



CRIA

Programa de consorcios de Investigación Ag



MINISTERIO DE
AGRICULTURA,
GANADERÍA
Y ALIMENTACIÓN



CRIA Occidente

Cadena de frijol

Caracterización de Razas de
Roya (*Uromyces appendiculatus*)
y Antracnosis (*Colletotrichum
lindemuthianum*) del frijol en el
Altiplano de Guatemala



M.Sc Luz de María Montejo D.
Investigadora Principal

Ana Patricia Villatoro García
Investigadora Auxiliar

Colaboradores:

Inga. Agra. Karen Adriana Agreda H.

M.Sc Carlos Maldonado M.

Inga. Agra. Jessica Raquel Moscoso

Inga. Agra. Ángela N. Miranda

Este proyecto fue ejecutado gracias al apoyo financiero del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés). El contenido de ésta publicación es responsabilidad de su(s) autor(es) y de la institución(es) a las que pertenecen. La mención de empresas o productos comerciales no implica la aprobación o preferencia sobre otros de naturaleza similar que no se mencionan

Contenido

Siglas y acrónimos	IX
Resumen.....	X
Abstract	XI
1. Introducción	1
2. Marco teórico.....	2
2.1. Importancia del cultivo de frijol en Guatemala	2
2.2. <i>Uromyces appendiculatus</i>	3
2.2.1. Epidemiología y ciclo de vida de <i>Uromyces appendiculatus</i>	3
2.2.2. Síntomas.....	5
2.2.3. Diversidad genética e identificación de razas	6
2.3. Antracnosis del frijol <i>Colletotricum linedemuthianum</i>	8
2.3.1. Síntomas y Epidemiología	8
2.3.2. Diversidad genética.....	9
3. Objetivos	10
4. Hipótesis.....	10
5. Materiales y métodos	10
5.1. Localidad y época	10
5.2. Muestreo	11
5.3. Tratamientos	11
5.4. Tamaño de la unidad experimental.....	11
5.5. Modelo estadístico.....	11
5.6. Variables de respuesta	12
5.7. Análisis de la información.....	12
5.8. Manejo del experimento	12
5.8.1. <i>Uromyces appendiculatus</i>	12
5.8.2. <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	14
f. Conservación de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	17
6. Resultados	17
6.1. Identificación de razas de roya, <i>Uromyces appendiculatus</i>	17
6.1.1. Caracterización de aislamiento Tot- 6-S1, raza 5-47	17

6.1.2. Caracterización de asilamiento Tot- 7- S1, raza 5-47	18
6.1.3. Caracterización de asilamiento H- 12- S1, raza 0-39.....	20
6.1.4. Caracterización de asilamiento CH- 2- S1, raza 7-47	21
6.1.5. Caracterización de asilamiento Q-1-S1, raza 0-47.....	22
6.2. Antracnosis del frijol <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	23
6.2.1. Caracterización de aislamiento H-2-S-1, Raza 9	23
6.2.2. Caracterización de aislamiento H-3-S1, Raza 9.....	27
6.2.3. Caracterización de aislamiento CH1-S1:	30
6.2.4. Caracterización de aislamiento Q-5-S3:	33
6.3. Resumen de datos de caracterizaciones	36
6.3.1. Resumen de caracterizaciones de razas de <i>U. appendiculatus</i> (Fig. A.23 y A.25)	36
6.3.2. Resumen de caracterizaciones de <i>C. lindemuthianum</i> (Fig. A.24 y A.26)	37
.....	37
7. Conclusiones	37
8. Recomendaciones.....	38
9. Referencias bibliográficas.....	38
ANEXOS	44
Anexo 1. Procedimiento e indicaciones de preparación de medios utilizados. ..	44
Anexo 2. Proceso de desinfección.	45

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Cultivares diferenciales de frijol para la caracterización de <i>U. appendiculatus</i> y sus genes de resistencia.....	7
Cuadro 2. Descripción de los tipos de infección de <i>U. appendiculatus</i> en escala de 1-6, basado en el diámetro de las pústulas.	7
Cuadro 3. Cultivares diferenciales de frijol común y sus genes de resistencia, cromosoma donde se localizan y los códigos binarios para la asignación de la raza.	9
Cuadro 4. Muestras aisladas de <i>Uromyces appendiculatus</i>	13
Cuadro 5. Muestras colectadas de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> ,	15

