

**Variabilidad patogénica de *Pseudocercospora*
griseola causante de la mancha angular del
frijol común en Honduras**

**José Manuel Martínez Herrera
Luis Alonso Peñate Ascencio**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2015

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Variabilidad patogénica de *Pseudocercospora griseola* causante de la mancha angular del frijol común en Honduras

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

José Manuel Martínez Herrera
Luis Alonso Peñate Ascencio

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2015

Variabilidad patogénica de *Pseudocercospora griseola* causante de la mancha angular del frijol común en Honduras

Presentado por:

José Manuel Martínez Herrera
Luis Alonso Peñate Ascencio

Aprobado:

Juan Carlos Rosas, Ph.D.
Asesor Principal

John Jairo Hincapié, Ph.D.
Director
Departamento de Ciencia y
Producción Agropecuaria

Daniel Valle, Ing. Agr.
Asesor

Raúl Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

Variabilidad patogénica de *Pseudocercospora griseola* causante de la mancha angular del frijol común en Honduras

**José Manuel Martínez Herrera
Luis Alonso Peñate Ascencio**

Resumen: La mancha angular es una de las principales enfermedades del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en las regiones tropicales y subtropicales causada por el hongo *Pseudocercospora griseola*. El objetivo del estudio fue determinar la variabilidad de razas patogénicas de la mancha angular obtenidas de los aislamientos del hongo presente en cultivos comerciales de frijol en Honduras. Las razas se caracterizaron con un vivero con 12 genotipos diferenciales y dos testigos, Tío Canela (susceptible) y G06727 (resistente). Para la evaluación se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cinco repeticiones. La unidad experimental fue un macetero de 8" con dos plantas y se utilizó una separación de medias (LSD) $P < 0.05$. Las líneas diferenciales se sembraron en casas de malla con micro aspersión. Para obtener el inóculo se realizaron cultivos monospóricos del hongo en el laboratorio del Programa de Investigaciones de Frijol (PIF). Las plantas se inocularon a los 14, 21 y 28 días después de la siembra (DDS) con los aislamientos Pg-Z, Pg-Su, Pg-EB de *P. griseola* usando inóculo con 2×10^4 conidias/mL. La evaluación de la severidad de daño se inició a los 26 DDS con la escala del CIAT (1987). Se identificó tres razas patogénicas, la raza 31-31 en Pg-Z, 63-31 en Pg-Su y 63-43 en Pg-EB. El testigo resistente G06727 y la línea diferencial Cornell 49242 presentaron resistencia a las razas 31-31 y 63-31 y susceptibilidad a la raza 63-43 que resultó ser la más virulenta. Las líneas Flor de Mayo y BAT 332 presentaron resistencia a la raza 63-43. Se caracterizaron razas diferentes en cada aislamiento lo cual indica variabilidad patogénica de *P. griseola* en Honduras.

Palabras clave: Aislamientos, caracterización, líneas diferenciales, razas patogénicas.

Abstract: Angular leaf spot is a major disease of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in tropical and subtropical regions caused by the fungus *Pseudocercospora griseola*. The objective of the study was to determine the variability of pathogenic races of angular leaf spot of isolates obtained from fungus present in commercial bean crops in Honduras. Races were characterized with 12 differential genotypes and two controls, Tio Canela (susceptible) and G06727 (resistant). A randomized complete blocks design with five replications was used. The experimental unit was an 8 inches pot with two plants and mean separation (LSD) $P < 0.05$ was used. The differential lines were grown in a screen house with micro spray. For the inoculum of the fungus, spore were cultured in the laboratory of the Programa de Investigaciones de Frijol (PIF). Plants were inoculated at 14, 21 and 28 days after planting (DAP) with three isolates of *P. griseola* using inoculum with 2×10^4 conidia/mL. The assessment of the severity of damage were initiated 26 DAP using the CIAT scale (1987). Were identified three pathogenic races 31-31 in Pg-Z, 63-31 in Pg-Su and 63-43 in Pg-EB. The resistant control and differential line G06727 Cornell 49242 were resistant to the races 31-31 and 63-31 and 63-43 susceptibility to race was the most virulent. The Flor de Mayo and BAT 332 lines were resistant to race 63-43. Different breeds were characterized in each isolation demonstrating the pathogenic variability of *P. griseola* in Honduras.

Key words: Characterization, differential lines, isolation, pathogenic races.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	v
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos.....	vi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	7
4. CONCLUSIONES	14
5. RECOMENDACIONES	15
6. LITERATURA CITADA.....	16
7. ANEXOS	17

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Aislamientos de <i>Pseudocercospora griseola</i> de muestras recolectadas en zonas frijoleras de Honduras.	3
2. Líneas de frijol común del vivero diferencial utilizado en la caracterización de razas de <i>Pseudocercospora griseola</i> a partir de aislamientos de Honduras.	4
3. Evaluación de la severidad de daño (escala 1-9) del aislamiento Pg-Z de <i>Pseudocercospora griseola</i> procedente de la Vega 4, Zamorano en las líneas del vivero diferencial y dos testigos. Zamorano, Honduras, 2015.	8
4. Evaluación de la severidad de daños (escala 1-9) del aislamiento Pg-Su de <i>Pseudocercospora griseola</i> procedente de Sulaco, Yoro en las líneas del vivero diferencial y dos testigos. Zamorano, Honduras, 2015.	9
5. Evaluación de la severidad de daños (escala 1-9) del aislamiento Pg-EB de <i>Pseudocercospora griseola</i> procedente de El Barro, El Paraíso en las líneas del vivero diferencial y dos testigos. Zamorano, Honduras, 2015.	10
6. Identificación de razas de <i>Pseudocercospora griseola</i> utilizando los resultados de la última evaluación de los diferenciales con los tres aislamientos. Zamorano, Honduras, 2015.	12
7. Resumen de la susceptibilidad y resistencia observada en las líneas del vivero diferencial y los dos testigos a las razas caracterizadas a partir de tres aislamientos de <i>Pseudocercospora griseola</i> colectados en La Vega 4, Sulaco y El barro. Zamorano, Hondurara, 2015.	13
Figuras	Página
1. Escala de severidad de daño (1-9) para la evaluación de la reacción de líneas diferenciales de frijol a la inoculación con aislamientos del patógeno <i>Pseudocercospora griseola</i> causante de la mancha angular de frijol.	6

