

# Variabilidad patogénica de aislamientos de *Pseudocercospora griseola* en dos provincias de Ecuador<sup>1</sup>

Diego Rodríguez<sup>2</sup>, Laura Vega<sup>2</sup>, Ángel Murillo<sup>2</sup> y Eduardo Peralta<sup>2</sup>

J. Agric. Univ. P.R. 101(1):107-119 (2017)

## RESUMEN

El fréjol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa de grano comestible más importante en Ecuador. El Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca de este país estimó que en el 2012 se cultivaron 71,600 hectáreas, de las cuales el 53% del área sembrada se destinó a cosecha en grano seco y el restante 47% se cosechó en grano tierno. El fréjol constituye una fuente importante de ingresos económicos para los agricultores, y de alimento para miles de familias ecuatorianas. El rendimiento y la calidad del cultivo es afectado por enfermedades como la mancha angular causada por *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Ferraris. La mejor alternativa de control de esta enfermedad es el uso de variedades resistentes. Sin embargo, la durabilidad de la resistencia dependerá del conocimiento de la variabilidad del patógeno causante de la mancha angular. En Ecuador no se han realizado estudios en forma detallada y sistemática relacionados con la mancha angular. Por tal razón, se estudió la variabilidad patogénica de 21 aislamientos de *Pseudocercospora griseola*, colectados en las provincias de Carchi e Imbabura de los Andes ecuatorianos. Se identificaron trece diferentes patotipos, cinco de ellos compatibles únicamente con el grupo de diferenciales andinos y los ocho restantes compatibles con los dos grupos de diferenciales (andinos y mesoamericanos). La raza 63:0 fue la más frecuente y la raza 31:63 fue la más virulenta. Ninguno de los aislamientos fue compatible con el diferencial Cornell 49-242. Por lo tanto, futuras líneas de fréjol en Ecuador se beneficiarían al introducir el gen de resistencia *Phg-2* presente en el diferencial Cornell 49-242.

Palabras clave: mancha angular, variabilidad patogénica, *Phaseolus vulgaris*, enfermedades de plantas, hongo

## ABSTRACT

Pathogenic variability of *Pseudocercospora griseola* isolates from two provinces of Ecuador

Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is the most important edible grain legume in Ecuador. The Ministry of Agriculture, Cattle Raising, Aquaculture and Fisheries of this country estimated that 71,600 hectares

<sup>1</sup>Manuscrito sometido a la Junta Editorial el 20 de junio de 2016.

<sup>2</sup>Investigadores del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP)-Ecuador.

were cultivated in 2012; of the sown area, 53% was dedicated to dry grain and the remaining 47% to fresh grain. Beans are an important source of income for farmers and food for thousands of Ecuadorian families. Crop performance and yield are affected by diseases such as angular leaf spot caused by *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Ferraris. The best alternative for disease control is to use resistant varieties. However, durability of field resistance will depend on the knowledge of angular leaf spot variability. In Ecuador, detailed and systematic studies on the variability of the angular leaf spot pathogen have not been conducted. For this reason, the pathogenic variability of 21 isolates of angular leaf spot, collected from the provinces of Carchi and Imbabura in the Ecuadorian Andes, was studied. Thirteen different pathotypes were identified, five of them showed compatibility with only the group of Andean differentials and the remaining eight showed compatibility with two groups of differentials (Andean and Mesoamerican). Race 63:0 was the most frequent and race 31:63 was the most virulent. None of the isolates were compatible with differential Cornell 49-242. Therefore, bean breeding lines in Ecuador would benefit by incorporating the *Phg-2* resistance gene present in differential Cornell 49-242.

**Key words:** angular leaf spot, pathogenic variability, *Phaseolus vulgaris*, plant disease, fungi

## INTRODUCCIÓN

El fréjol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa alimenticia de consumo directo más importante en el Ecuador, pues constituye una fuente significativa de ingresos para los agricultores y alimento para miles de familias ecuatorianas (Peralta et al., 2016; Murillo et al., 1998; Tacán et al., 2010). Este constituye un valioso componente en la seguridad y soberanía alimentaria del país (Peralta et al., 2007). Actualmente se cultivan dos tipos de fréjol, los de tipo voluble o trepador (asociado principalmente con maíz) (Peralta et al., 2007) y de tipo arbustivo que se siembra en los valles semicálidos de la Sierra entre los 1000 y 2500 m de altitud (Murillo et al., 2000). Este último es afectado por varias enfermedades de importancia económica, siendo una de ellas la mancha angular.

