

Logros del Proyecto del Laboratorio de Innovación de Leguminosas S01.A4

2012-2017

S01.A4 - Desarrollo e implementación de marcadores moleculares robustos y mejoramiento genético de frijol común y tepari para incrementar la producción de leguminosas de grano en Centroamérica y Haití

Investigadores e Instituciones

- James Beaver - University of Puerto Rico, Mayaguez, PR
- Consuelo Estévez de Jensen - University of Puerto Rico, Mayagüez, PR
- Timothy Porch - USDA/ARS/TARS, Mayaguez, PR
- Phil Miklas - USDA/ARS, Prosser, WA
- Juan Osorno and Phil McClean – North Dakota State University (NDSU), Fargo, ND
- Juan Carlos Rosas - Escuela Agrícola Panamericana (Zamorano), Honduras
- Julio Cesar Villatoro - Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola (ICTA), Guatemala
- Emmanuel Prophete - National Seed Service, Ministry of Agriculture, Haiti

Objetivos del Proyecto S01.A4

- Objetivo 1. Mejoramiento genético de frijol común y tepari para Centroamérica y Haití.
- Objetivo 2. Desarrollar e implementar marcadores moleculares robustos para genes de resistencia a las enfermedades y plagas.
- Objetivo 3. Mejoramiento de la capacidad institucional para realizar investigación.

Líneas
resistentes al
BGYMV en
presencia de
una severa
presión de la
enfermedad



Virus del Mosaico Amarillo Dorado del Frijol (BGYMV)

- Todos los cultivares y líneas de mejoramiento recientemente liberados por Zamorano y el UPR poseen resistencia al BGYMV.
- Líneas endogámicas recombinantes de las cruces 'A-429 x Morales' y 'A-429 x Tío Canela 75' fueron fenotipadas en Honduras para el grado de deformación de la vaina en presencia de BGYMV. La semilla de los RIL fenotípicos se enviará al Dr. Phil Miklas para identificar un marcador molecular para el gen *Bgp-1* que confiere resistencia a la deformación de vaina causada por BGYMV.
- Se identificaron líneas de frijol teparí de USDA-ARS-TARS en Honduras con tolerancia al BGYMV.

Línea de frijol con
desarrollo de
vainas deformadas
en la presencia
de BGYMV



Línea de frijol con desarrollo de vaina normal en la presencia de BGYMV





Líneas rojo moteado en la República Dominicana con resistencia al BGYMV y BCMNV.

Líneas de frijol determinados

- *Grano negro opaco*
- *bgm, l, bc-3*
- Precosidad
- ¿Alternativa para la producción en altitudes más altas?



Diferencia en la madurez del frijol blanco 'Verano' (izquierda) y el frijol negro determinado

- Evitar sequía terminal
- Seguridad alimentaria





Evaluación de frijol tepari para
reacción al BGYMV



BCMV in a bean plant that lacks resistance genes



Necrotic reaction to BCMNV in bean plants with / gene resistance

BCMV and BCMNV

- Las liberaciones más recientes de cultivares y germoplasma mejorado (Sankara, MEN 2201-64 ML, PR0806-80, AO-1012-29-3-3A) poseen combinaciones de genes ($I + bc-3$) o ($I + bc-1^2$) que confieren resistencia al BCMV y BCMNV.
- Fuentes de resistencia al BCMNV en el frijol tepary fueron identificadas por investigadores del USDA-ARS en Puerto Rico. Actualmente se están llevando a cabo estudios de herencia.

Mustia hilachosa

- La mustia hilachosa es una grave enfermedad de frijol en ambientes tropicales húmedos como el Petén de Guatemala.
- Un total de 644 líneas de diferentes programas de investigación fueron evaluadas para resistencia a la mustia en ensayos de campo realizados durante dos años en Isabela, Puerto Rico.
- Se identificó 37 líneas que tuvieron lecturas promedias en ambas años de 2.4 hasta 4.5, utilizando la escala de calificación de CIAT.
- Se obtuvieron altos rendimientos de semilla de algunas líneas con resistencia a la mustia, incluyendo TARS MST1, PR1147-1 y Amadeus 77, con rendimientos promedios $> 1,800$ kg/ha.