Anexos	Página
1. Caracterización de la raza 31-31 de <i>Pseudocercospora griseola</i> procedente de la vega 4, Zamorano, Honduras, 2015.....	18
2. Caracterización de la raza 63-31 de <i>Pseudocercospora griseola</i> procedente de Sulaco, Yoro, Honduras, 2015.....	19
3. Caracterización de la raza 63-43 de <i>Pseudocercospora griseola</i> procedente de El Barro, El paraíso, Honduras, 2015.	20

1. INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las leguminosas de grano más importantes en Latino América y África, por ser una fuente principal de proteínas para personas de bajos ingresos económicos en zonas rurales y urbanas (Rosas *et al.* 2000; Labrada *et al.* 1996).

El frijol es cultivado en Centro América principalmente bajo el sistema agrícola mesoamericano maíz-frijol. En Guatemala, Honduras y El Salvador, el frijol es cultivado después del maíz aprovechando racionalmente las lluvias al final del año (Labrada *et al.* 1996), en la época de siembra mejor conocida como postrera.

La mancha angular se presenta principalmente en regiones tropicales y subtropicales donde se cultiva el frijol, y es causada por el hongo *Pseudocercospora griseola*. En los últimos años se ha observado una mayor incidencia y daños de la mancha angular al cultivo del frijol, esta enfermedad puede causar reducciones en el rendimiento del grano de hasta un 80% en variedades susceptibles (Rosas 2003).

Los síntomas iniciales de la mancha angular aparecen en el envés de las hojas primarias, muy rara vez en hojas trifoliadas, en forma de pequeños puntos grises (Schwartz *et al.* 1982). Cuando las lesiones se han establecido en el follaje presentan formas angulares que cubren ambos lados de las hojas, delimitadas por las nervaduras de las mismas. Estas lesiones de color grisáceo pueden estar rodeadas de un halo clorótico que posteriormente se vuelve necrótico, adquiriendo la forma angular característica de la enfermedad. Cuando los ataques son severos, las lesiones se juntan formando manchas semicirculares en los folíolos, después estas son cubiertas por estructuras fructíferas del hongo. Finalmente las hojas de la parte baja de la planta se tornan de color amarillo y provocan la defoliación prematura de la planta (Rosas 2003).

El inóculo del hongo generalmente proviene de residuos de cosechas anteriores, semilla infectada con el patógeno o que permanece en el suelo de seis meses hasta un año y medio. El hongo produce conidióforos, los cuales son grupos que se yuxtaponen y forman un fascículo en forma de columna, por lo general de color oscuro que reciben el nombre de coremios o sinemas. En la parte superior de los coremios se forman estructuras llamadas conidiosporas, que son estructuras fructíferas que se pueden observar en el envés de las hojas afectadas, así como en las vainas, vistos al microscopio estos coremios parecen un manojo de hifas erectas de color oscuro en la base tornándose más clara en el ápice (Schwartz *et al.* 1982).

Para el desarrollo de la enfermedad es necesario un periodo prolongado de clima cálido y húmedo con una fuente de inóculo virulento. El patógeno causante de la enfermedad puede sobrevivir el invierno en las semillas y en forma de estromas en desechos de plantas en el suelo. En la siguiente estación de crecimiento, se producen nuevos coremios y conidios a temperatura entre 16 y 28°C bajo condiciones de alta humedad, los cuales sirven de inóculo primario. El desarrollo óptimo del hongo es a una temperatura de 24°C y la esporulación ocurre después de 72 horas a 20°C (Leon 2009).

Las esporas de *Pseudocercospora griseola* germinan después de ocho horas, en condiciones favorables infectan el tejido de la hoja al penetrar por los estomas van avanzando intercelularmente a través del mesófilo y el parénquima de empalizada, a los 19 días el hongo se desarrolla intracelularmente en las lesiones necróticas, 12 días después en la cavidad sub estomática del hongo se desarrolla un estroma ahí emergen los conidióforos para posteriormente formar el sinema (Campos 1987).

Pseudocercospora griseola tiene varias razas por lo que posee gran variabilidad patogénica, es por ello que en los genotipos evaluados hasta el momento algunos son resistentes a un grupo de razas solamente pero son susceptibles a otras. Para caracterizar la diversidad genética de aislamientos de *P. griseola* provenientes de África y América Latina mediante pruebas de virulencia se utiliza un vivero de genotipos diferenciales uno de la región Mesoamericana (Pan 72, G2858, Flor de Mayo, México 54, BAT 332, Cornell 49242) y otro de la región Andina (Don Timoteo, G11796, Bolón Bayo, Montcalm, Amendoin y G5686) (Pastor-Corrales y Jara 1995). Existe una cercana relación entre los aislamientos del patógeno que causa la mancha angular y los acervos genéticos del frijol común (Chacón *et al.* 1996).

Para el control de la mancha angular del frijol se pueden usar variedades resistentes. Estudios de herencia de la resistencia han demostrado que ésta es conferida por genes dominantes y recesivos, de acuerdo a la variedad progenitora (Ferraz 1980). Las prácticas que mejor control ofrecen son eliminar los residuos de la cosecha anterior para reducir el inóculo en el suelo, el uso de semilla limpia libre del patógeno, rotación con cultivos que no sean hospederos para reducir la sobrevivencia del patógeno, por un mínimo de dos años, y la aplicación de fungicidas cuando se presentan síntomas de ataque de esta enfermedad (Rosas 2003).