La mancha angular causada por el hongo *Pseudocercospora griseola* (anteriormente identificado como *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris) (Crous et al., 2006) es una enfermedad de gran importancia en las zonas tropicales y subtropicales, causando pérdidas de rendimiento de hasta el 80% en variedades susceptibles (Schwartz et al., 1981; Rava et al., 1985; Saettler, 1991; Guzman et al., 1995). Debido a la variabilidad del patógeno, la búsqueda de variedades resistentes debe ser constante, constituyendo este método la mejor alternativa de control por las ventajas económicas y ambientales que presenta. Sin embargo, la eficiencia de la resistencia dependerá del conocimiento de la variabilidad del agente patógeno causal y su distribución geográfica (Sartorato, 2002b).

La diversidad genética de *P. griseola* se ha determinado por la reacción de un grupo de variedades diferenciales estándar que contienen genotipos de los dos acervos genéticos de fréjol: andinos y mesoamericanos (Sartorato, 2002b). La reacción de estos diferenciales luego de ser inoculados con un aislado del patógeno, proporciona información importante con la que se puede identificar genes de resistencia y así lograr desarrollar resistencia perdurable de variedades destinadas a la producción en determinada región (Mahuku et al., 2002). Por tal razón, la evaluación constante de la variabilidad patogénica y la identificación de nuevos genes de resistencia en la planta son de fundamental importancia para la generación de cultivares de fréjol resistentes a esta enfermedad (Damasceno et al., 2008).

Estudios previos han revelado gran variabilidad en la virulencia de *P. griseola*, por ejemplo Orozco y Araya (2005) identificaron 21 patotipos diferentes a partir de 61 aislamientos en Costa Rica, y Sartorato (2002a) caracterizó 51 aislamientos en cinco Estados de Brasil, identificando siete patotipos diferentes, incluyendo la raza 63:63. Así mismo, otros investigadores han informado alta variabilidad en la virulencia de *P. griseola* en diferentes lugares del mundo (Pastor-Corrales et al., 1998; Mahuku et al., 2002; Pastor-Corrales et al., 2004; Stenglein y Balatti, 2006; Damasceno et al., 2008).

Las condiciones que favorecen el desarrollo de la enfermedad son: temperatura moderada (15° C a 25° C), lluvias frecuentes durante un intervalo de 48 horas o más, alternadas con períodos de baja humedad y viento, que favorecen la esporulación y dispersión de esporas. Los síntomas producidos como resultado de la infección son comunes en las hojas y se presentan generalmente como lesiones angulares delimitadas por las nervaduras. Generalmente, el patógeno puede producir estructuras reproductivas como sinemas en el envés de la hoja sobre la lesión. En el tallo, las ramas y los peciolo las lesiones son de color café-rojizo de borde más oscuro y de forma alargada. Las lesiones en las vainas son manchas ovales o circulares de centro rojomarrón, en algunos casos estas presentan bordes oscuros (Schwartz et al., 1982).

En Ecuador poco se conoce de la variabilidad patogénica de la mancha angular, ya que no se han realizado estudios relacionados a la caracterización de aislamientos de *P. griseola* que representen a las zonas productoras de fréjol. El objetivo de este estudio fue caracterizar 21 aislamientos de mancha angular provenientes de las principales zonas productoras de fréjol del norte del país (Carchi e Imbabura). Esta caracterización permitirá conocer la variabilidad patogénica de *P. griseola*, su distribución geográfica y genes de resistencia eficaces en diferenciales de fréjol.

## MATERIALES Y MÉTODOS

*Siembra de las líneas diferenciales de fréjol e inoculación*

Para la caracterización de los patotipos de *P. griseola*, se inoculó un conjunto de doce cultivares diferenciales (Cuadro 1) (Pastor-Corrales y Jara, 1995), incluyendo la variedad INIAP 430-Portilla (testigo susceptible). Cuatro semillas de las variedades diferenciales previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 1% se sembraron en bandejas plásticas conteniendo sustrato estéril (5% cascarilla de arroz, 5% pominá, 60% tierra negra, 20% humus y 10% turba). Se realizaron dos repeticiones.

