

# Evaluación de genotipos de frijol para la resistencia a Bean golden yellow mosaic virus (BGYMV)



<https://eqrcode.co/a/3Vh86t>

## Evaluation of bean genotype for resistance to Bean golden yellow mosaic virus (BGYMV)

<sup>1</sup>Lidia Chang-Sidorchuk<sup>1\*</sup>, Alexis Lamz-Piedra<sup>2</sup>, <sup>2</sup>Heidy González-Alvarez<sup>1</sup>, Arianna Morales-Soto<sup>2</sup>, Alejandro Mederos Ramírez<sup>2</sup>, <sup>2</sup>Yamila Martínez-Zubiaur<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Apartado 10. San José de las Lajas. Mayabeque, Cuba.

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). San José de las Lajas. Mayabeque, Cuba.

**RESUMEN:** El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las leguminosas de grano más importante para el consumo humano. En Cuba existen diferentes factores que limitan su producción, entre los que se destaca la enfermedad del mosaico amarillo dorado del frijol, ocasionada principalmente por el begomovirus *Bean golden yellow mosaic virus* (BGYMV). El mejoramiento genético para la resistencia a este virus es una de las estrategias más efectivas para el control de la enfermedad. El objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento de genotipos de frijol frente a la enfermedad del mosaico amarillo dorado del frijol, así como la identificación del gen de resistencia *bgm-1* a partir del marcador SCAR codominante S2 en genotipos de la colección de trabajo del INCA. Se realizó la evaluación visual de los síntomas virales a las plantas de cada genotipo en etapa de floración, según la escala propuesta por CIAT (1991). Se realizó la extracción de ADN a 61 genotipos y, a partir del análisis por PCR con los cebadores S2, fue posible identificar 19 genotipos con presencia del gen *bgm-1* en estado recesivo, lo que confiere la resistencia al BGYMV. Se detectaron 32 genotipos con grados de síntomas 1 o 2 ocasionados por begomovirus sin la presencia del gen recesivo *bgm-1*. Los resultados en este trabajo constituyen un aporte para el programa de mejoramiento del frijol común en Cuba, debido a que los genotipos analizados son materiales provenientes de los programas de mejoramiento genético de la región y cultivares que se encuentran en la producción nacional y representan nuevas fuentes de resistencia.

**Palabras clave:** begomovirus, *bgm-1*, *Phaseolus vulgaris*, resistencia.

**ABSTRACT:** The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is one of the most important grain legumes for human consumption. In Cuba, there are different factors that limit its production, among which the bean golden yellow mosaic disease, caused mainly by the begomovirus *Bean golden yellow mosaic virus* (BGYMV). Genetic improvement for resistance to this virus is one of the most effective strategies for disease control. The objective of this work is to evaluate the behavior of bean genotypes against the bean golden yellow mosaic disease and the identification of the resistance gene *bgm-1* using the codominant SCAR marker S2 in genotypes from the INCA working collection. The severity of the viral symptoms was evaluated in each genotype in flowering stage according to the scale proposed by CIAT (1991). DNA extraction was performed on 61 genotypes. From the PCR analysis with the S2 primers it was possible to identify 19 genotypes with presence of the *bgm-1* gene in recessive state, which confers the resistance to the BGYMV. 32 genotypes with 1 or 2 symptoms degree caused by begomovirus were detected, without the presence of the *bgm-1* recessive gene. The results of this work constitute a great contribution to the common bean improvement program in Cuba, due to the fact that analyzed genotypes are materials from the genetic improvement programs of the region and from cultivars that belong to national production and constitute new resistance sources.

**Key words:** begomovirus, *bgm-1*, *Phaseolus vulgaris*, resistance.

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las leguminosas de grano más importante para el consumo humano. En Cuba, las condiciones de suelo y clima favorecen su cultivo, lo que conlleva a que se establezca en la mayoría del territorio nacional (1). Sin embargo, diferentes factores limitan su producción, entre los que se destaca la presencia de la enfermedad del mosaico amarillo dorado del frijol, ocasionada principalmente por el begomovirus *Bean golden yellow mosaic virus* (BGYMV), transmitido por la mosca blanca *Bemisia tabaci* (2, 3).