DIFERENTES REACCIONES A LA MUSTIA - ISABELA, PR - OCTUBRE 2015



PR0401-29

SANKARA

DPC-40

Mustia hilachosa

- Algunas líneas con alto potencial de rendimiento de semilla, como Amadeus 77, tenían un bajo porcentaje de semillas dañadas, aunque el cultivar tenía un alto grado de daño en el follaje.
- Estos resultados sugieren que la herencia de la resistencia al daño de la hoja y la herencia al daño de la semilla causado por la mustia pueden ser características independientes.
- Es aconsejable llevar a cabo evaluaciones para daño en las hojas y % semilla dañada para identificar líneas con alto nivel de resistencia a esta enfermedad.
- Líneas de frijol de Zamorano seleccionadas del 4to ciclo de selección recurrente para la resistencia a la mustia se evaluarán en Isabela, Puerto Rico durante el verano de 2017.

Síntomas de la mancha angular



Fuente: Diego Rodríguez

Mancha Angular (ALS)

- La mancha angular, causada por *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Crous y Braun, provoca defoliación prematura y pérdida de rendimiento de semilla de frijol en toda Centroamérica.
- Esta enfermedad es transmitida por semilla y tiene el potencial de emerger como una enfermedad de frijol en los Estados Unidos con los cambios en los patrones climáticos.
- Se caracterizaron los patrones de virulencia de aislamientos del patógeno de mancha angular de Honduras y Puerto Rico.
- Se identificaron aislamientos del patógeno de ALS con altos niveles de virulencia tanto en Honduras (63:43) como en Puerto Rico (63:51).

Mancha Angular

- Se desarrollaron en Zamorano líneas de frijol (ALS 0532-6, ALS 0531-41, ALS 0532-38 y NIC 604-29) con resistencia duradera al ALS. Estas líneas tienen diferentes combinaciones de genes Mesoamerican (*Phg-2*) y Andina (*Phg-1*) para la resistencia.
- Líneas de frijol rojo y negro con resistencia al BGYMV, BCMV y ALS fueron evaluadas en el Ensayo Regional de Mancha Angular (ERMAN).
- Las líneas de Zamorano se utilizaron para desarrollar líneas de frijol blanco con resistencia a la mancha angular en Puerto Rico.

Mancha Angular

- Se identificaron tres QTL para la resistencia a la mancha angular de la población RIL 'CAL 143 x Rojo'.
- Dos de los tres QTL (ALS2RC y ALS11RC) no han sido reportados en estudios previos.
- Fuentes de diferentes genes de resistencia mancha angular se enviaron a NDSU para realizar la secuenciación de las bibliotecas de genómica 10X.
- El objetivo es desarrollar marcadores moleculares fáciles de usar ligados a importantes grupos de genes de resistencia en el frijol común.

Roya de
frijol



Roya

- Las líneas de grano blanco PR0806-80 y PR0806-81 (Beaver et al., 2015, J. Plant Reg. 9: 208-211) representan la primera liberación de germoplasma mejorado de frijol que combina los genes *Ur-4*, *Ur-5*, *Ur-11* para la resistencia a la roya.
- Las líneas de frijol resistentes a la roya como RRH-336-28 (rojo pequeño) y PR0806-80 también poseen resistencia al BGYMV, BCMV y BCMNV.
- PR0806-80 y RRH-336-28 se han utilizado como progenitores para transferir niveles amplios y duraderos de resistencia a la roya en los frijoles negros.

Pudrición carbonosa



Fuente: Howard F. Schwartz

Pudrición carbonosa

- La pudrición carbonosa, causada por *Macrophomina phaseolina* (Mp), es una enfermedad serio del frijol en condiciones calientes y secas.
- Se inocularon artificialmente con un inóculo de arroz colonizado con un aislado virulento de Mp de Juana Diaz, PR. Se evaluó la gravedad de la enfermedad mediante la escala CIAT 1 - 9, 1 = sin síntomas de enfermedad visibles y 9 = aproximadamente el 50% o más de los tejidos hipocótilo y tallo cubiertos con lesiones y con picnidias.
- El experimento se repitió dos veces: en el primer experimento los genotipos que exhibieron reacciones intermedias a Mp fueron: BAT 477, MER 2212-28 y PR 1147-3, TARS-MST1 y TARS-LFR-1. (DS <5).
- Basándose en la gravedad de la enfermedad y la colonización del patógeno en el tejido del tallo, no se identificaron genotipos resistentes para el aislado utilizado en este estudio.