*Manejo del patógeno e inoculación*

Se colectaron hojas de fréjol infectadas naturalmente con *P. griseola* en campos ubicados en las principales zonas productoras del norte del Ecuador (provincias de Imbabura y Carchi). En total se colectaron 21 muestras, doce en Imbabura y nueve en Carchi (Figura 1). Posteriormente estas muestras se trasladaron al laboratorio del Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos (PRONALEG-GA) del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) en la Estación Experimental Santa Catalina, en donde se colocaron en cámara húmeda. Luego de 24 horas los conidióforos (sinemas), se transfirieron a medio de cultivo V8 (200 ml V-8 juice, 3 g  $\text{CaCO}_3$ , 18 g Bacto agar y 800 ml agua destilada estéril) (Schwartz et al., 1982) y se incubaron a  $24 \pm 1^\circ \text{C}$  por 24 horas. Se prepararon cultivos monospóricos a partir de una conidia germinada utilizando un microscopio estereoscópico en medio V8. Las cajas petri se incubaron a  $24 \pm 1^\circ \text{C}$ . Para incrementar

CUADRO 1.—*Líneas diferenciales para la caracterización patogénica de Pseudocercospora griseola.*

Número	Líneas diferenciales	Valor binario	Centro de origen
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	

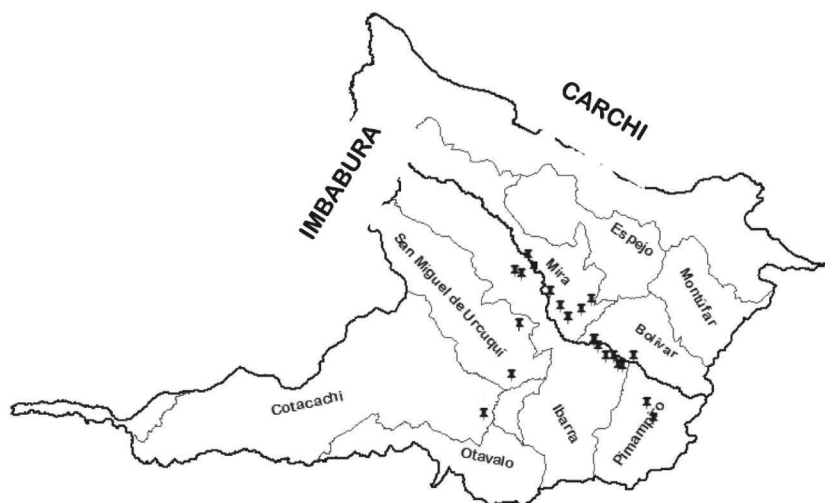


FIGURA 1. Ubicación de los lotes de cultivo de fréjol en las provincias de Imbabura y Carchi en las que se realizó la recolección de los 21 aislamientos de mancha angular.

el inóculo, a los 10 días se colocaron 10 gotas de agua destilada estéril sobre el micelio, se raspó su superficie para desprender las conidias y la solución obtenida se transfirió a nuevas cajas petri con medio V8. Transcurridos 12 días, el inóculo se preparó a partir de una suspensión de esporas, la cual se filtró a través de una doble capa de gasa para extraer la masa del micelio y restos de medio de cultivo. La concentración de inóculo se ajustó a  $2 \times 10^4$  conidias por mililitro con un hemacitómetro (Marienfeld) (Schwartz et al., 1982, Castellanos et al., 2011). Se añadió 1 ml/L de tween 20 a la suspensión de conidias. Para la inoculación de *P. griseola*, se empleó el método de aspersión en el haz y el envés de la primera hoja trifoliada (etapa de desarrollo V3) de cada diferencial. Las plantas inoculadas se incubaron en una cámara húmeda con  $>95\%$  de humedad relativa, durante 96 horas con un fotoperiodo de 12 h y un rango de temperatura de 18 a 22 °C, y luego se transfirieron a un invernadero hasta su evaluación (Schwartz et al., 1982; Castellanos et al., 2011).

#### *Evaluación de la enfermedad*

La reacción de cada diferencial a *P. griseola* se registró a los 15 y 25 días después de la inoculación de acuerdo con la escala descriptiva 1 a 9 (Sartorato, 2002b), donde 1 = las plantas no presentan síntomas; 3 = plantas con 5 a 10% de la superficie de la hoja con lesiones; 5 = plantas con 20% del área de la hoja con lesiones y la esporulación; 7 = plantas

con hasta 60% de la superficie de la hoja con lesiones y esporulación, asociados con clorosis y tejidos necróticos; 9 = el 90% del área de la hoja con lesiones, frecuentemente asociada con la pérdida temprana de las hojas y muerte de la planta. Plantas con valores de 1 a 3 se consideraron resistentes (reacción incompatible), mientras que las plantas con puntajes 4 a 9 se consideraron susceptibles (reacción compatible) (Sartorato, 2002b).