Los genotipos de frijol susceptibles, infectados en las primeras etapas de desarrollo, generalmente muestran un amarillamiento sistémico intenso y pueden tener pérdidas totales debido a la alta incidencia de aborto de flores y la deformación de las vainas (4).

La primera evidencia de esta enfermedad en Cuba se informó a mediados de la década del 70 y ocasionó graves pérdidas en la producción (5). La incidencia de BGYMV disminuyó a finales de los 90 y primeros años de la década de 2000, debido a la introducción de cultivares resistentes acompañados de programas de manejo y prevención (1). Sin embargo, en los últimos años se ha observado un incremento de los síntomas de la enfermedad en las áreas de producción, posiblemente influenciados por el acceso limitado a nuevos cultivares y el aumento en la diversidad de semillas introducidos por los agricultores, dada la necesidad de aumentar los alimentos, ignorando los programas de mejoramiento genético para resistencia a los begomovirus (6).

\*Correspondencia a: Lidia Chang-Sidorchuk. E-mail [lchang@censa.edu.cu](mailto:lchang@censa.edu.cu)

Recibido: 5/2/2021

Aceptado: 22/6/2021

El mejoramiento genético para la resistencia a este virus es una de las estrategias más efectivas para el control de la enfermedad. Una de las fuentes de resistencia aplicada ampliamente al BGYMV es el gen recesivo *bgm-1*, derivado del cultivar local Garrapato (México) que condiciona una resistencia parcial sin mosaico como respuesta al patógeno (7). Ligado a este gen, se ha descrito el marcador molecular SCAR SR2 que es codominante y polimórfico, derivado del marcador RAPD R2 (8). El objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento de genotipos de frijol frente a la enfermedad del mosaico amarillo dorado del frijol, así como la identificación del gen de resistencia *bgm-1* a partir del marcador SR2 en genotipos de la colección de trabajo del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA).

El experimento se desarrolló en la finca de producción de semilla del INCA. La siembra se realizó sobre un suelo Nitisol ferrálico lixiviado típico (éutrico, ródicico, arcilloso) (9), en época temprana, en septiembre de 2018, con condiciones favorables para una alta incidencia de la mosca blanca (*Bemisia tabaci* Gen.) (10). Se realizaron parcelas experimentales en un diseño aumentado modificado con una densidad de siembra de 200000 plantas por hectárea. En la siembra se incluyeron los cultivares 'Velasco Largo', altamente susceptible a la enfermedad del mosaico amarillo dorado del frijol y 'Delicia 364' (DOR 364), catalogado como altamente resistente y con presencia del gen *bgm-1* (10).

Se evaluaron 61 genotipos procedentes de la colección de trabajo de frijol del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INCA), donde se incluyen 34 líneas experimentales, 16 cultivares comerciales y materiales colectados en fincas de agricultores de alto valor comercial.

### DETECCIÓN DEL GEN *BGM-1* EN LOS GENOTIPOS DE FRIJOL

Se tomaron muestras de plantas en etapa de floración y se realizó la extracción de ADN (11). El ADN obtenido de cada una de las muestras de los 61 genotipos analizados se sometió a la amplificación por PCR con los marcadores moleculares SCAR SR2 (SR2-

F: 5' CACAGCTGCCACAGGTGGGA3' y SR2-R: 5' CACAGCTGCCCTAACAAAAT3') para seleccionar plantas portadoras del gen de resistencia a BGYMV (8).

Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen final de 25 µl que contenía, aproximadamente, 50 ng de ADN genómico, 12,5 µl de GoTaq Green Master Mix (Promega, Madison, WI, USA) con una concentración de 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 µM de dNTPs y 10 pmol de cada uno de los cebadores SR2-F y SR2-R. La reacción de PCR se realizó en un termociclador Heal Force TOUCH T 960 (Hong Kong) con el siguiente programa de amplificación: una desnaturalización inicial de 2 min a 94°C seguida de 30 ciclos de 30 s a 94°C, 1 min a 60°C y 1 min a 72°C, y una extensión final de 5 min a 72°C. Los productos de amplificación se visualizaron por medio de electroforesis en gel de agarosa al 2 % y tinción con bromuro de etidio en un transiluminador de luz ultravioleta. A partir de los resultados se analizó la presencia del gen *bgm-1* en los genotipos.