En este estudio se determinó la variabilidad patogénica de *Pseudocercospora griseola* causante de la mancha angular de frijol mediante la caracterización fenotípica de las razas patogénicas presentes en Honduras, los objetivos de este estudio fueron:

- Caracterizar la diversidad patogénica de aislamientos de *P. griseola* de muestras de frijol provenientes de lotes comerciales de zonas frijoleras de Honduras.
- Identificar las razas patogénicas de *P. griseola* y su virulencia utilizando los viveros diferenciales.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio. El estudio se realizó entre los meses de junio a octubre de 2015 en las instalaciones del Programa de Investigaciones de Frijol (PIF), ubicadas en la Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano, Valle del Yeguate, Francisco Morazán, Honduras a 30 km de Tegucigalpa, latitud 14° norte y longitud 80° oeste, con altitud de 800 msnm, una temperatura media de 26°C y precipitación media anual de 1,100mm.

El manejo, conservación e incrementos de aislamientos de *Pseudocercospora griseola* se realizó en el Laboratorio del PIF. Las evaluaciones de la reacción de los genotipos de los viveros diferenciales se realizaron en casas malla e invernaderos, utilizando inóculo producido en el Laboratorio de Biotecnología, y en un ambiente controlado con aspersores y extractores para controlar la temperatura y humedad dentro de los mismos.

Caracterización de aislamientos de *Pseudocercospora griseola* de Honduras

Material experimental. Se caracterizaron tres aislamientos de muestras de plantas de frijol afectados por la enfermedad recolectadas en La Vega 4 (Zamorano), Sulaco (Yoro) y de El Barro (El Paraíso) (Cuadro 1). Los aislamientos de La Vega 4 y de Sulaco, fueron recolectados durante el estudio, y el aislamiento de El Barro se conserva y usa frecuentemente en el PIF desde el 2005. Para la caracterización se utilizaron cultivos puros de *P. griseola* de los tres aislamientos mencionados, los cuales estuvieron conservados a temperaturas de -20°C en el Laboratorio de Biotecnología del PIF. Para la reactivación de los aislamientos se usó platos Petri con alta humedad relativa, cuatro días después se colectaron los sinemas para ser colocadas en un medio PDA con una punta de transferencia usando agar agua y agua destilada. Tres días después se colectó una conidias y se colocó en un medio V8 por 30 días, después fueron colectadas las esporas por medio de raspado para preparar un inóculo líquido conteniendo una concentración de 2×10^4 conidios /mL a ser aplicado a las plantas.

Cuadro 1. Aislamientos de *Pseudocercospora griseola* de muestras recolectadas en zonas frijoleras de Honduras.

Aislamientos	Lugar de recolección	Año
Pg-Z	La Vega 4, Zamorano, Francisco Morazán	2014
Pg-Su	Sulaco, Yoro	2014
Pg-EB	El Barro, El Paraíso	2005

Para la caracterización de las razas a partir de los aislamientos de *P. griseola*, se sembraron los viveros conformados por 12 líneas diferenciales, más dos testigos, Tío Canela 75 y G06727 (Cuadro 2). Tío Canela 75 es una variedad que fue liberada en Honduras en 1996 (Rosas *et al.* 1997), su grano es de color rojo, de origen mesoamericano y es susceptible a la mancha angular. La accesión de germoplasma G06727 identificado como Guarzo-Popayán procede de la región andina de Colombia, posee un grano de color amarillo moteado y es resistente a la mancha angular (CIAT 1992). Para caracterizar las razas de *P. griseola* se utilizó el valor binario, que consiste en asignar un valor único a cada genotipo diferencial que presenta una reacción fenotípica susceptible al aislamiento usado en la inoculación. El valor binario identifica la raza y su virulencia.

Cuadro 2. Líneas de frijol común del vivero diferencial utilizado en la caracterización de razas de *Pseudocercospora griseola* a partir de aislamientos de Honduras.

	Diferencial	Valor binario	Reservorio genético
1	Don Timoteo	1	Andinas
2	G11796	2	
3	Bolón Bayo	4	
4	Montcalm	8	
5	Amendoin	16	
6	G5686	32	
7	PAN 72	1	Mesoamericanas
8	G2858	2	
9	Flor de Mayo	4	
10	MEX 54	8	
11	BAT 332	16	
12	Cornell 49242	32	
13	Tío Canela 75		Testigo susceptible
14	G06727		Testigo resistente

Siembra. Las líneas de los viveros diferenciales fueron sembradas en maceteros de 8” conteniendo un sustrato suelo: compost (2:1) y ubicadas en casas de malla de 5×3m, con 16 aspersores instalados a un metro de distancia entre ellos. La unidad experimental consistió en un macetero con dos plantas y se usaron cinco repeticiones de cada tratamiento (línea diferencial); en total se usaron 70 maceteros para la caracterización de cada aislamiento. Los tratamientos (líneas diferenciales) fueron distribuidos según un diseño de bloques completos al azar (BCA). Los maceteros fueron colocados sobre mesas a una altura de 0.35m sobre el suelo. Las plantas fueron tutoradas usando tutores de bambú a una altura de 0.70m.

Aislamiento del hongo en cultivo puro. Los aislamientos fueron realizados con muestras de hojas de frijol con síntomas típicos de la mancha angular causados por *P. griseola*, provenientes de lotes comerciales de frijol en Honduras. En el laboratorio se realizó la

esporulación del hongo y producción de sinemas colocando las muestras de hojas y vainas afectadas en un ambiente de alta humedad, utilizando papel filtro humedecido con agua destilada y un triángulo de vidrio para evitar el contacto del material con el papel dentro de los platos Petri. Luego de tres días, se recolectaron los sinemas con una punta de transferencia con agar-agua para que las conidias se pegaran a esta. En los sinemas colectados se hizo gotear agua destilada (5 gotas) para inocularlas en un medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) para la reproducción de conidias. Para realizar el cultivo monospórico se colectó una espora de 2-3 días y se usó un medio de cultivo V8 en incubación a una temperatura de 20-24°C por 30 días. El cultivo monospórico fue utilizado en la producción del inóculo para inocular las plantas de los viveros diferenciales ubicadas en las casas de malla y producir las reacciones necesarias para la identificación de razas puras. Luego de tener el primer incremento de cultivo monospórico, se colectaron los sinemas y se sembraron en seis platos Petri, que se almacenaron en una cámara de incubación a 20-24 °C por 12 días, luego se procedió al raspado.