Al momento de la evaluación, las hojas con lesiones no esporuladas se colocaron en una cámara húmeda por 24 horas. Se consideraron resistentes aquellas plantas cuyas hojas no esporularon después de este periodo. Los patotipos se clasificaron de acuerdo a la metodología propuesta por el I Taller Internacional sobre la Mancha Angular del Frijol realizado en el CIAT en 1995 (Sartorato, 2002b).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los aislamientos de *P. griseola* fueron diferentes en su virulencia luego de ser inoculados en las 12 variedades diferenciales. Se identificaron 13 razas a partir de 21 aislamientos de *P. griseola* caracterizados. De estos, cinco presentaron compatibilidad solamente con el grupo de diferenciales andinos y los ocho restantes presentaron compatibilidad con los dos grupos de diferenciales (andinos y mesoamericanos) (Cuadro 2).

Ningún aislamiento presentó compatibilidad con el diferencial Cornell 49-242 (Figura 2) que posee el gen *Phg-2* de resistencia a mancha angular (Nietsche et al., 2000; Tryphone et al., 2013). Todos los aislamientos indujeron reacciones de susceptibilidad en las variedades diferenciales de origen andino, a excepción de Don Timoteo y G5686 que presentaron, respectivamente, resistencia a siete y ocho aislamientos diferentes (Figura 2). Los aislamientos compatibles con las variedades diferenciales de origen mesoamericano no produjeron reacciones superiores al nivel 6 en la escala utilizada (Figura 3).

De los diferentes patotipos identificados, la raza 63:0 fue la más frecuente seguida por las razas 62:0 y 30:0 situadas en las dos provincias (Imbabura y Carchi) (Figura 3). La raza más virulenta fue la 63:31 seguida por la raza 63:29 colectadas en las provincias de Carchi e Imbabura, respectivamente. La raza 14:0 colectada en la provincia de Imbabura fue la menos virulenta (Cuadro 2).

Se identificaron 13 patotipos basado en las reacciones producidas por los 21 aislamientos en el grupo de variedades diferenciales de fréjol utilizadas, confirmando la gran variabilidad de *P. griseola* en estas dos provincias productoras de fréjol arbustivo en Ecuador. Estos resultados coinciden con estudios realizados en países como Brasil y Costa Rica,

CUADRO 2.—*Reacciones de compatibilidad e incompatibilidad, raza y origen de los 21 aislamientos caracterizados.*

#	Raza	Variedades diferenciales												Origen de los aislamientos		
		Andinos						Mesoamericanos								
		Don Timoteo (2 <sup>2</sup> )	G 11796 (2 <sup>1</sup> )	Bolón Bayo (2 <sup>2</sup> )	Montcalm (2 <sup>3</sup> )	Amendoin (2 <sup>1</sup> )	G 5686 (2 <sup>5</sup> )	Pan 72 (2 <sup>0</sup> )	G 2858 (2 <sup>1</sup> )	Flor de Mayo (2 <sup>2</sup> )	México 54 (2 <sup>3</sup> )	BAT 332 (2 <sup>4</sup> )	Cornell 49-242 (2 <sup>6</sup> )			
1	14:0	— <sup>a</sup>	+ <sup>b</sup>	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Imbabura
3	30:0	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Imbabura y Carchi
1	31:0	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Carchi
1	31:2	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	Carchi
1	31:7	+	+	+	+	+	—	+	+	+	—	—	—	—	—	Imbabura
1	31:15	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	—	—	—	Carchi
3	62:0	—	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	Imbabura y Carchi
5	63:0	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	Imbabura y Carchi
1	63:3	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	Imbabura
1	63:7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	Imbabura
1	63:16	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+	—	—	Carchi
1	63:29	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	—	—	—	Imbabura
1	63:31	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	Carchi

#Número de aislamientos identificados con el respectivo patotipo

<sup>a</sup>Reacción incompatible (-)

<sup>b</sup>Reacción compatible (+)

entre otros, donde también informan gran variabilidad de este patógeno (Guzman et al., 1995; Pastor-Corrales et al., 1998; Mahuku et al., 2002; Sartorato, 2002b; Pastor-Corrales et al., 2004; Orozco y Araya, 2005; Damasceno et al., 2008).

Según Orozco y Araya (2005) las variedades diferenciales de *P. griseola* contienen genotipos de origen andino y de origen mesoamericano, y por sus reacciones evidencian la especificidad de los patotipos y coevolución del patosistema. En estas dos provincias, en las que se siembran principalmente variedades de origen andino, se esperaría que los aislamientos de mancha angular estudiados no produzcan reacciones de compatibilidad en las variedades diferenciales de origen mesoamericano.