### EVALUACIÓN DE SÍNTOMAS DE BEGOMOVIRUS EN GENOTIPOS DE FRIJOL

La evaluación de la severidad de los síntomas de BGYMV se realizó mediante el examen de las plantas en la etapa de floración; se siguió la escala de nueve grados propuesta por CIAT (12), basándose solamente en la incidencia en campo de la enfermedad (Tabla 1).

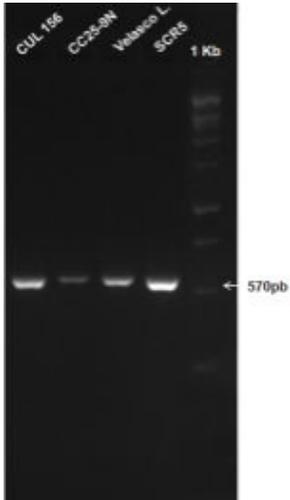
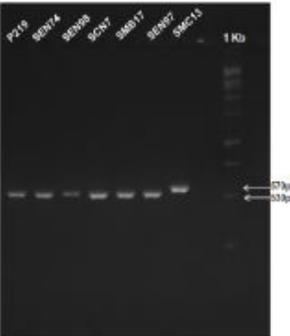
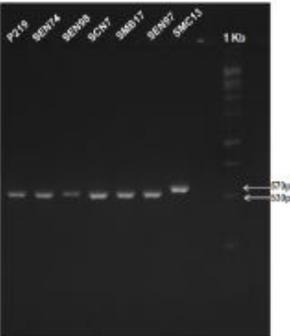
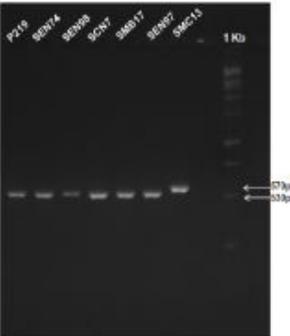
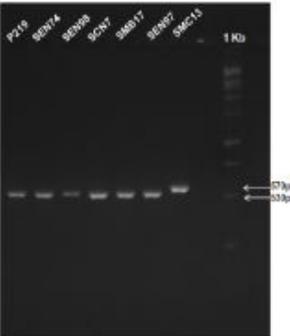
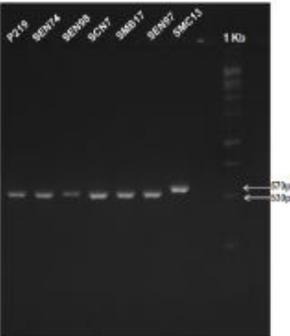
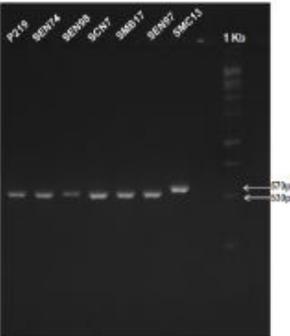
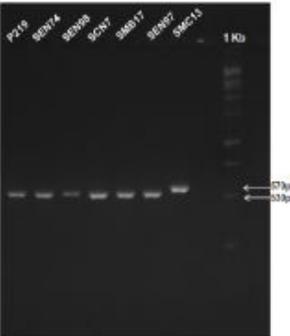
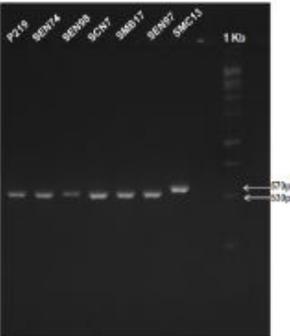
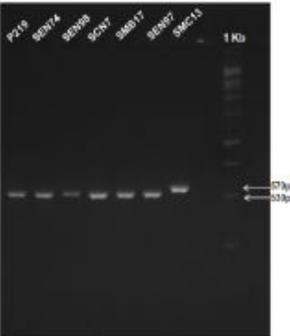
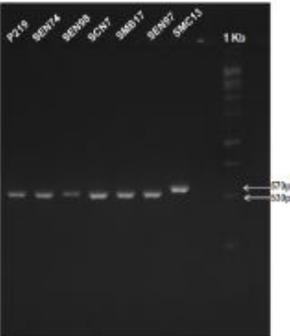
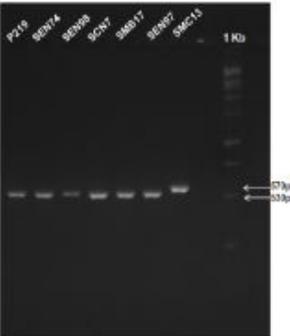
A partir del análisis por PCR con los cebadores S2, fue posible identificar 19 genotipos con presencia del gen *bgm-1* en estado recesivo (*bgm-1/bg m-1*), el cual ofrece resistencia a BGYMV (Tabla 2). Las líneas experimentales fueron las más representadas, con 16 genotipos con presencia del gen *bgm-1*. En los cultivares comerciales, solo dos ('Triunfo 70' y el testigo 'Delicias 364 ') presentaron el gen *bgm-1*.