Líneas de frijol andino con reacciones susceptibles y resistentes al oídio

Oídio

- Las líneas hermanas del cruzamiento 'PR1212-5 x PR0737-1' fueron evaluadas en Isabela, Puerto Rico durante dos épocas de siembra para la reacción al oídio causado por *Erysiphe polygoni*.
- El análisis segregante a granel (bulk segregant analysis) se utilizará para identificar QTL en esta población Andina asociada con la resistencia al oídio

Bacteriosis común



Bacteriosis común

- El bacteriosis común (CBB) es una enfermedad transmitida por semilla que representa una amenaza mundial a la producción de frijol.
- Muchos lanzamientos recientes de cultivares y líneas de germoplasma por el proyecto S01.A4 (TARS MST-1, TARS LFR1 y 'Bella') poseen altos niveles de resistencia a bacteriosis común.
- Se realizaron evaluaciones para reacción a bacteriosis común en el campo y en un invernadero utilizando plantas F_2 y líneas $F_{2:3}$ de la cruz 'PR0313-58 / VAX 6'. Los resultados sugieren que, en esta población, hay dos genes dominantes que confieren un alto nivel de resistencia a la bacteriosis común causada por la cepa *Xap* UPR 3353.
- La semilla de las líneas fenotipadas para la reacción CBB se enviará a Phil Miklas para tamizar con marcadores putativos.



Gorgojo común de frijol

Acanthoscelides obtectus Say

Source: www.padil.gov.au/viewPestDiagnosticImages.asp

Resistencia a los gorgojos

- Los investigadores de la UPR introgresaron la resistencia a los gorgojos en líneas mesoamericanas (negro, rojo pequeño) de frijol que también tienen resistencia al BGYMV, BCMV y BCMNV
- Los investigadores de ICTA encontraron que las líneas de frijol negro de la UPR eran resistentes al gorgojo común (*Acanthoscelides obtectus*) en Quetzaltenango y Chimaltenango y moderadamente resistentes al gorgojo mexicano de frijol (*Zabrotes subfasciatus*) en San Jerónimo
- La resistencia de las líneas mesoamericanas de la UPR fue efectiva para el gorgojo mexicano del frijol en Honduras (Zamorano).

Resistencia a los gorgojos

- Investigadores de la UPR evaluaron una población RIL del cruzamiento 'Solewzi x PR1012-29-3-3A' desarrollado por el Dr. Kelvin Kamfwa para la reacción al gorgojo común de frijol.
 1. Un total de 212 RILs fueron evaluadas y 15 (7.1%) tenían altos niveles de resistencia.
 2. El análisis QTL encontró regiones genómicas en PV04 (sitio del locus APA) y Pv10 asociado con resistencia al gorgojo del frijol.
- AO-1012-29-3-3A, una línea de frijol andino que combina la resistencia al los gorgojos y los genes *I* y *bc-1*² para la resistencia a BCMV y BCMNV fue liberada. Esta es la primera liberación de una línea de germoplasma con resistencia a los gorgojos (Kusolwa et al., 2016. J. Plant Reg. 8: 1-4).

Evaluaciones utilizando gorgojos



Susceptible



Resistente

Resistencia a los gorgojos

- Los investigadores del frijol de ICTA seleccionaron la línea de frijol negro PR1303-(121-129), que combina resistencia a los gorgojos con resistencia al BGYMV y BCMNV, para evaluación en ensayos de rendimiento en múltiples localidades en Guatemala.
- Los primeros ensayos para evaluar el comportamiento de las líneas resistentes a los gorgojos en las fincas están siendo conducidos en Honduras por el equipo de investigación del frijol de Zamorano.

Resistencia a los gorgojos

- Seis poblaciones Mesoamericanas y seis poblaciones de frijol Andino F₄ fueron evaluadas para la reacción al gorgojo común del frijol. Un total de 298 líneas fueron seleccionadas y 22 (7.4%) presentaron altos niveles de resistencia. La prueba Chi-Cuadrado que comparaba los patrones de segregación de plantas R / S en las diferentes poblaciones no fue significativa. Estos resultados sugieren que más de un gen confiere resistencia a los gorgojos. La baja frecuencia de plantas resistentes apunta a la necesidad de tener marcadores moleculares para facilitar selección de resistencia.