Cuadro 6. Tipos de infección en cultivares diferenciales de resistencia a roya al aislamiento Tot-6-S1	18
Cuadro 7. Tipos de infección en cultivares diferenciales de roya al aislamiento Tot-7-S1	19
Cuadro 8. Tipos de infección en cultivares diferenciales de roya al aislamiento H-12-S1, ICTA, Guatemala, 2019.....	20
Cuadro 9. Tipos de reacción en cultivares diferenciales de roya al aislamiento CH-1-S1.	21
Cuadro 10. Tipos de infección en cultivares diferenciales de roya al aislamiento Q-1-S1,	22
Cuadro 11. Tipos de infección en cultivares diferenciales de Antracnosis (escala 1-9) al aislamiento H-2-S-1	23
Cuadro 12. Tipos de infección en cultivares diferenciales de Antracnosis (escala 1-9) al aislamiento H-3-S1.	28
Cuadro 13. Tipos de infección en cultivares diferenciales de Antracnosis (escala 1-9) al aislamiento CH-1-S1.....	31
Cuadro 14. Tipos de infección en cultivares diferenciales de Antracnosis (escala 1-9) al aislamiento	34
Cuadro 15. Razas caracterizadas en las diferentes muestras colectados.	36
Cuadro 16. Razas caracterizadas en las diferentes muestras colectados.	37

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Silica gel (4°C). ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019	17
Figura 2. Papel infectado (-20°C). ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019.	17
Figura 3. Cultivar diferencial, inoculado con aislamiento H-2-S1	24
Figura 4. Reaccion susceptible de líneas Cornell y Michelite	24
Figura 5. Set de diferenciales inoculadas con H-3-S1. ICTA, Guatemala, 2018 ...	27
Figura 6. Síntomas en diferenciales inoculadas con CH-1- S1. ICTA, Guatemala, 2019	30
Figura 7. Incremento de esporas Q-5-S3	33

INDICE DE FIGURAS EN ANEXOS

Figura A. 1. Escala de evaluación de antracnosis del 1 al 9.	47
Figura A. 2. Muestreo Quetzaltenango, 2019	48
Figura A. 3. Incremento de esporas	48
Figura A. 4. Aislamiento del único Uredinium, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019	48
Figura A. 5. Conservación 1, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019	49
Figura A. 6. Secado, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019	49
Figura A. 7. Conteo de esporas de roya. ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019	49
Figura A. 8. Inoculación de roya. ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019.....	49
Figura A. 9. Sets en cámara de humedad. ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019.	50
Figura A. 10. Sets en invernadero. ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019.	50
Figura A. 11. Establecimiento de sets inoculados en invernadero. ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019.	50
Figura A. 12. Desinfección de muestras. Laboratorio Protección Vegetal, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019	51
Figura A. 13. Aislamiento de muestras.....	51
Figura A. 14. Incremento y purificación. Laboratorio Protección Vegetal, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019	51
Figura A. 15. Incremento de esporas. Laboratorio Protección Vegetal, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019	51
Figura A. 16. Incremento de aislamiento Q-5-S3. Laboratorio Protección Vegetal, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019.....	52
Figura A. 17. Preparación del inóculo. Laboratorio Protección Vegetal, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019	52
Figura A. 18. Preparación del inóculo. Laboratorio Protección Vegetal, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019	52
Figura A. 19. Conteo de esporas de antracnosis. Laboratorio Protección Vegetal, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019.....	53

Figura A. 20. Inoculación para caracterizar antracnosis. Laboratorio Protección Vegetal, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019	53
Figura A. 21. Sets inoculados en cámara de humedad. ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019	53
Figura A. 22. Establecimiento de sets en invernadero. ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019	53
Figura A. 23. Localización de razas de roya identificadas en éste estudio. Mapa elaborado en KoBoToolbox®, 2019.....	54
Figura A. 24. Localización de razas de antracnosis identificadas en éste estudio. Mapa elaborado en KoBoToolbox®, 2019.....	54
Figura A. 25. Distribución potencial de roya del frijol en zonas del altiplano occidental de Guatemala, basado en datos obtenidos en Montejo et al., 2017 y éste estudio. Las variables más relevantes que generan la información Temporalidad de la temperatura, estacionalidad de la precipitación, temperatura media anual y precipitación del mes más húmedo. Mapa elaborado en KoBoToolbox®, 2019.....	55
Figura A. 26. Distribución potencial de antracnosis del frijol en zonas del altiplano occidental de Guatemala, basado en datos obtenidos en Maldonado et al., 2017 y éste estudio. Las variables más relevantes que generan la información Temporalidad de la temperatura, media anual y precipitación del mes más húmedo. Mapa elaborado en KoBoToolbox®, 2019	56

ÍNDICE DE CUADROS EN ANEXOS

Cuadro A. 1. Listado de banco de muestras recolectadas de <i>U. appendiculatus</i> ..	57
Cuadro A. 2. Listado de banco de muestras recolectadas de <i>U. appendiculatus</i> (Continuación).....	58
Cuadro A. 3. Listado de banco de muestras recolectadas de <i>U. appendiculatus</i> (Continuación).....	59
Cuadro A. 4. Listado de banco de muestras recolectadas de <i>C. lindemuthianum</i> .	60
Cuadro A. 5. Listado de banco de muestras recolectadas de <i>C. lindemuthianum</i> (continuación).....	61

Siglas y acrónimos

CGIAR= Consortium of International Agricultural Research Centers (Grupo Consultivo sobre Investigaciones Agrícolas Internacionales)

CIALO = Centro de Investigación del Altiplano Occidental, ICTA

CRIA = Consorcios Regionales de Investigación Agropecuaria

FAO= Food and Agricultural Organization

IICA = Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.