Se pudo evidenciar que el tamaño de los fragmentos amplificados fue de 530 pb en los genotipos resistentes o 570 pb en los genotipos susceptibles; presentaron resistencia en su combinación homocigota recesiva (*bgm-1/bg m-1*) y susceptibilidad en su combinación homocigota dominante (*Bgm-1/Bgm-1*) y heterocigota (*Bgm-1/bg m-1*), lo que permite la identificación de plantas resistentes al virus (8).

Tabla 1. Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol común mejorados (CIAT, 1991)

Calificación	Síntomas	Rendimiento
1	Ausentes	Excelente
2	Dudosos	
3	Débiles	Bueno
4	Moderados	
5	Intermedios	Intermedio
6	Generales	
7	Intensos	Escaso
8	Severos	
9	Muerte	Muy escaso

**Tabla 2.** Comportamiento del gen *bgm-1* en los genotipos estudiados

Tipo de material	Genotipos estudiados		Combinación de alelos del gen <i>bgm-1</i> obtenida con SR2	Tamaños de alelos amplificados
Línea experimental	SCR 15	SMN 6	<i>Bgm-1/bg m-1</i>	
	SEN 78	SMR 40		
	SEN 81	SMR 42		
	MIB 778	SCR 3		
	SMC 4	Erecto 1-1		
	SMC 13	Erecto 1-2		
	SCR 5	Erecto 1-3		
	SEN 79	Erecto 1-5		
	SEN 96	Erecto 1-7		
Selección Odile	29		<i>bgm-1/bg m-1</i>	
	32			
	28			
Germoplasma INIFAT	P186		<i>bgm-1/bg m-1</i>	
	P248-1			
PRL8			<i>bgm-1/bg m-1</i>	
Cultivar local	SELECCIÓN La Palma		<i>bgm-1/bg m-1</i>	
Cultivar introducido	Macusalito		<i>bgm-1/bg m-1</i>	
Cultivar Comercial	Lágrimas rojas	Tazumal	<i>bgm-1/bg m-1</i>	
	(Cuba Cueto( 25-9C	Caujerí 2170		
	(Cuba Cueto( 25-9N	Rosas		
	(Cuba Cueto( 25-9B	Quivicán		
	San Francisco 219	CUFIG145		
	RED -KLOUD	Cul 156		
Velasco Largo	Rubí		<i>bgm-1/bg m-1</i>	
Línea experimental	SEN 89		<i>bgm-1/bg m-1</i>	
	SEN 98			
	SEN 99			
	SMB 17			
	SCR 9			
	SCR 16			
	SEN 74			
SEN 97				
Selección Odile		SEN 77	<i>bgm-1/bg m-1</i>	
		SCN 7		
	36	SEN 94		
	38	SEN 95		
Germoplasma INIFAT		SMB 13	<i>bgm-1/bg m-1</i>	
		SCN 12		
	P219			
Cultivar comercial	Triunfo 70		<i>bgm-1/bg m-1</i>	
	Delicias 364			

\*Electroforesis en gel de agarosa al 2 % del ADN de genotipos de frijol amplificado por PCR con los cebadores SR2.