Resistencia a los gorgojos

- El programa de investigación del frijol de ICTA usó las líneas negras PR1303-42, PR1303-(121-129) y PR1464-6 con resistencia a los gorgojos como progenitores. Las líneas F_3 derivadas de estos cruces parecen prometedoras en los viveros sembrados en San Jerónimo, Guatemala en diciembre de 2016.
- El proyecto en Puerto Rico continúa desarrollando líneas de frijol Andinas que combinan resistencia a los gorgojos con resistencia al BGYMV, BCMV y BCMNV. Plantas F_1 fueron sembradas en Zamorano durante el verano de 2017. La semilla será devuelta a Puerto Rico para seleccionar para tipo de grano, características agronómicas, resistencia a los gorgojos y resistencia a las enfermedades.



Huevos del gorgojo de frijol Mejicano en Zamorano

Evaluación para resistencia de
los gorgojos del frijol en San ➡
Jerónimo, Guatemala



Saltahojas / Saltamontes

- Daño de saltamontes (*Empoasca kraemeri*) observado en ensayos realizados en Honduras, Guatemala, Haití y Puerto Rico. El daño es generalmente más severo en ambientes calientes y secos.
- La línea de germoplasma de grano amarillo, PR1146-138, liberada formalmente en 2016 (Beaver et al., 2016. J. Plant Reg. 10: 145-148), tiene resistencia a BGYMV, BCMV y saltahojas.
- El Dr. Porch realizó ensayos en Puerto Rico en colaboración con el proyecto S01.A3 de MSU. Que identificaron QTLs asociados con la resistencia de saltamontes en el frijol común (Brisco et al., 2014. Crop. Sci. 54: 2509-2519).
- PR1146-138, 'Morales', EMP 299 han sido utilizados como progenitores para introducir la resistencia al saltamontes en las poblaciones de mejoramiento para Centroamérica y el Caribe.

Daño causado
por saltahojas
en Cabaret, Haiti



Vivero de saltahojas – Damien, Haiti 2017

Línea	Lectura de saltahoja ⁺ (1-9)	Días a floración	Días a madurez	Rendimiento (kg/ha)
P08142	1.7	38.7	70.7	963
Verano	2.3	38.0	72.7	1610
P08166	3.0	37.3	70.7	1585
EMP 507	3.0	39.3	72.0	826
EMP 509	3.0	42.0	73.7	574
Morales	3.0	40.0	70.0	853
Matterhorn	4.3	39.3	70.0	455
Mean	3.7	39.2	70.9	732
DMS (0.05)	1.2	NS	NS	585
CV (%)	19.3	5.9	3.1	48.0

Fijación biológica del nitrógeno(BNF)

- En colaboración con el proyecto del Laboratorio de Innovación de Frijol con Resistencia al Estrés Abiótico, las líneas frijol con resistencia a las enfermedades desarrolladas por el proyecto S01.A4 fueron evaluadas en ambientes de bajo N en Isabela, Puerto Rico.
 1. Las líneas se inocularon con una mezcla de la cepa CIAT 899 de *R. tropici* y la cepa CIAT 632 de *R. etli*.
 2. Se identificaron líneas de frijol que combinan un buen potencial de rendimiento y un número de nódulos superior.
 3. ICA Pijao, ICB-301-204, FBN-1203-47 tuvieron nodulación superior en evaluaciones realizadas en bancos de arena y en ensayos de campo BASE 120 llevados a cabo en Puerto Rico durante un período de tres años.

Fijación biológica del nitrógeno(BNF)

- Se identificó en Zamorano un grupo de líneas andinas y mesoamericanas que pueden servir como diferenciales para BNF
 1. Los diferenciales se pueden utilizar para estudiar la variabilidad de la capacidad de nodulación de las cepas de *Rhizobium* en el tiempo y el espacio.
 2. Las reacciones diferenciales se pueden utilizar para estudiar la genética de la capacidad de nodulación.