Todos los aislamientos caracterizados en este estudio presentaron compatibilidad con el grupo de diferenciales de origen andino, tal como se esperaba. Sin embargo, ocho presentaron también compatibilidad

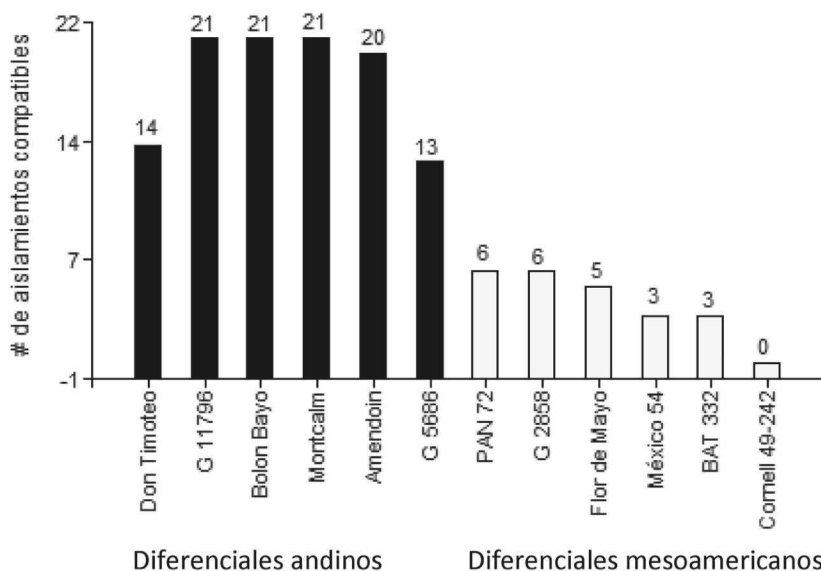


FIGURA 2. Número de aislamientos de *P. griseola* (de los 21 aislamientos estudiados) compatibles con cada una de las 12 variedades diferenciales.

con cinco de las seis variedades diferenciales mesoamericanas; confirmando de esta manera la falta de especificidad de los aislamientos respecto al origen de los cultivares diferenciales. A pesar de la compatibilidad observada entre aislamientos y variedades diferenciales mesoamericanas, las reacciones observadas no fueron de completa sus-

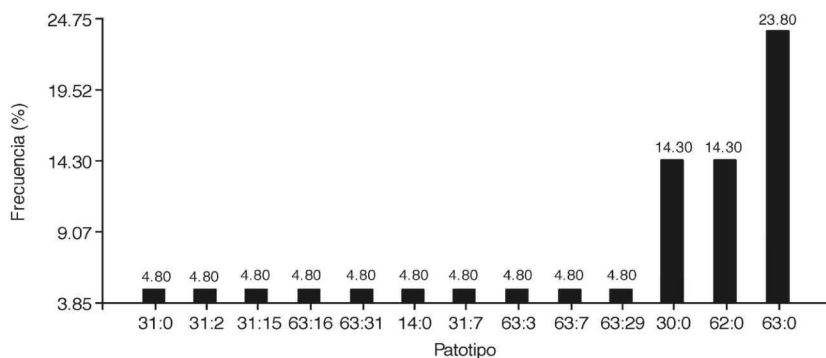


FIGURA 3. Frecuencia de las 13 razas identificadas en 21 aislamientos colectados de las provincias de Carchi e Imbabura.



ceptibilidad (el nivel más alto de reacción fue de 6), a diferencia de las reacciones observadas en las diferenciales de origen andino, las cuales alcanzan los niveles más altos de la escala (Cuadro 3).

Algunos investigadores han documentado la especificidad y no especificidad entre aislamientos y los grupos de diferenciales de origen andino y mesoamericano. Por ejemplo, Mahuku et al. (2002) mencionan que aislamientos colectados en Centro América y el Caribe infectaron ambos grupos de diferenciales, mientras que, aislamientos co-

CUADRO 3.—*Reacciones inducidas por los 21 aislamientos caracterizados en las 12 variedades diferenciales utilizando la escala descriptiva 1 a 9<sup>1</sup>.*