ICTA = Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas

MAGA= Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, Guatemala

UNICEF= United Nations Children's Fund

USDA= United States Department of Agriculture

Resumen

Las condiciones climáticas de Guatemala favorecen el desarrollo y propagación de enfermedades, la información sobre la variabilidad genética de los patógenos del frijol en las áreas de Huehuetenango, Quetzaltenango, Chimaltenango y San Marcos aún es limitada. En este estudio se empleó el set de 12 variedades diferenciales, seis de origen andino y seis de origen mesoamericano, para la identificación de razas de roya y antracnosis, en diferentes localidades del Altiplano de Guatemala; lo cual incluyó las fases de: recolección, aislamiento, incremento, inoculación y caracterización. Los aislamientos de antracnosis H2-S1 y H3-S1 provenientes de Huehuetenango, se identificaron como raza 9. Ésta raza no ha sido previamente reportada en Guatemala y afecta los genes *Co-11* y *Co-2*, ambos de origen Mesoamericano. Los aislamientos provenientes de Chimaltenango (CH-1-S1) y Quetzaltenango (Q-5-S3) se identificaron como raza 584. Los mismos afectaron los genes *Co-2*, *Co-3*, y *Co-5* de origen Mesoamericano. En roya los aislamientos (Tot-6-S1) y (Tot-7-S1), provenientes de Totonicapán se identificaron como raza 5-47, afectando el gen andino *Ur-4* y los mesoamericanos *Ur-7*, *Ur-3*, *Ur-5*, *Ur-3+* y *Ur-11*. El aislamiento H-12-S1 proveniente de Huehuetenango, se identificó como raza 0-39, afectando los genes mesoamericanos *Ur-7*, *Ur-3*, *Ur-5* y *Ur-11*. El aislamiento CH-2-S1, proveniente de Chimaltenango, se identificó como raza 7-47 afectando el gen andino *Ur-4*, y mesoamericanos *Ur-7*, *Ur-3*, *Ur-5*, *Ur-3+* y *Ur-11*. Finalmente el aislamiento Q-1-S1 proveniente de Quetzaltenango se identificó como raza 0-47, afectando los genes *Ur-7*, *Ur-3*, *Ur-5*, *Ur-3+* y *Ur-11*.

Palabras clave: Patogenicidad, virulencia, *P. vulgaris*, evolución.

Abstract

The climatic conditions of Guatemala favor the development and spread of diseases, in addition, information of genetic variability of some bean pathogens in Huehuetenango, Quetzaltenango, Chimaltenango and San Marcos is still limited. The set of 12 differential varieties, six of Andean origin and six of Mesoamerican origin, was used to identify the races of rust and anthracnose, of different locations of Guatemala Highlands. Which included: collection, isolation, increase, inoculation and characterization. Isolates H2-S1 and H3-S1 from Huehuetenango, were identified as race 9. This race has not been previously reported in Guatemala and affects *Co-11* and *Co-2* genes, both of Mesoamerican origin. Isolates from Chimaltenango (CH-1-S1) and Quetzaltenango (Q-5-S3) were identified as race 584. These affect the Mesoamerican genes *Co-2*, *Co -3*, and *Co-5*. On rust samples, isolates from Totonicapán (Tot-6-S1) and (Tot-7-S1) were identified as race 5-47, affecting the Andean gene *Ur-4* and the Mesoamerican genes *Ur-7*, *Ur-3*, *Ur-5*, *Ur-3 +* and *Ur-11*. The H-12-S1 isolation from Huehuetenango was identified as race 0-39, affecting the Mesoamerican genes *Ur-7*, *Ur-3*, *Ur-5* and *Ur -11*. The Isolate CH-2-S1, from Chimaltenango, was identified as race 7-47, affecting the Andean gene *Ur-4*, it also affected the Mesoamerican genes *Ur-7*, *Ur-3*, *Ur-5*, *Ur-3 +* and *Ur-11*. Finally Q-1-S1 isolate from Quetzaltenango was identified as race 0-47, affecting the genes *Ur-7*, *Ur-3*, *Ur-5*, *Ur-3 +* and *Ur-11*.

Keywords: Pathogenicity, virulence, *P. vulgaris*, evolution

1. Introducción

Las condiciones climáticas de Guatemala favorecen el desarrollo de enfermedades y propagación de plagas. Dentro de las enfermedades causantes de pérdidas de rendimiento del frijol en el altiplano se encuentran: roya, ascochyta, mancha angular y antracnosis. La roya es causada por el patógeno *U. appendiculatus*, un parásito obligado del frijol y fue descrito por primera vez en Alemania en el año 1795 por Persoon (Jules, 2010). Su ciclo de vida consta de cinco estados, la más devastadora la uredinial. Se han identificado más de 300 razas de *U. appendiculatus* y puede causar hasta el 100% de pérdidas al disminuir el área fotosintética (Mersha y Hau, 2008).