Inoculación de los diferenciales y evaluación de la severidad de daño

Inoculación. Para preparar el inóculo se raspo el hongo de seis platos Petri con el aislamiento monospórico de *P. griseola* de 12 días en crecimiento (incremento) y se depositó en un beaker con agua destilada. Luego se realizó un conteo de las conidias en la cámara de Neubauer para calcular la concentración y se preparó un litro de inóculo llevándolo a una concentración de 2×10^4 conidios /mL. Por cada litro de inóculo se colocó una gota de Tween 20[®] eliminando la agregación de conidias y la tensión superficial del agua. Para la caracterización patogénica de *P. griseola* los viveros diferenciales fueron inoculados con los aislamientos respectivos, por el haz y envés de la planta utilizando un atomizador. En total se hicieron tres inoculaciones con cada aislamiento, espaciándolas ocho días una de la otra empezando la primera inoculación a los 14 días después de la siembra (DDS).

Evaluación de la reacción a los aislamientos. Entre los 12-14 días después de la primera inoculación (DDI) se evaluó la severidad de daño de los aislamientos de *P. griseola* en los 12 diferenciales y los dos testigos, utilizando la escala de severidad de daño (CIAT 1987) (Fig. 1). La evaluación de la reacción de las plantas a los aislamientos se realizó mediante la escala de severidad 1-9 (1-3=resistente y 4-9= susceptible). La resistencia de las líneas del vivero diferencial a los aislamientos de *P. griseola* agente causal de la mancha angular, se realizó mediante la evaluación de la severidad de daño utilizando la escala del CIAT (1-9) ilustrada en la Figura 1. El análisis estadístico se realizó con el programan Statistix 8.1 y se realizó una separación de medias LSM $P < 0.05$.

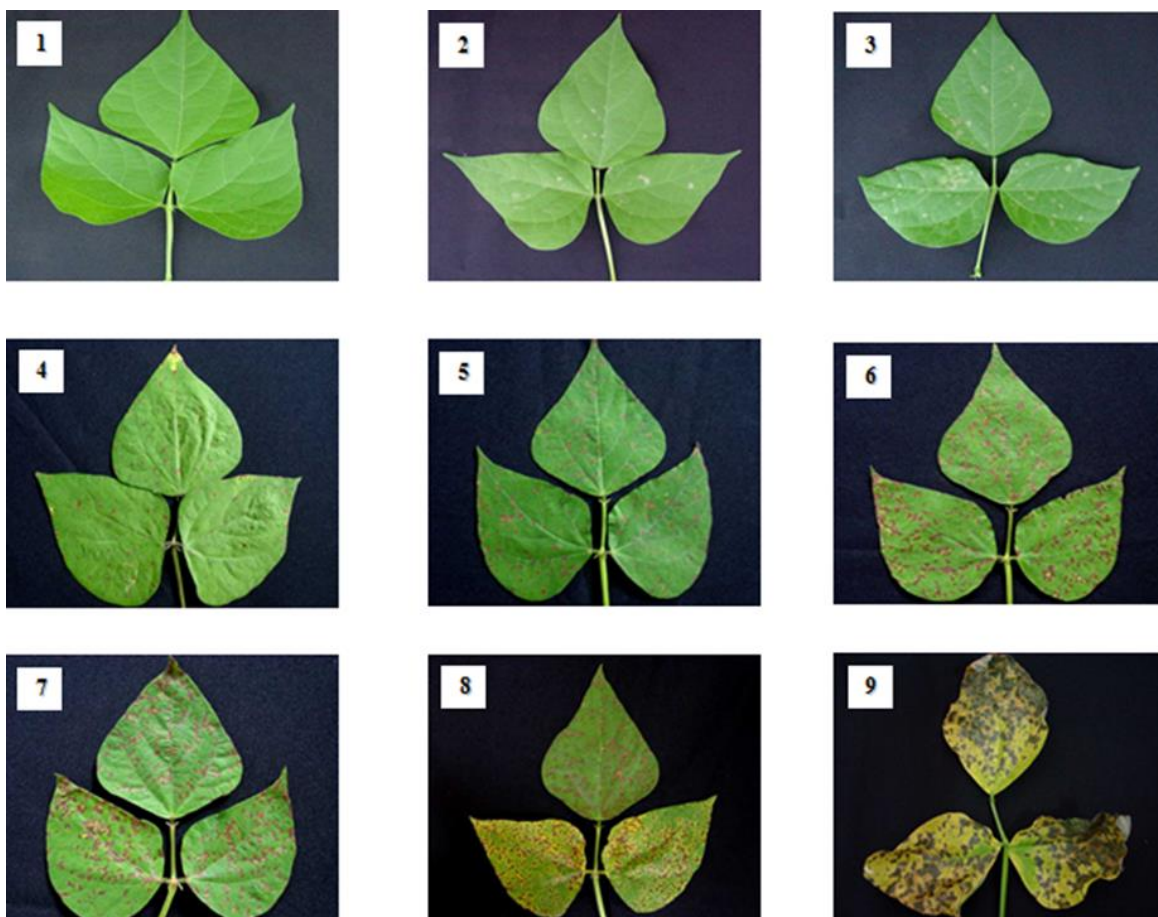


Figura 1. Escala de severidad de daño (1-9) para la evaluación de la reacción de líneas diferenciales de frijol a la inoculación con aislamientos del patógeno *Pseudocercospora griseola* causante de la mancha angular de frijol.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación de la severidad de daños de los aislamientos de *P. griseola*

Como era de esperarse, durante la evaluación de los aislamientos de *P. griseola* las reacciones de los genotipos diferenciales fueron incrementando con respecto al tiempo después de la primera inoculación, siendo los valores más altos en las últimas evaluaciones de síntomas de severidad usando la escala 1 a 9 del CIAT (1987). Para asignar la raza resultado de las reacciones de los diferenciales a la inoculación con cada aislamiento, se utilizó la última evaluación en la que se observaron las reacciones más altas de severidad utilizándose como criterio de resistencia a los valores 1 a 3, y susceptible a los valores 4 a 9, de la escala 1 a 9 antes mencionada.