En cuanto a la evaluación de los síntomas, 16 de los 19 genotipos portadores del gen *bgm-1* en homocigosis recesiva, mostraron grado 1, de acuerdo a la escala de síntomas utilizada, lo que confirma la efectividad de la presencia de este gen en estado recesivo para conferir resistencia a BGYMV. Sin embargo, los genotipos ‘SEN 97’, ‘Triunfo 70’ y ‘P 219’ mostraron síntomas ligeros de la infección, típicos de la presencia de BGYMV a pesar de la presencia del gen en estado recesivo. A partir de estos resultados se pueden recomendar las siguientes líneas experimentales para continuar en el programa de mejoramiento genético para la resistencia a BGYMV: SEN 89, SEN 98, SEN 99, SMB 17, SCR 9, SCR 16, SEN 74, SEN 77, SCN 7, SEN 94, SEN 95, SCN 12, SMB 13.

Los genotipos ‘CUFIG145’, ‘Cul 156’ y ‘RED - KLOUD’ presentaron los mayores valores de severidad (grado 7 y 8) identificados en campo, con síntomas generales intensos similares a los detectados en ‘Velasco Largo’ (testigo susceptible), por lo que no se recomienda la introducción de estos cultivares comerciales en la producción.

Por otro lado, se detectaron 32 genotipos sin síntomas o síntomas ligeros (grados 1 y 2) y no presentaron el gen *bgm-1* en estado de resistencia, lo que pudiera indicar la presencia de otros genes de resistencia relacionados con la enfermedad del mosaico amarillo dorado del frijol. Por tanto, se recomienda profundizar en su estudio para la detección de otras posibles fuentes de resistencia.

Aunque en términos prácticos, el gen *bgm-1* es el más importante para conferir resistencia a BGYMV (13, 14), este gen está asociado con la resistencia a los síntomas generales de la enfermedad como amarillamiento o clorosis, pero no con síntomas como el enanismo, que se relaciona con otros factores de resistencia como el gen *Dwf* (8). Otros genes de resistencia son más eficaces cuando están presentes con el gen *bgm-1*, como son *Bgp1*, ligado al desarrollo normal de las vainas durante la infección (15), o el locus W12 de resistencia a BGYMV (16).

El gen *bgm-1* reduce el mosaico y el amarillamiento sistémico, típicos de la enfermedad; ha sido especialmente importante y efectivo en América Central (13) y ha demostrado que es un gen estable y valioso para generar cultivares tolerantes al mosaico amarillo dorado del frijol (8).

BGYMV es la enfermedad viral del frijol más seria y limitante en Centroamérica y el Caribe. Para controlar esta enfermedad, es necesario pirimidizar genes que confieran resistencia, no solo a BGYMV, sino también a otras enfermedades transmitidas por la mosca blanca. La selección asistida por marcadores permite eliminar segregantes en generaciones tempranas y optimiza el espacio y los recursos dedicados a la población en desarrollo y permite hacer una selección en líneas avanzadas para confirmar la presencia de

genes de resistencia a BGYMV antes de incluir estas líneas como progenitoras (8).

Los resultados en este trabajo son un soporte al programa de mejoramiento del frijol común en Cuba, pues permitieron la identificación de una fuente de resistencia a esta importante enfermedad y conocer su presencia y la reacción en campo en cultivares comerciales, en cultivares que están en la producción a nivel local y en líneas experimentales que están próximas a ser liberadas por su comportamiento agronómico.

Ello permite clasificar en breve tiempo los genotipos presentes en la colección y el empleo de estos materiales como fuentes de resistencia a la enfermedad para progresar en la obtención de nuevos genotipos y la clasificación de su comportamiento ante el BGYMV.