Antracnosis es causada por el patógeno *C. lindemuthianum*. Descrito por Saccardo y Magnus en 1878. Ésta enfermedad causa lesiones necróticas inicialmente en hojas, afecta las vainas y tallos cuando la infección es severa. Antracnosis se puede transmitir por semilla, convirtiéndola en una enfermedad crítica y fácil de propagar. Este es uno de los patógenos más críticos en las áreas tropicales, es muy variable, aun no se ha reportado alguna fuente de resistencia a todas las razas (Mahuku et al., 2004).

Históricamente, el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA) ha evaluado líneas para la identificación de genotipos resistentes a las principales enfermedades mencionadas. Sin embargo, la información sobre la variabilidad genética de los patógenos en las áreas de Huehuetenango, Quetzaltenango, Chimaltenango y San Marcos aún es limitada. Por ello es importante caracterizar razas de roya y antracnosis presentes en Guatemala, para identificar los genes que afectan, su virulencia y conservar inoculo para futuras pruebas de resistencia con las diferentes líneas que ICTA ha desarrollado, de esta manera enfocar el mejoramiento genético en los genes afectados por las razas predominantes.

Por tal razón, se realizó este estudio sobre la diversidad patogénica de roya y antracnosis del frijol. Se inició con la recolección de muestras de hojas y vainas en comunidades de Huehuetenango, Quetzaltenango, Chimaltenango y San Marcos. También se obtuvieron muestras de otras localidades con el fin de enriquecer la información. Se concluyó la investigación con la identificación de las razas 584 y 9 de antracnosis presentes en los departamentos de Quetzaltenango, Huehuetenango y Chimaltenango. También se logró identificar las razas 5-47, 0-39, 7-47 y 0-47 de roya, presentes en Totonicapán, Huehuetenango, Chimaltenango y Quetzaltenango.

De acuerdo a los resultados de la investigación, el aislamiento H-2-S1 de Cantón Las Regadillas Chiantla, Huehuetenango y H-3-S1 de Pino Chiantla Huehuetenango demostraron que en la zona se encuentra la raza 9 de antracnosis por lo que se recomienda usar los genes de resistencia *Co-1*, *Co-13*, *Co-15*, *Co-12*, *Co-3*, *Co-33*, *Co-43*, *Co-4*, *Co-5*, *Co-6*, *Co-8*, *Co-42*, *Co-35* y *Co-52*. Los aislamientos Q-5-S3 y CH-1-S1 provenientes de Quetzaltenango y Chimaltenango respectivamente demostraron que se encuentra presente la raza 584 en esas localidades, por lo que se recomienda utilizar los genes de resistencia *Co-11*, *Co-1*, *Co-13*, *Co-15*, *Co-12*, *Co-33*, *Co-43*, *Co-4*, *Co-6*, *Co-8*, *Co-42*, *Co-35*, *Co-52*.

Los aislamientos Tot-6-S1 y Tot-7-S1 demostró que en Totonicapán está presente la raza 5-47 de roya por ello se recomiendan utilizar genes de resistencia como *Ur-9*, *Ur-6*, de origen andino. En el caso del aislamiento H-12-S1 originario de Huehuetenango demostró la presencia en la zona de la raza 0-39 de roya por lo que se pueden utilizar genes de resistencia mesoamericano como *Ur-3+*, o andinos como *Ur-4*, *Ur-9*, *Ur-6* en la zona. El aislamiento CH-2-S1 indicó que en Chimaltenango está la raza 7-47 por lo que en la zona se puede utilizar genes de resistencia andinos como *Ur-9*, *Ur-6*. Caso similar con el resultado del aislamiento Q-1-S1 de roya de Quetzaltenango que demostró la presencia de la raza 0-47 por lo que se pueden usar genes de resistencia andinos como *Ur-4*, *Ur-9*, *Ur-6*.

2. Marco teórico

2.1. Importancia del cultivo de frijol en Guatemala

Las leguminosas de grano contienen altos niveles de proteína y son ampliamente consumidas, el frijol es una de las más relevantes (Broughton et al., 2003). Además del contenido proteico, el frijol provee carbohidratos complejos, fibra, vitaminas y minerales (Geil and Anderson, 1994). Por lo tanto, el consumo de frijol juega un papel importante en la mejora de la seguridad alimentaria, especialmente en regiones en vías de desarrollo debido a su bajo costo (Gepts, 2004). Latinoamérica es una de las principales regiones productoras de frijol (Nedumaran et al., 2015), en donde la mayor producción proviene de pequeños agricultores (CGIAR, 2017).