Con el aislamiento Pg-Z procedente de la Vega 4, Zamorano se hicieron dos evaluaciones espaciadas seis días una de la otra. En la primera evaluación a los 26 DDS se presentó una reacción baja (rango de 1 a 4) de severidad (Cuadro 3); indicando que era prematuro observar los síntomas de la enfermedad por lo que fue necesario hacer lecturas posteriores teniendo como referencia hasta que el testigo susceptible, Tío Canela 75, expresará la reacción esperada de susceptibilidad (valor de susceptibilidad ≥ 7). En la segunda evaluación (32 DDS) los diferenciales presentaron un rango de severidad deseado (1-8), ya que el testigo susceptible Tío Canela 75 tuvo una reacción esperada de susceptibilidad que permitió determinar la virulencia del aislamiento. En los genotipos andinos el único diferencial que presentó resistencia fue G5686. En los diferenciales mesoamericanos el único resistente fue la línea Cornell 49242. Los testigos se comportaron como se esperaba, expresando susceptibilidad Tío Canela 75 y resistencia la línea G06727.

En la primera evaluación (28 DDS) del aislamiento Pg-Su de *P. griseola* colectado en Sulaco, Yoro, se presentó un rango de severidad de 1-5 en los diferenciales, incluyendo que el testigo susceptible Tío Canela 75 no presentó la severidad de daño deseada, por lo que se continuaron las evaluaciones de severidad (Cuadro 4). Aunque en la segunda evaluación (34 DDS) el daño en el testigo susceptible Tío Canela 75 se incrementó a 5 (grado intermedio de la escala), y los diferenciales andinos Don Timoteo y Bolón Bayo y el mesoamericano Flor de Mayo, presentaron susceptibilidad (≥ 7.0), se decidió continuar las evaluaciones realizándose una tercera lectura (41 DDS) en la que este testigo susceptible alcanzó el valor de 6. Con base en esta tercera evaluación, los diferenciales andinos Don Timoteo y Bolón Bayo y los mesoamericanos PAN 72 y Flor de Mayo presentaron susceptibilidad al aislamiento Pg-Su. Los únicos diferenciales resistentes (≤ 3.0) al aislamiento Pg-Su fueron Cornell 49242 y el testigo andino G06727. El resto de diferenciales presentaron una reacción intermedia (4-6).

En la primera evaluación (28 DDS) del aislamiento Pg-EB, colectado en el 2005 en El Barro, El Paraíso, se presentó un rango de severidad de 1-5, y en el testigo susceptible Tío Canela 75 un valor de 4. En la segunda evaluación (32 DDS) un se presentó rango de severidad de 2-7, y en el testigo susceptible un valor de severidad de 5, por lo que se decidió realizar una tercera evaluación (36 DDS). Con base a esta tercera y última evaluación se identificaron como susceptibles (≥ 7.0) al aislamiento Pg-EB, los diferenciales andinos Bolón Bayo y el mesoamericano G2878, y resistentes (≤ 3.0) los diferenciales mesoamericanos Flor de Mayo y BAT 332, los demás genotipos diferenciales de la mancha angular del frijol y los testigos susceptible Tío Canela 75 y resistente G06727, presentaron una reacción de severidad intermedia (4-6).

Cuadro 3. Evaluación de la severidad de daño (escala 1-9) del aislamiento Pg-Z de *Pseudocercospora griseola* procedente de la Vega 4, Zamorano en las líneas del vivero diferencial y dos testigos. Zamorano, Honduras, 2015.

N°	Diferencial	Evaluación 1 (26 DDS)	Evaluación 2 (32 DDS)
Andinos			
1	Don Timoteo	2	7
2	G11796	2	5
3	Bolón Bayo	2	6
4	Montcalm	2	5
5	Amendoin	2	6
6	G5686	1	3
Mesoamericanos			
7	PAN 72	3	8
8	G2858	4	7
9	Flor de Mayo	4	7
10	Mex 54	2	6
11	BAT 332	3	7
12	Cornell 49242	1	1
Testigos			
13	Tío Canela 75	3	7
14	G06727	1	3
	Rango (n=14)	1-4	1-8
	Promedio	2.3	5.6
	Valor P	0.00**	0.00**
	DMS (0.05)	1.1	1.4

** Probabilidad ≤ 0.01 ; DDS= Días después de siembra.

DMS: Diferencia mínima significativa.

DDS: Días después de la siembra.

Cuadro 4. Evaluación de la severidad de daños (escala 1-9) del aislamiento Pg-Su de *Pseudocercospora griseola* procedente de Sulaco, Yoro en las líneas del vivero diferencial y dos testigos. Zamorano, Honduras, 2015.

N°	Diferencial	Evaluación 1 (28 DDS)	Evaluación 2 (34 DDS)	Evaluación 3 (41 DDS)
Andinos				
1	Don Timoteo	5	7	7
2	G11796	1	4	6
3	Bolón Bayo	4	7	8
4	Montcalm	1	4	6
5	Amendoin	2	4	5
6	G5686	1	2	5
Mesoamericanos				
7	PAN 72	4	7	7
8	G2858	3	6	6
9	Flor de Mayo	4	7	8
10	Mex 54	2	4	4
11	BAT 332	3	5	5
12	Cornell 49242	1	1	2
Testigos				
13	Tío Canela 75	4	5	6
14	G06727	1	1	2
	Rango	1-5	1- 7	2-8
	Promedio	2.6	4.5	5.5
	Valor P	0.00**	0.00**	0.00**
	DMS (0.05)	1.2	1.7	1.2

** Probabilidad ≤ 0.01 ; DDS= Días después de siembra.

DMS: Diferencia mínima significativa.