Línea no-nod R-99 bordeado por líneas de Zamorano seleccionadas para mejor BNF



Nodulación de la línea negra 'ICA Pijao'

**Líneas del ensayo
BASE 120
sembrada en
Isabela, Puerto
Rico en junio de
2016 con los
mejores
características de
fijación biológica
de nitrógeno**

Línea	Grano	% Ndfa	Nodulación (1-9)
Paraisito	Rojo	82.3	4.40
FBN 1210-48	Negro	76.3	5.60
Carrizalito	Rojo	74.7	5.20
BAT 477	Crema	72.5	4.00
ICB 301-204	Rojo	70.8	3.40
FBN 1205-31	Negro	70.2	4.20
BIOF 2-106	Rojo	67.3	5.60
FBN 1203-47	Rojo	66.5	4.80
Sayaxché ML	Negro	66.3	4.60
DEHORO	Rojo	66.1	6.40
ICA Pijao	Negro	65.9	2.80
BIOF 4-70	Negro	65.7	6.40
Cardenal	Rojo	63.4	5.60
RRH 336-28	Rojo	63.0	6.40
PR1147-3	Negro	62.9	6.20
Beníquez	Blanca	62.7	4.40
MEN 2201-64 ML	Negro	61.1	4.80
Amadeus 77	Rojo	57.3	5.00

Fijación biológica del nitrógeno

- En colaboración con el proyecto S01.A3, se realizaron ensayos de campo en Isabela, PR durante un período de dos años para evaluar una población RIL para rendimiento y fijación biológica de nitrógeno (BNF).
- Se identificaron varios QTL asociados con el rendimiento de semilla y los características asociadas con BNF (Heilig et al.(2017). Crop. Sci. 57: 118 - 129).

Rend. de sem. Isabela, PR	QTL	Cromosoma	Pico LOD	R ² (%)	Add. ¹
2012	SY3.3	Pv03	3.2	14.6	-138.8
2013	SY3.3	Pv03	3.1	12.1	-192.9

¹ Positive values indicate allele contributed by Puebla 152 parent, negative values indicate allele came from Zorro parent

Lanzamientos de cultivares mejorados de frijol

Nombre	Tipo de grano	País	Características
Sankara / Azabache 40	Negro	Haiti, Honduras	Resistencia al BGYMV, BCMV, BCMNV, precocidad
Don Rey	Rojo	Honduras	Grano comercial, resistencia a las enfermedades y tolerancia al estrés abiótico
CENTA EAC	Rojo	El Salvador	Resistencia al BGYMV, BCMV, tolerancia al calor ya la sequía
ICTAZAM	Negro	Guatemala	Resistencia al BGYMV, BCMV, CBB y mustia hilachosa
Bella	Blanco	Puerto Rico	Resistencia al BGYMV, BCMV, BCMNV, CBB, adaptación al calor y suelos bajos en N
MEN2201-64ML	Negro	Haiti	Resistencia al BGYMV, BCMV, BCMNV, precocidad, tolerancia a la sequía

Lanzamientos de cultivares mejorados de frijol

Nombre	Grano	País	Características
Aifi Wuriti	Negro	Haiti, Honduras	Resistencia al BGYMV, BCMV, precocidad, tolerancia a los suelos de baja fertilidad
Rojo Delicia	Rojo	Honduras	Resistencia al BGYMV, BCMV, tolerancia a suelos de baja fertilidad y sequía, mayor contenido de hierro en la semilla
INTA Negro	Negro	El Salvador	Resistencia al BGYMV, BCMV tolerancia a los suelos de baja fertilidad
Arbolito Negro Mejorado	Negro	Honduras	Resistencia al BGYMV, BCMV, roya, adaptación a mayores altitudes
Beniquez	Blanco	Puerto Rico	Resistencia al BGYMV, BCMV, BCMNV, roya, arquitectura erecta
Urcuqui	Negro	Ecuador	Resistencia al BCMV, antracnosis, roya, pudrición de las raíces, calidad del producto enlatado
Matambu	Negro	Costa Rica	Resistencia al BGYMV, BCMV, potencial de rendimiento
INTA Centro Sur	Rojo	Nicaragua	Resistencia al BGYMV, BCMV, tolerancia a los suelos de baja fertilidad, potencial de rendimiento