A pesar de su importancia, Guatemala no ha logrado cubrir la demanda nacional de frijol (Azurdia, 2014). Además, se prevé que los cambios climáticos afectaran la productividad principalmente en países desarrollados como Guatemala, lo que aumenta la incidencia de enfermedades y estreses abióticos (Beebe et al. 2011).

Guatemala es el sexto país con peores cifras de malnutrición infantil según la UNICEF (2019), aproximadamente 50% de los niños menores de cinco años presentaron desnutrición crónica (World Bank, 2016). Sin embargo, en algunas zonas rurales se ha podido detectar hasta el 80% de población malnutrida. En definitiva, el maíz y los frijoles son la principal fuente de calorías y proteína para las familias guatemaltecas de bajos recursos (Osorno et al., 2013).

Según datos del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación (MAGA), el consumo per cápita de frijol en Guatemala es aproximadamente 30 libras anuales. A pesar de eso, el consumo actual de ambos granos no es suficiente para cubrir el nivel de nutrientes adecuado en parte de la población. (Osorno et al., 2013). Entonces es necesario incrementar la productividad y el consumo de frijol en Guatemala para impulsar la seguridad alimentaria.

Esto se reafirma con el estudio conducido por De Young et al. (2016), donde indica que el frijol es uno de los dos cultivos más importantes en la región del Altiplano de Guatemala; se encontró que algunas familias, en promedio, consumen frijol tres veces a la semana.

Alrededor del 66% de la producción es plantada por pequeños productores en áreas de laderas, pero solamente generan el 53% de la producción nacional. En áreas de laderas (generalmente altiplano central y occidental) se produce y consume frijol tipo arbustivo y voluble. A pesar que el frijol voluble puede producir el doble que los frijoles arbustivos, este ha tenido menos financiamiento para mejoramiento (Wortmann and Alen, 1994).

2.2. *Uromyces appendiculatus*

Las enfermedades son catalogadas como uno de los factores críticos en la pérdida de producción dentro de los estreses bióticos. Uno de los grupos de patógenos más importantes es de los hongos de roya (Uredinales o Pucciniales Basidiomycota), el cual causa significativas pérdidas de rendimiento y afecta a un grupo amplio de cultivos como trigo (*Triticum sp. L.*), arroz (*Oryza sativa L.*), frijol, etc. (Toome and Aime, 2013; Duplessis et al., 2011). Si bien recientemente se evaluaron 17 aislamientos recolectados en el Altiplano de Guatemala (Montejo et al., 2017), aún hace falta evaluar más localidades en la misma zona productora de frijol y otras zonas de Guatemala.

La roya en frijol, es causada por el basidiomiceto biotrófico *Uromyces appendiculatus*, el cual es un parásito obligado del frijol (*Phaseolus vulgaris*) en América y África (Hurtado-Gonzales, et al. 2017). Éste patógeno fue descrito por primera vez en Alemania en el año 1795 por Persoon como *Uredo appendiculata phaseoli* (Jules, 2010)

El ciclo de vida de la roya es complejo y consta de cinco distintas etapas de esporas y tres condiciones nucleares diferentes, que son indicativas de la capacidad de este patógeno para la recombinación genética (Groth y Mogen 1978; McMillan et al. 2003). El mismo se desarrolla con las condiciones favorables de humedad alta y temperaturas entre 17 y 27°C.

A través de diferentes estudios se ha encontrado información de la diversidad de virulencia de *U. appendiculatus* (Acevedo et al., 2013; Montejo et al., 2017; Steadman et al., 2002; Liebenberg and Pretorius, 2010). Actualmente se usa un sistema binario basado en el tamaño de la (fenotipos de virulencia). Más de 300 razas de *U. appendiculatus* han sido detectadas en Estados Unidos, África, Asia y otros países de América (Steadman et al., 2002; Liebenberg and Pretorius, 2010).

Mersha y Hau, (2008), menciona que este patógeno puede causar hasta 100% de pérdidas en rendimiento, por lo cual es muy importante mejorar materiales resistentes. Esto ayuda a mejorar la seguridad alimentaria, especialmente de agricultores de subsistencia que dependen de su producción anual.

2.2.1. Epidemiología y ciclo de vida de *Uromyces appendiculatus*

El ciclo de vida de la roya del frijol consta de cinco etapas diferentes las cuales son: basidios, picnias, aecia, uredinia, y telia. La etapa patogénica es la uredinial. El período latente entre la germinación de una uredinospora y su maduración es aproximadamente siete días.

La roya causa reducción de rendimiento en las plantas mediante la disminución del área fotosintética, cuando las pústulas con halo amarillo aparecen consecuentemente, la defoliación ocurre como mecanismo de defensa del hospedero (Lopes y Berger, 2001). La roya es un patógeno biotrófico obligado que ha evolucionado para manipular el metabolismo del hospedero y alimentarse del mismo para sobrevivir. Dentro de sus mecanismos de sobrevivencia se encuentra la haustoria, una estructura que transfiere proteínas efectoras al hospedero para extracción de nutrientes y supresión del sistema inmune.

a. Estadío asexual.