DDS: Días después de la siembra.

Cuadro 5. Evaluación de la severidad de daños (escala 1-9) del aislamiento Pg-EB de *Pseudocercospora griseola* procedente de El Barro, El Paraíso en las líneas del vivero diferencial y dos testigos. Zamorano, Honduras, 2015.

N°	Diferencial	Evaluación 1 (28 DDS)	Evaluación 2 (32 DDS)	Evaluación 3 (36 DDS)
Andinos				
1	Don Timoteo	4	5	6
2	G11796	3	5	6
3	Bolón Bayo	5	6	7
4	Montcalm	2	4	4
5	Amendoin	3	5	5
6	G5686	2	4	5
Mesoamericanos				
7	PAN 72	4	6	7
8	G2858	5	7	7
9	Flor de Mayo	1	2	3
10	Mex 54	4	6	6
11	BAT 332	2	2	3
12	Cornell 49242	4	5	6
Testigos				
13	Tío Canela 75	4	5	6
14	G06727	3	4	5
	Rango	1-5	2-7	3-7
	Promedio	3.4	4.7	5.5
	Valor P	0.00**	0.00**	0.00**
	DMS (0.05)	1.43	1.35	1.14

** Probabilidad ≤ 0.01 ; DDS= Días después de siembra.

DMS: Diferencia mínima significativa.

DDS: Días después de la siembra.

Identificación de razas de *P. griseola*

En todas las evaluaciones los diferenciales presentaron valores altos (cuadro 6), de acuerdo a la escala de severidad (1-3 resistente, 4-9 susceptible) esto quiere decir que los aislamientos de *P. griseola* son virulentos, afectando a casi todos los diferenciales (Andinos y Mesoamericanos), para el aislamiento Pg-V (Vega 4. Zamorano, Francisco Morazán), la raza caracterizada fue 31-31, a la cual los primeros cinco diferenciales andinos presentaron susceptibilidad y el diferencial G5686 presentó resistencia con un valor de severidad de 3. La línea diferencial G5686 es de origen andino y es usada para cruces que confieran resistencia a la mancha angular ya que posee el gen de accesión G5686 y presenta resistencia a varias razas de *P. griseola* entre las cuales está la raza 31-31 (Mahuku *et al.* 2009).

En el aislamiento Pg-Su (Sulaco, Yoro, Honduras) la raza caracterizada fue 63-43, la cual también mostró alta virulencia, todos los diferenciales andinos mostraron susceptibilidad, de los diferenciales mesoamericanos los primeros cinco mostraron susceptibilidad y Cornell 49242 que presentó resistencia con un valor de 2. La línea Cornell 49242 de origen mesoamericano posee el gen Phg-2 que confiere resistencia a la mancha angular específicamente a la raza 31-17 (Nietsche *et al.* 2000).

En el aislamiento Pg-EB (El Barro, El Paraíso, Honduras), la raza caracterizada fue 63-43, mostró alta virulencia, todos los diferenciales andinos mostraron susceptibilidad y los diferenciales mesoamericanos cinco mostraron susceptibilidad y BAT 332 mostró resistencia a la raza caracterizada. La línea BAT 332 posee el gen G10474 dominante (305 pares de bases) y Phg-2 que confieren resistencia a la mancha angular (Rodríguez 2013).

Caracterización de razas patógenas de *Pseudocercospora griseola*

Los resultados de las evaluaciones de las reacciones de los genotipos diferenciales con cada uno de los aislamientos de *P. griseola* recolectados en Honduras permitieron la caracterización de tres razas a partir de los tres aislamientos, demostrando la alta variabilidad que posee el patógeno causante de la mancha angular del frijol en Honduras (Cuadro 6). Las razas fueron caracterizadas con los valores binarios 31-31, 63-31, 63-43 obtenidos de las reacciones de severidad de daños en los 12 genotipos diferenciales a la inoculación con los aislamientos Pg-Z, Pg-Su y Pg-EB, respectivamente.

El aislamiento Pg-Z caracterizado como la raza 31-31 fue el aislamiento de menor virulencia, sin embargo produjo reacciones de susceptibilidad en cinco líneas diferenciales andinas y cinco mesoamericanas, y solamente la línea andina G5686 y la mesoamericana Cornell 49242 presentaron resistencia a esta raza. La raza 63-31 del aislamiento Pg-Su afectó a todos los diferenciales andinos y a cinco mesoamericanos, siendo Cornell 49242 el único diferencial resistente a esta raza. La raza 63-43 del aislamiento Pg-EB fue la más virulenta de las tres produciendo síntomas de susceptibilidad en todas las líneas andinas y cuatro líneas mesoamericanas, excepto las líneas Flor de Mayo y BAT 332 que presentaron resistencia. Por ser altamente virulento, el aislamiento Pg-EB ha sido utilizado en la preparación de inóculo usado en otros ensayos en Zamorano anteriormente.

Considerando las reacciones a la inoculación con los tres aislamientos, la línea diferencial Cornell 49242 fue la más resistente, ya que presentó resistencia a las razas 31-31 y 63-31, similar al testigo resistente G06727. De las otras líneas diferenciales, sólo G5686 presentó resistencia a la raza 31-31, y Flor de Mayo a la raza 63-43. Ambos testigos fueron susceptibles a la raza 63-43. La raza 31-31 tiene como origen Costa Rica, México, El Salvador, y Nicaragua la raza 63-31 tiene como país de origen Honduras, Nicaragua y El Salvador, mientras que la raza 63-43 solamente ha sido encontrada en Honduras (Mahuku *et al.* 2002).

Cuadro 6. Identificación de razas de *Pseudocercospora griseola* utilizando los resultados de la última evaluación de los diferenciales con los tres aislamientos. Zamorano, Honduras, 2015.