## REFERENCIAS

1. Calero-Hurtado A, Díaz YP, Rodríguez E, Viciado D, Calzada K. Efecto de la aplicación asociada entre *Rhizobium leguminosarum* y microorganismos eficientes sobre la producción del frijol común. Ciencia y tecnología agropecuaria. 2019; 20(2).
2. Echemendía A, Ramos González P, Peral Pérez R, Porras González Á, González Arias GA. Selección de genotipos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) resistentes al virus del mosaico dorado amarillo del frijol (BGYMV) por hibridación de ácidos nucleicos. Fitosanidad. 2007;11(4):3-11.
3. Chang-Sidorchuk L, Alvarez HG, Martínez Zubiaur Y. Begomoviruses infecting common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in production areas in Cuba. Span. J. Agric. Res. 2018;16(2):23.
4. Galvez GE, Morales FJ. Whitefly-transmitted viruses. En: Bean Production Problems in the Tropics. 2nd ed. H.F. Schwartz and M. A. Pastor-Corrales, eds. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. 1989. p. 379-406
5. Blanco N, Lastres N, Bencomo I. Incidencia de las enfermedades virosas del frijol en Cuba. Ciencias de la Agricultura [Cuba]. 1984;19:21-22.
6. de la Fé Montenegro CF, Lamz Piedra A, Cárdenas Travieso RM, Hernández Pérez J. Respuesta agronómica de cultivares de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) de reciente introducción en Cuba. Cultivos Tropicales. 2016;37 (2): 102-107
7. Urrea CA, Miklas PN, Beaver JS, Riley RH. A codominant RAPD marker useful for indirect selection of BGMV resistance in common bean. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 1996;121(6):1035-1039
8. Blair MW, Lina MR, Pedraza F, Morales F, Beeb S. Genetic mapping of the bean golden yellow mosaic geminivirus resistance gene *bgm-1* and linkage with potyvirus resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Theor Appl Genet. 2007;114:261-271.

9. Hernández A, Pérez J, Bosh D, Castro N. Clasificación de los suelos de Cuba. 2015. Ediciones INCA, Mayabeque, Cuba. 1025, 93p. ISBN 978-959-7023-77-7
10. Faure B, Benítez R, García A, Ortega L. Manual para la producción sostenible del frijol común. Artemisa, Cuba. Instituto de Investigaciones de Granos. 2017; 114 p.
11. Permingeat HR, Romagnoli MV, Vallejos RH. A simple method for isolating high yield and quality DNA from cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaves. Plant Mol. Biol. Rep. 1998; 16: 1-6
12. CIAT: Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol, Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia, 1991.
13. Beebe SE, Ochoa I, Skroch P, Nienhuis J, Tivang J. Genetic diversity among common bean breeding lines developed for Central America. Crop Sci. 1995; 35(4):1178-1183.
14. Singh SP, Morales FJ, Miklas PN, Terán H. Selection for bean golden mosaic resistance in intra- and interracial vean populations. Crop. Sci. 2000; 40:1565-1572.
15. Acevedo M, Molina A, Angel JC, Muñoz C, Beaver J. Inheritance of normal pod development in bean golden yellow mosaic resistant common bean. J Am Soc Hort Sci. 2004;129(4):549-552.
16. Miklas PN, Delorme R, Stone V, Daly MJ, Stavely JR, Basset MJ, *et al.* Bacterial, fungal and viral disease resistance loci mapped in a recombinant inbred common bean population ("Dorado"/XAN 176). J Am Soc Hort Sci. 2000; 125:476-481

**Declaración de conflicto de intereses:** Los autores declaran que no poseen conflicto de intereses.

**Contribución de los autores:** **Lidia Chang-Sidorchuk:** participó en el diseño de la investigación, la colecta de muestras, en el trabajo molecular en el laboratorio y el análisis de los resultados. Realizó la escritura del manuscrito, su revisión y redacción final. **Alexis Lamz-Piedra:** trabajó en el diseño y la ejecución de los experimentos en el campo, en el diseño de la siembra y la selección de los cultivares para el estudio. Realizó una revisión crítica y aportó sus conocimientos en el proceso de redacción del manuscrito. **Heidy González-Alvarez:** participó en la colecta de las muestras en el campo, en las extracciones de ADN y el análisis de los resultados. Participó en la redacción del manuscrito. **Arianna Morales-Soto y Alejandro Mederos Ramírez:** trabajaron en el diseño de la siembra y la selección de los cultivares para el estudio. Participaron en la colecta de muestras y el análisis de los resultados. Contribuyeron a la redacción del manuscrito. **Yamila Martínez-Zubiaur:** orientó el estudio y el diseño de la investigación. Líder del proyecto de investigación. Participó en el análisis de los resultados y en la revisión crítica del manuscrito, así como en su aprobación final.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)