Uromyces appendiculatus, es un parásito obligado, es autoico y macrocíclico, completando su ciclo de vida completo en el frijol común (*P. vulgaris*) (Harter y Zaumeyer 1941). Las urediniosporas germinan en la superficie de la hoja u otra parte aérea, fuertemente adheridas a la superficie de la hoja, crecen sobre la epidermis hasta llegar a la estoma. Al estar en la estoma se forma un apresorio que desempeña un papel clave (Wynn 1976; Allen et al. 1991). Desencadenando señales como un gradiente en la concentración de oxígeno (O₂), dióxido de carbono (CO₂), o pH (Von Alten 1983).

Dentro de la cavidad sub-estomatal crece una hifa de infección que colonizará los espacios intercelulares. Los nutrientes son extraídos de células mesófilas del huésped a través del haustorio (Wynn 1976; Mendgen 1978; Von Alten 1983). Las células circundantes son estimuladas y preservadas en el tejido no invadido (Wingard 1935). Siguiendo, ocurre un colapso que conduce a la necrosis reacción observada en las accesiones resistentes, a haustorios con reacciones hipersensibles. Esto usualmente causa la muerte del hongo antes de la producción de esporas. (Wingard 1935; Mendgen 1978).

Aproximadamente entre siete a diez días después de la infección la epidermis se abre (Last y Schein 1973), exponiendo el desarrollo de esporas en la atmósfera. Estas cambian de color tornándose marrón canela, y forman la uredinia o pústulas que oscilan entre 0.2-0.9 mm de diámetro, eventualmente pueden alcanzar entre 2mm – 4,8mm (Yarwood 1961).

En genotipos altamente susceptibles, se suele desarrollar una concentración de círculos cloróticos alrededor de la pústula primaria (Harter y Zaumeyer 1941), pero su formación no se considera una característica estándar.

El área micelial dentro del hoja logra alcanzar >5mm dentro de 40 días después de la infección, aumentando el área de esporulación (Yarwood 1961). Las urediniosporas tienen viabilidad relativamente corta (Harter et al. 1935). Dependiendo a la humedad relativa (HR) durante la esporulación, se ha calculado el potencial de producción de urediniosporas por pústulas de aproximadamente > 20,000 por día (Aust et al. 1984). Las urediniosporas, son principalmente dispersadas por el viento, pueden germinar apenas maduran completando el ciclo asexual aproximadamente cada 10 a 15 días re infectando el hospedero (Harter et al. 1935; Zaumeyer y Thomas 1957).

b. Estadío sexual

Según (Waters, 1928), los factores ambientales como la intensidad de la luz, temperatura, humedad y su presencia individual o en combinación, influye indirectamente en el ciclo de vida de la roya. Estos factores afectan el metabolismo del hospedero, (especialmente cuando el hospedero está débil), entonces, se induce a realizar un cambio entre la producción de uredinias a telios. Factores como la madurez de la planta, edad de la hoja y respuesta del hospedero también juegan un rol importante (Stavely y Pastor-Corrales 1989).

En campo el remplazo de urediniosporas a teliosporas ocurre durante la finalización de verano en las hojas más viejas y es más común en climas templados (Zaumeyer and Thomas 1957; Linde et al. 1990; Schwartz et al. 1990; McMillan et al. 2003). La mayoría de aislamientos colectados en este tipo de climas pueden ser inducidos a formar teliosporas dentro de un invernadero a través de la manipulación del metabolismo del hospedero (Waters 1928; Harter et al. 1935), las teliosporas pueden formarse espontáneamente en las hojas y permanecer por largos periodos de tiempo en el invernadero (Zaumeyer and Thomas 1957; Ballantyne 1978; Linde et al. 1990).

En las zonas tropicales de América del Sur y Central se ha observado la presencia de Telios. La germinación de las teliosporas da lugar al basidio y esto requiere un período de descanso (Zaumeyer y Thomas 1957). Las condiciones favorecen el surgimiento del frijol voluntario que son favorables para la germinación de basidiosporas e infección de las plantas de frijol (McMillan et al. 2003).

El ciclo de vida de la roya consiste en cinco fases de esporas: 1) Teliosporas, estas germinaran para producir el basidio en donde ocurrirá recombinación sexual, 2) El basidio producirá basiodiosporas que son transportadas por el viento e infectaran nuevas plantas. 3) Picnia: estas son desarrolladas aproximadamente seis días después de la infección de las basiodiosporas; esta produce la espermatia e hipha. Estas estructuras se fertilizan cruzadamente creando recombinación sexual y producen la Aecia. 4) Aecia: esta estructura producirá urediniosporas, que producirán más urediniosporas. Luego, las urediniosporas producirán la 5) Uredinia. Al final del ciclo del hospedero la Uredinia se transformara en Telia como una fase hibernal. Las condiciones óptimas para el desarrollo de roya son alta humedad y temperaturas entre 16-29 °C (Agiros, 2004; Souza et al., 2008; Markell et al., 2012).