			Aislamientos de <i>P. griseola</i>		
Nº	Diferencial	Valor binario	Pg-Z	Pg-Su	Pg-EB
Andinos					
1	Don Timoteo	1	X	X	X
2	G11796	2	X	X	X
3	Bolon Bayo	4	X	X	X
4	Montcalm	8	X	X	X
5	Amendoin	16	X	X	X
6	G5686	32		X	X
Mesoamericanos					
7	PAN 72	1	X	X	X
8	G2858	2	X	X	X
9	Flor de Mayo	4	X	X	
10	Mex 54	8	X	X	X
11	BAT 332	16	X	X	
12	Cornell 49242	32			X
Raza <i>P. griseola</i> ^z			31-31	63-31	63-43

^z La raza se identifica mediante la suma de valores binarios de los diferenciales andinos y mesoamericanos que presentan reacción susceptible (4-9 en la escala) indicados por una X.

Cuadro 7. Resumen de la susceptibilidad y resistencia observada en las líneas del vivero diferencial y los dos testigos a las razas caracterizadas a partir de tres aislamientos de *Pseudocercospora griseola* colectados en La Vega 4, Sulaco y El barro. Zamorano, Honduras, 2015.

N°	Diferencial	Razas (aislamientos) de <i>P. griseola</i>		
		31-31 (Pg-Z)	63-31 (Pg-Su)	63-43 (Pg-EB)
1	Don Timoteo	S	S	S
2	G11796	S	S	S
3	Bolón Bayo	S	S	S
4	Montcalm	S	S	S
5	Amendoin	S	S	S
6	G5686	R	S	S
7	PAN 82	S	S	S
8	G2858	S	S	S
9	Flor de Mayo	S	S	R
10	Mex 54	S	S	S
11	BAT 332	S	S	R
12	Cornell 49242	R	R	S
Testigos	Tío Canela 75	S	S	S
	G06727	R	R	S

R=resistente; S=Susceptible

4. CONCLUSIONES

- Se realizó la caracterización patogénica de tres aislamientos de Honduras provenientes de Zamorano (Pg-Z), Sulaco, Yoro (Pg-Su) y El Barro, El Paraíso (Pg-EB), los cuales resultaron ser virulentas según los resultados obtenidos mediante el uso del vivero de líneas diferenciales de la mancha angular.
- Con base en la reacción de susceptibilidad y la asignación del valor binario correspondiente a los diferenciales, se identificaron tres razas diferentes, 31-31, 63-31 y 63-43 con los aislamientos Pg-Z, Pg-Su y Pg-EB, respectivamente.
- La mayoría de los diferenciales presentaron susceptibilidad a las tres razas, exceptuando a la línea andina G5686 y la mesoamericana Cornell 49242, las cuales presentaron resistencia a la raza 31-31. Así mismo, la línea Cornell 49242 presentó resistencia a la raza 63-31 y las líneas mesoamericanas Flor de Mayo y BAT 332 a la raza 63-43.
- El testigo resistente mostró susceptibilidad al aislamiento Pg-EB, caracterizado como la raza más virulenta 63-43, lo cual respalda las acciones emprendidas por el PIF para incorporar otros genes que confieran una resistencia más amplia, para afrontar la diversidad patogénica y virulencia de las razas de *P. griseola* presentes en Honduras.

5. RECOMENDACIONES

- Continuar con las actividades de caracterización de razas de *P. griseola* de aislamientos recolectados en otras regiones productoras de frijol de Honduras, para entender mejor el comportamiento del agente causal de la mancha angular y definir estrategias de mejoramiento genético efectivas.
- Evaluar líneas mejoradas desarrolladas mediante la introgresión de los genes de resistencia *Phg1*, *Phg2* y el gen de la accesión G10474, utilizados en el mejoramiento de la resistencia a la mancha angular por el PIF, utilizando las razas identificadas en este estudio.
- Continuar las acciones de mejoramiento genético incorporando nuevos genes para ampliar la base genética de la resistencia al patógeno causante de la mancha angular en el frijol.

6. LITERATURA CITADA

Campos Ávila, J. 1987. Enfermedades del frijol. México, Editorial Trillas. 132 p.

Chacón, M.I., C. Jara., G. Castellanos., C.E. Posso., R. Buruchara., J.B. Cuasquer y M.A. Pastor Corrales. 1996. Diversidad genética y relación entre aislamientos de África y América Latina del hongo de la mancha angular del frijol común: Implicaciones para el mejoramiento genético. In: S.P. Singh; O. Voysest (eds.). Taller de Mejoramiento de Frijol para el siglo XXI: Bases para una estrategia para América Latina. CIAT. Cali, Colombia. 559 p.

CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 1992. Catálogo de germoplasma del frijol común *Phaseolus vulgaris* L. Cali, Colombia. 450 p.

CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 1987. Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol. Trad. EDITEC. A.V. Schoonhoven y M.A Pastor-Corrales (comp.). Cali, Colombia. 56 p.

Ferraz, S. 1980. La mancha foliar angular. In: H.F. Schwartz., G.E. Galvez (eds.). Problemas de la Producción del Frijol: Enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de *Phaseolus vulgaris*. Cali, Colombia. p. 55-64.

Labrada, R., J. Caseley y C. Parker. 1996. Manejo de malezas para países en desarrollo. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. Roma, Italia 137 p.

Leon Saavedra I. 2009. La antracnosis y la mancha angular del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliana Dimitrova. La Habana, Cuba. p. 45-54.

Mahuku, G.S., A.M. Iglesias y C. Jara. 2009. Genetics of angular leaf spot resistance in the Andean common bean accession G5686 and identification of markers linked to the resistance genes. Euphytica, 167: 381-396.

Mahuku, G.S., C. Jara., J. Cuasquer y G. Castellanos. 2002. Genetic variability within *Phaeoisariopsis griseola* from Central America and its implications for resistance breeding of common bean. Plant Pathology, 51: 594-604.

Nietsche, S., A. Borem., G.A. Carvalho., R.C. Rocha., T.J. Paula., E.G. de Barros y M.A. Moreira. 2000. RAPD and SCAR markers linked to a gene conferring resistance to angular leaf spot in common bean. *Journal of Phytopathology* 148:117-121.

