virus issued from *Lycopersicon hirsutum*. *Phytopathology*, 88: 910-4

Voysest Voysest O. 2000. Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) : Legado de variedades de América Latina 1930-1999. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, CO. 195 p. (Publicación CIAT no. 321)

Wang H. L., M. R. Sudarshana, R. L. Gilbertson and W. J. Lucas. 1999. Analysis of cell-to cell and long-distance movement of a bean dwarf mosaic geminivirus-green fluorescent protein reporter in host and non host species: Identification of sites of resistance. *Mol. Plant Microbe Interact.* 12: 345-55.