2.2.2. Síntomas

La enfermedad puede visualizarse en todas las partes aéreas de las plantas especialmente en las hojas. Los síntomas iniciales son pequeñas marcas circulares de color blanco- crema debajo de la epidermis, generalmente en focos de infección. Las pústulas de roya se desarrollan como urediniosporas, estas a menudo están rodeadas por un halo clorótico. Aparecen lesiones necróticas circulares entre color café o gris a negro, que de diámetro miden entre 0.3mm a 3mm o más. En algunos casos las lesiones necróticas pueden contener pústulas en plena esporulación. (Fromme y Wingard 1921; Harter y Zaumeyer 1941). Estas

pústulas generalmente son pequeñas, (Fromme y Wingard 1921) pero pueden alcanzar los 0.8mm de diámetro o más (Liebenberg 2003).

El tipo de pústula está en función de la interacción del hospedero con la raza (Harter et al. 1935; Harter y Zaumeyer 1941); por consiguiente, donde hay más de una raza presente puede ocurrir más de un tipo de pústula en la misma hoja. En áreas de vainas, tallos y pecíolos las pústulas se alargan (Zaumeyer y Thomas 1957). La etapa uredinial generalmente es más prolífica durante y después de la floración, probablemente porque la planta concentra su energía en la producción (Stavely y Pastor-Corrales 1989).

2.2.3. Diversidad genética e identificación de razas

El primer sistema de identificación de razas fue mediante el uso de 20 cultivares diferenciales de frijol con genes de resistencia identificados (Stavely et al., 1984). Sin embargo, el cultivar Mountaineer Half Runner fue eliminado debido a la duplicación de genes, lo cual redujo el set a 19 cultivares (Stavely and Steadman, 1992). El sistema de evaluación consistía en la asignación de valores a los cultivares y cuando estos presentaban reacción susceptible entonces el valor era sumado. Sin embargo, el sistema binario fue establecido después (Habgood, 1970) y el número de cultivares diferenciales fue reducido a 12. El set de diferenciales generado en el 2002 contiene seis cultivares de origen Mesoamericano y seis cultivares de origen Andino (Cuadro 1) (Steadman et al., 2002). Los cultivares se categorizan en susceptibles y resistentes, lo cual es basado en el grado de reacción y el diámetro de pústula. La escala de valoración del tipo de infección está entre el rango 1-6, donde 1-3 significa que son resistentes, y 4-6 es susceptible (Cuadro 2) (Stavely, 1984; Mmbaga et al., 1996). Para clasificar un aislamiento como raza, se usa el sistema binario, donde la suma valores binarios de los cultivares mesoamericanos y andinos susceptibles son separados por un guion (Stavely, 1984; Mmbaga et al., 1996).

Cuadro 1. Cultivares diferenciales de frijol para la caracterización de *U. appendiculatus* y sus genes de resistencia

Número de diferencial	Cultivar	Gen de Resistencia	Origen	Valor Binario
	Early Gallatain	4	Andino	
	Redlands Pioneer	13	Andino	
	Montcalm	known	Andino	
	PC-50	9, Ur-12	Andino	
	Golden Gate wax	6	Andino	
	PI 260418	known	Andino	
	GN 1140	7	Mesoamericano	
	Aurora	3	Mesoamericano	
	Mexico 309	5	Mesoamericano	
	Mexico 235	3+	Mesoamericano	
	CNC	known	Mesoamericano	
	PI 181996	11	Mesoamericano	

Fuente: Steadman et al., 2002

Cuadro 2. Descripción de los tipos de infección de *U. appendiculatus* en escala de 1-6, basado en el diámetro de las pústulas.

Descripción	Tipo de Infección	Genotipo
Sin síntomas visibles	1	Resistente
Puntos necroticos sin esporulacion	2+	Resistente
Uredinia ≤ 300 μm de diámetro	3	Resistente
Uredinia 300 – 499 μm de diámetro	4	Susceptible
Uredinia 500 – 799 μm de diámetro	5	Susceptible
Uredinia ≥ 800 μm de diámetro	6	Susceptible

Fuente: Stavely, 1984; Mmbaga et al., 1996

Durante el ciclo productivo del 2015 se recolectaron 23 muestras de roya de frijol en campos de productores del Altiplano. En total, 17 muestras fueron caracterizadas y como resultado se identificaron dos razas: 63-1 y 31-1. Estas razas están presente en los tres departamentos muestreados (San Marcos, Quetzaltenango y Chimaltenango), lo cual indica que no hubo diferenciación geográfica entre ambas razas. Además, basado en el valor binario de ambas razas de roya, estas son virulentas a la mayoría de genes de resistencia de origen Andino, y *Ur-7* de origen Mesoamericano (Montejo et al., 2017). Sin embargo, es necesario caracterizar más aislamientos mediante el muestreo de más zonas productivas, de esta manera encontrar que genes se ven afectados por las razas presentes.