Pastor Corrales, M.A. y C.E. Jara. 1995. La evolución de *Phaeoisariopsis griseola* con el frijol común en América Latina. *Fitopatología Colombiana* 19:15-24.

Rodríguez I. 2013. Caracterización de razas y selección fenotípica y molecular de líneas de frijol común resistentes a la mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) Sacc. Ferraris. Tesis Ing. Agr. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 42 p.

Rosas J.C. 2003. El Cultivo del Frijol Común en América Tropical. EAP. Zamorano. 2 ed. Imprenta Litocom. Tegucigalpa, Honduras. 57 p.

Rosas J.C., A. Castro y E. Flores. 2000. Mejoramiento genético del frijol rojo y negro mesoamericano para Centroamérica y el Caribe. *Agronomía Mesoamericana* 11(2): 37-43.

Rosas, J.C., O. Varela y J. Beaver. 1997. Registration of “Tío Canela-75” Small Red Bean (Race Mesoamerica). *Crop Science* 37(4):139.

Schwartz, F., F. Correa y M.A. Pastor Corrales. 1982. La mancha angular del frijol y su control: Guía de estudio. Edi. Hector Fabio., A. Carlos. Cali, Colombia. 23 p.

7. ANEXOS

Anexo 1. Caracterización de la raza 31-31 de *Pseudocercospora griseola* procedente de la vega 4, Zamorano, Honduras, 2015.

Inoculación	14 DDS	Aislamiento	Pg-Z						
Evaluación	20/07/15 (18 DDI)								
		Descripción	12 Diferenciales						
Ubicación	Casas de malla	Testigos	Tío canela 75, G06727						
		Plantas/valor (1-9)					Valor		
	Diferencial		1	2	3	4	5	Binario	Reacción
Andinos	1 Don Timoteo		7	8	6	8	8	1	S
	2 G11796		6	6	5	6	4	2	S
	3 Bolón Bayo		7	6	6	5	6	4	S
	4 Montcalm		4	5	5	5	6	8	S
	5 Amendoin		7	7	7	4	3	16	S
	6 G5686		2	4	1	3	3	32	R
Mesoamericanos	1 PAN 72		8	8	8	8	9	1	S
	2 G2858		8	8	6	6	7	2	S
	3 Flor de Mayo		7	8	8	6	7	4	S
	4 MEX 54		8	4	8	7	4	8	S
	5 BAT 332		7	8	6	8	6	16	S
	6 Cornell 49242		1	1	1	2	1	32	R
Testigos	1 Tío canela (S)		7	7	7	8	8		S
	2 G06727(R)		3	1	2	3	4		R
Raza									31-31

R: resistente, S: susceptible

Resistentes: (1-3)

Susceptibles:(4-9)

DDS: Días después de la siembra

DDI: Días después de la primera inoculación

Anexo 2. Caracterización de la raza 63-31 de *Pseudocercospora griseola* procedente de Sulaco, Yoro, Honduras, 2015.

Inoculación	14 DDS	Aislamiento	Pg-Su					
Evaluación	20/07/15 (26 DDI)	Descripción	12 Diferenciales					
			Tío canela 75,					
Ubicación	Casas de malla	Testigos	G06727					
		Plantas/valor (1-9)			Valor			
	Diferencial	1	2	3	4	5	Binario	Reacción
Andinos	1 Don Timoteo	7	3	7	8	6	1	S
	2 G11796	5	6	6	6	7	2	S
	3 Bolón Bayo	8	8	8	8	8	4	S
	4 Montcalm	5	7	6	5	6	8	S
	5 Amendoin	6	4	5	7	4	16	S
	6 G5686	5	5	5	4	4	32	S
Mesoamericanos	1 PAN 72	6	8	8	7	7	1	S
	2 G2858	7	6	6	5	6	2	S
	3 Flor de Mayo	7	8	7	8	8	4	S
	4 MEX 54	6	5	2	2	7	8	S
	5 BAT 332	5	4	5	6	6	16	S
	6 Cornell 49242	2	2	1	2	2	32	R
Testigos	1 Tío canela (S)	6	6	6	6	7		S
	2 G06727(R)	2	3	2	2	2		R
							Raza	63-31

R: resistente, S: susceptible

Resistentes: (1-3)

Susceptibles:(4-9)

DDS: Días después de la siembra

DDI: Días después de la primera inoculación

Anexo 3. Caracterización de la raza 63-43 de *Pseudocercospora griseola* procedente de El Barro, El paraíso, Honduras, 2015.

Inoculación	14 DDS	Aislamiento	Pg-EB					
Evaluación	10/09/15 (23 DDI)							
		Descripción	12 Diferenciales					
Ubicación	Casas de malla	Testigos	Tío canela 75, G06727					
		Plantas/valor (1-9)					Valor Binario	Reacción
		Diferencial	1	2	3	4	5	
Andinos	1 Don Timoteo	7	3	6	7	6	1	S
	2 G11796	5	7	7	5	6	2	S
	3 Bolón Bayo	7	6	7	7	8	4	S
	4 Montcalm	5	3	4	6	4	8	S
	5 Amendoin	5	6	6	4	5	16	S
	6 G5686	5	4	4	5	5	32	S
Mesoamericanos	1 PAN 72	7	7	7	6	6	1	S
	2 G2858	7	8	7	8	7	2	S
	3 Flor de Mayo	2	2	4	3	4	4	R
	4 MEX 54	6	7	7	5	7	8	S
	5 BAT 332	4	3	3	2	3	16	R
	6 Cornell 49242	5	6	5	7	6	32	S
Testigos	1 Tío canela (S)	6	6	6	6	7		S
	2 G06727(R)	5	6	4	5	5		S
							Raza	63-43

R: resistente, S: susceptible

Resistentes: (1-3)

Susceptibles:(4-9)

DDS: Días después de la siembra

DDI: Días después de la primera inoculación