Raza	Variedades diferenciales											
	Don Timoteo G 11796	Bolón Bayo	MontcaIm	AmendoIn	G 5686	Pan 72	G 2858	Flor de Mayo	México 54	BAT 332	Cornell 49-242	
	Andinos					Mesoamericanos						
14:0	3	8	7	6	1	1	1	2	1	1	1	1
30:0	1	5	5	6	5	2	1	1	1	1	1	1
30:0	2	7	8	8	7	3	2	1	1	2	1	1
30:0	1	8	8	7	6	1	1	1	1	1	1	1
31:0	3	8	8	7	4	2	2	2	3	2	2	2
31:2	4	7	7	6	6	1	5	4	3	1	3	1
31:7	5	8	8	9	4	2	5	4	4	3	3	2
31:15	6	8	8	8	8	3	4	4	6	5	3	2
62:0	1	5	5	4	4	4	1	1	1	2	1	1
62:0	1	7	6	4	7	4	1	1	1	1	1	1
62:0	1	6	8	7	4	7	1	1	1	1	1	1
63:0	4	7	7	8	7	4	1	1	1	1	1	1
63:0	4	9	8	8	7	5	3	2	3	1	1	1
63:0	4	7	8	7	6	6	1	1	3	1	2	1
63:0	4	7	8	8	6	4	1	1	1	1	1	1
63:0	6	7	8	7	7	7	1	2	1	3	3	1
63:3	7	7	7	6	6	6	6	5	2	2	3	2
63:7	5	7	7	7	7	7	4	4	4	2	3	1
63:16	6	7	7	7	6	5	3	2	3	1	5	2
63:29	6	8	8	6	7	7	4	3	5	5	5	3
63:31	6	7	7	7	7	6	5	4	5	5	5	3

<sup>1</sup>1 = las plantas no presentan síntomas; 3 = plantas con 5 a 10% de la superficie de la hoja con lesiones; 5 = plantas con 20% del área de la hoja con lesiones y la esporulación; 7 = plantas con hasta 60% de la superficie de la hoja con lesiones y esporulación, asociados con clorosis y tejidos necróticos; 9 = el 90% del área de la hoja con lesiones, frecuentemente asociada con la pérdida temprana de las hojas y muerte de la planta.

lectados en la Región Andina indujeron reacciones de susceptibilidad únicamente sobre las diferenciales del grupo andino. Por el contrario, Guzman (1995) indicó que aislamientos recuperados de materiales del acervo genético mesoamericano fueron más patogénicos sobre genotipos mesoamericanos. Lo mismo sucedió con aislamientos recuperados de materiales del acervo genético andino.

Este es uno de los pocos estudios de la variabilidad patogénica de *P. griseola* realizados en Ecuador. Mahuku et al. (2002) analizaron un número limitado de muestras de Ecuador en una investigación donde de seis muestras caracterizadas se identificaron cinco patotipos (13:0, 14:0, 29:0, 30:0 y 31:0) diferentes de *P. griseola*. Todos estos compatibles únicamente con diferenciales de origen andino, a excepción del cultivar G 5686. Al comparar nuestros resultados con dicho estudio, se identificaron aislamientos compatibles con el diferencial andino G5686, siendo las razas 63:0 y 62:0 las más frecuentes; además, se identificaron aislamientos compatibles con algunas de las diferenciales de origen mesoamericano.

El INIAP de Ecuador ha generado variedades de fréjol con resistencia a antracnosis y roya. Sin embargo, a partir del 2005 uno de los objetivos fue iniciar un programa de mejoramiento para resistencia a mancha angular (INIAP, 2006). Luego de evaluar fuentes de resistencia a esta enfermedad se desarrollaron y liberaron dos variedades con resistencia genética: INIAP-483 Intag e INIAP-484 Centenario (Murillo et al., 2011, 2012). En condiciones de campo, esta última se ha mantenido resistente. Al examinar los resultados de este estudio, concluimos que es necesario caracterizar aislamientos de otras zonas productoras de fréjol que integran el centro y sur del país. También es crítico continuar con la evaluación de la resistencia en las dos variedades liberadas y en todos los materiales considerados como resistentes a esta enfermedad. Es indispensable considerar nuevas fuentes de resistencia para tener alternativas que puedan optimizar el proceso de mejoramiento genético.

Con respecto a las razas identificadas, se observó especificidad con su lugar de origen, ya que de las 13 razas identificadas, tres (0:63, 0:62 y 0:30) se encontraron en varias localidades, siendo estas las más frecuentes (Figura 3). No se identificó la raza 63:63 como en el caso de Kenya (Wagara et al., 2005), Brasil (Sartorato, 2002a; Damasceno et al., 2008), Honduras y Nicaragua en donde es una de las razas más frecuentes (Mahuku et al., 2002). Sin embargo, sí se identificaron las razas 63:29 y 63:31 que presentaron compatibilidad respectivamente con 10 y 11 de las 12 variedades diferenciales. Afortunadamente, estas dos razas se localizan únicamente en su lugar de origen, es decir, en las dos localidades en las que estos aislados fueron recolectados (Cuadro

2). Sin embargo, es necesario recordar que la mancha angular es una enfermedad que se transmite por semilla, por lo que no se descarta que en algún momento estas razas puedan dispersarse y generalizarse en diferentes regiones productoras del país.