Lanzamientos de germoplasma mejorados de frijol

Nombre	Tipo de grano	Características
TARS LFR1	Rojo	Resistencia al BCMV, CBB, mustia, tolerancia al calor, BNF
TARS MST1	Negro	Resistencia al BCMV, CBB, pudrición de las raíces, tolerancia al calor y sequía
PR1146-138	Amarillo	Resistencia al BGYMV, BCMV, saltahoja
PR0737-1	Rojo moteado	Resistencia al BGYMV, BCMV, BCMNV
PR0806-80	Blanco	Resistencia al BGYMV, BCMV, BCMNV, roya
AO-1012-29-3-3A	Rojo arriñ.	Resistencia al BCMV, BCMNV, gorgojo
TARS Tep 22 and TARS Tep 32	Tepari blanco y amarillo	Resistencia al CBB, tolerancia al calor y sequía

Producción y difusión de Semilla

- 'Sankara', un cultivar de frijol negro resistente a múltiples virus, fue desarrollado y liberado en Haití.
- El Dr. Phil Miklas observó que Sankara estaba bien adaptado cuando fue sembrada en Prosser, WA.
- Con el apoyo del proyecto USAID/USDA (PASA) y el proyecto S01.A4, la semilla de Sankara se multiplicó durante el verano de 2016 por Basin Seed Company en Nampa, Idaho.
- En noviembre de 2016, llegó a Puerto Príncipe un contenedor con 11,364 kg de semilla de Sankara de alta calidad y libre de enfermedades. Se sembró aproximadamente 190 ha y se produjo cerca de 200 toneladas de semilla de Sankara para los pequeños agricultores que siembran frijol en las laderas.

Saco de semilla de
frijol negro
'Sankara' producida
en Idaho y enviada
a Haití



Incremento de
semilla de frijol
Sankara
sembrada cerca
de Mirebalais,
Haití



Frijol Lima(*Phaseolus lunatus*)

- El frijol lima tiene resistencia al calor y la sequía. Se siembra en Haití cada año hasta 10,000 ha de frijol lima y se produce este cultivo a pequeña escala en toda África.
- Se encontró en Honduras que la variedad criolla haitiana 'Beseba' era resistente al BGYMV.
- Una población F_2 se desarrolló de un cruce entre 'Beseba' y el cultivar 'Sieva' de frijol lima blanca con hábito de crecimiento indeterminado.
- Ambos 'Beseba' y 'Sieva' son insensibles al fotoperiodo y pueden ser sembrados en el Caribe durante todo el año.
- El objetivo es desarrollar un frijol lima determinada, de semilla blanca con tolerancia al calor y resistencia a BGYMV.

Frijol lima 'Beseba'
sembrada en
Honduras sin
síntomas en
presencia de una
presión severa de
BGYMV



Carga de las
vainas de la
variedad de frijol
lima 'Sieva'
sembrada en
Isabela, Puerto
Rico



Talleres apoyados por el proyecto S01.A4

- Taller Centroamericano/Caribe de las Técnicas de Investigación para el Mejoramiento Genético del Frijol Común, celebrado en Zamorano, Honduras, del 6 al 10 de abril de 2015.
- Taller sobre las Enfermedades del Frijol de Africa celebrado en Skukuza (Sudáfrica) del 20 al 24 de julio de 2015
- Taller Regional Centroamericano/Caribe de Tecnologías para la Producción de Semillas de Frijol celebrado en Zamorano, Honduras del 10 al 12 de agosto de 2015.
- Taller Regional Centroamericano/Caribe para el Mejoramiento Genético del Frijol Común por Tolerancia al Estrés Abiótico, celebrado en Isabela, Puerto Rico del 15 al 17 de agosto de 2016.



Taller de Enfermedades del Frijol celebrado en Zamorano en abril de 2015



Taller de Estrés Abiótico - Isabel, Puerto Rico – agosto de 2016



Evaluación de líneas de frijol. Cabaret, Haití

Evaluación de líneas F₃. San Jerónimo, Guatemala



Edgardo Carillo,
agrónomo del ICTA
responsable de los
ensayos de campo
en Jutiapa,
Guatemala





Gracias por su atención