### CONCLUSIONES

Ninguno de los aislamientos estudiados fue compatible con la diferencial Cornell 49-242, que posee el gen *Phg-2* (Nietsche et al., 2000; Tryphone et al., 2013), para el cual se han determinado dos marcadores RAPD ligados: OPN02<sub>890c</sub> y OPE04<sub>650c</sub>, (Nietsche et al., 2000; Oblessuc et al., 2012). Este diferencial debe ser considerado como una muy buena fuente de resistencia a la mancha angular. Es importante mencionar también que las reacciones en las diferenciales de origen mesoamericano no fueron de completa susceptibilidad (reacciones de 1 a 6 en la escala 1 a 9 utilizada) y que cada cultivar diferencial presentó compatibilidad con un reducido número de aislamientos (Figura 2). Indicando que pueden ser considerados como fuentes de resistencia, a través de un proceso de piramidación de genes, combinando los dos acervos genéticos: andino y mesoamericano.

Con este estudio se ha demostrado gran variabilidad patogénica de *P. griseola* en las dos provincias productoras de fréjol arbustivo del norte de Ecuador y la especificidad de las razas respecto al lugar de recolección de las muestras. El monitoreo amplio y constante del patógeno incluyendo otras zonas importantes productoras del país debe ser continuo y la evaluación de nuevas fuentes de resistencia debe ser permanente. Esto brindará información que permitirá generar variedades de fréjol mejoradas con resistencia estable y duradera a *P. griseola*.

### LITERATURA CITADA

- Castellanos, G., C. Jara y G. Mosquera, 2011. Guías Prácticas de Laboratorio para el Manejo de Patógenos de Frijol. Guía Práctica 6: *Phaeoisariopsis griseola*, Enfermedad: Mancha angular. Publicación CIAT No. 375. ISBN 978-958-694-110-5 (PDF), Disponible en <http://ciat.cgiar.org/es/guias-practicas-laboratorio-manejo-patogenos-frijol>, consultado el 4 de noviembre del 2014.
- Crous, P. W., M. M. Liebenberg, U. Braun y J. Z. Groenewald, 2006. Re-evaluating the taxonomic status of *Phaeoisariopsis griseola*, the causal agent of angular leaf spot of bean. *Studies in Mycology* 55: 163-173.
- Damasceno, K., E. De Souza, A. Sartorato y N. De Souza, 2008. Pathogenic variability of isolates of *Pseudocercospora griseola*, the cause of common bean angular leaf spot, and its implications for resistance breeding. *J. Phytopathology* 156: 602-606.
- Guzman, P., R. L. Gilbertson, R. Nodari, W. C. Johnson, S. R. Temple, D. Madela, A. B. C. Mkandawire y P. Gepts, 1995. Characterization of variability in the fungus *Phaeoisariopsis griseola* suggests coevolution with the common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Phytopathology* 85: 600-607.

- INIAP, 2006. Informe Anual de Actividades 2005. Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos. Estación Experimental Santa Catalina. Quito, Ecuador.
- Mahuku, G. S., C. Jara, J. B. 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.
- Murillo, Á., L. Minchala, J. Ochoa, E. Peralta y J. Pinzón, 1998. Búsqueda de fuentes de resistencia a roya y antracnosis en fréjol arbustivo y voluble en Ecuador. *En: PROFIZA. Memorias de la Sexta Reunión de Leguminosas de Grano de la Zona Andina (RELEZA VI)*. Santa Cruz, Bolivia. p. 87-89.
- Murillo, Á., E. Peralta, J. Pinzón y M. Rivera, 2000. Evaluación de Líneas Avanzadas de Fréjol Arbustivo a Roya y Antracnosis en Ecuador. Proyecto de Resistencia Duradera para la Zona Andina, "PREDUZA". Informe Anual de Subproyectos 1999. Ed. por Danial D., Quito, Ecuador. p. 225-232.
- Murillo, Á., E. Peralta, N. Mazón, D. Rodríguez y J. Pinzón, 2011. INIAP 483 Intag. Nueva variedad de fréjol arbustivo de grano de color morado-moteado. Boletín Divulgativo No. 397. Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos. INIAP. Quito, Ecuador.
- Murillo, Á., E. Peralta, N. Mazón, D. Rodríguez y J. Pinzón, 2012. INIAP 484 Centenario. Nueva variedad de fréjol arbustivo de grano de color morado-moteado. Boletín Divulgativo No. 397. Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos. INIAP. Quito, Ecuador.
- Nietsche, S., A. Borém, 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. *J. Phytopathology* 148: 117-121.
- Oblessuc, P., R. Baroni, A. Franco, A. Chioratto, S. Morais, L. Aranha y L. Benchimol, 2012. Mapping of angular leaf spot resistance QTL in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different environments. *BMC Genetics* 13: 50.
- Orozco, S. y C. M. Araya, 2005. Variabilidad patogénica de *Phaeoisariopsis griseola* en Costa Rica. *Fitopatología Brasileira* 30:589-593.
- Pastor-Corrales, M. A. y C. E. Jara, 1995. La evolución de *P. griseola* con el frijol común en América Latina. *Fitopatología Colombiana* 19: 15-23.
- Pastor-Corrales, M. A., C. Jara y S. Singh, 1998. Pathogenic variation in, source of, and breeding for resistance to *Phaeoisariopsis griseola* causing angular leaf spot in common bean. *Euphytica* 103: 161-71.
- Pastor-Corrales, M. A., V. A. Aggarwal, R. M. Chirwa y R. A. Buruchara, 2004. Andean beans with resistance to angular leaf spot and virulence diversity of *Phaeoisariopsis griseola* in Southern and Eastern Africa. *Annual Report Bean Improvement Cooperative* 47: 129-130.
- Peralta, E., Á. Murillo, N. Mazón, D. Rodríguez y L. Vega, 2016. Manual para el reconocimiento y control de las enfermedades más importantes que afectan al cultivo del fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Ecuador. 2da edición. Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Quito, Ecuador. 85 p.
- Peralta, E., Á. Murillo, E. Falconí, N. Mazón y J. Pinzón, 2007. Manual de campo para el reconocimiento y control de las enfermedades más importantes que afectan al cultivo de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Ecuador. Publicación Miscelánea No. 136. Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Quito, Ecuador. 33 p.
- Rava, C., A. Sartorato y J. R. De Carvalho, 1985. Yield Losses in Dry Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Caused by Angular Leaf Spot (*Isariopsis griseola* Sacc.). *Annual Report Bean Improvement Cooperative* 25: 5-6.
- Saettler, A. W., 1991. Angular Leaf Spot. *En: Compendium of Bean Diseases*. Ed. por Hall R. American Phytopathology Society. Press, St. Paul, MN, U.S.A.: 15-16.
- Sartorato, A., 2002a. Identification of *Phaeoisariopsis griseola* pathotypes from five States in Brazil. *Fitopatología Brasileira* 27: 78-81.
- Sartorato, A., 2002b. Memórias da participação brasileira no "I Taller Internacional sobre la Mancha Angular del Fríjol". Determinação da Variabilidade Patogénica de

- Phaeoisariopsis griseola* e Avaliação da Mancha Angular/ editado por Aloísio Sartorato e Michael Thung. - Santo Antônio de Goiás : Embrapa Arroz e Feijão. p. 39- 42. (Documentos / Embrapa Arroz e Feijão, ISSN 1678-9644; 132).
- Schwartz, H. F., V. F. Correa, D. D. A. Pineda, M. M. Otoy y M. J. Katherman, 1981. *Ascochyta*, angular and white fly leaf spots in Colombia. *Plant Disease* 65: 494-496.
- Schwartz, H. F., F. Correa y M. Pastor-Corrales, 1982. La mancha angular del frijol y su control; guía de estudio. CIAT. Cali, Colombia. 24 p.
- Stenglein, S.A. y P. A. Balatti, 2006. Genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* in Argentina as revealed by pathogenic and molecular markers. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 68: 158-167.
- Tacán, M., C. Tapia, D. Willians y K. Willians, 2010. Cantón Cotacachi: Catálogo de agrobiodiversidad. Cotacachi, Ecuador. s.e. 95 p.
- Tryphone, G. M., L. Chilagane, D. Protas, P. Kusolwa y S. Nchimbi-Msolla, 2013. Marker Assisted Selection for Common Bean Diseases Improvements in Tanzania: Prospects and Future Needs. *En: Plant Breeding from Laboratories to Fields*. Chapter 5. Andersen, S. B. (Ed.). InTech. 10.5772/3362.
- Wagara, I. N., A. W. Mwang'ombe, J. W. Kimenju y R. A. Buruchara, 2005. Virulence, variability and physiological races of the angular leaf spot pathogen *Phaeoisariopsis griseola* in Kenya. *African Plant Protection* 11: 23-31.