2.3. Antracnosis del frijol *Colletrotricum linedemuthianum*

La antracnosis en frijol es causada por el hongo *Colletrotricum linedemuthianum* descrito por Saccardo y Magnus en 1878. Shear y Wood encontraron la fase perfecta del hongo y la denominaron *Glomerella lindemuthianum* Shear Scribner (1889) publicó otros artículos sobre la Antracnosis del frijol y denominó al hongo *C. lindemuthianum* (León, 2019).

Este es uno de los patógenos más críticos en las áreas tropicales, es muy variable, y aun no se ha reportado una sola fuente de resistencia a todas las razas (Mahuku et al., 2004). Bajo condiciones favorables antracnosis puede causar la pérdida total de la producción (Padder et al., 2017). Una de las razones por la cual este patógeno es uno de los más críticos en frijol se debe a su dispersión por semilla (www.plantwise.org).

2.3.1. Síntomas y Epidemiología

Las condiciones ideales para antracnosis son: alta humedad relativa (~92%), lluvias frecuentes y temperaturas entre 13°C y 26°C (17°C óptimo). Las temperaturas debajo de 7°C y mayores de 33°C retardan o inhiben el desarrollo del patógeno (Rosas y Venegas, 2007; Mohammed, 2013). La salpicadura por lluvia incrementa la diseminación de los conidios del hongo.

La antracnosis desarrolla estructuras especializadas de infección (apresorio, vesículas de infección e hifa primaria y secundaria) para invadir el tejido del hospedero. Durante la fase biotrófica el conidio germina y desarrolla el apresorio entre cuatro a 24 horas, según la humedad (Perfect et al., 1999; Rosas y Venegas, 2007). El apresorio se adhiere y penetra la cutícula y la epidermis. Luego, dos a tres días después el patógeno cambia a una fase necrotrófica donde invade el tejido con la hifa secundaria. La infección se completa en un ciclo de siete a ocho días hasta que se producen nuevos conidios (Perfect et al., 1999).

Se pueden observar lesiones necróticas de color rojizo a negro en las nervaduras de la hoja, inicialmente en el envés. Si la infección es más severa y la humedad favorece, también se observaran síntomas en las vainas. Las vainas presentan puntos o manchas necróticas profundas de coloración negra con bordes rojizos en forma circular. Estas lesiones reducen la calidad de la cosecha, y si son suficientemente profundas infectaran la semilla, la cual no

podrá ser usada para siembra ya que dispersara el patógeno (Pastor Corrales et al., 1989; Rosas y Venegas, 2007).

2.3.2. Diversidad genética

C. lindemithianum, tiene una relación gen-gen con el hospedero (Flor et al., 1971), al igual que otros patógenos del frijol. Se han reportado numerosas razas de antracnosis alrededor del mundo, por ejemplo, en Brasil más de 50 razas han sido identificadas y nuevas siguen siendo reportadas hasta el día de hoy (Ribeiro et al., 2016). En Estados Unidos la raza más prevalente es la 73 (Kelly et al., 1994). Sin embargo, existe mayor diversidad patogénica y molecular en Mesoamérica (Pastor-Corrales y Tu, 1989). Para la evaluación de razas se propuso el set de doce diferenciales de frijol con un sistema de nomenclatura binaria (Pastor-Corrales 1991) (cuadro 3). Además, se emplea una escala de 1-9 para evaluar los tipos de infección y clasificar los cultivares como resistentes o susceptibles (Schoonhoven and Pastor-Corrales, 1987) (Fig. A1). Más de 11 razas han sido identificadas usando este sistema de diferenciales. Maldonado et al. (2017) identificó seis razas (556,585, 897, 1609, 1993, 3981) evaluando 15 aislamientos colectados en el altiplano Guatemalteco, las cuales afectaron principalmente genes de resistencia Mesoamericanos.

Cuadro 3. Cultivares diferenciales de frijol común y sus genes de resistencia, cromosoma donde se localizan y los códigos binarios para la asignación de la raza.

Cultivares diferenciales	Genes R	Cromosoma de <i>P. vulgari</i>	Código binario
Michelite	<i>Co-11</i>	Pv03	1
MDRK*	<i>Co-1</i>	Pv01	2
Perry Marrow	<i>Co-1</i> ³	Pv01	4
Cornell 49242	<i>Co-2</i>	Pv11	8
Widusa	<i>Co-1</i> ⁵	Pv01	16
Kaboon	<i>Co-1</i> ²	Pv01	32
Mexico 222	<i>Co-3</i>	Pv04	64
PI 207262	<i>Co-3</i> ³ , <i>Co-4</i> ³	Pv04, 08	128
TO	<i>Co-4</i>	Pv08	256
TU	<i>Co-5</i>	Pv07	512
AB 136	<i>Co-6</i> , <i>co-8</i>	Pv07, NA	1024

Pastor-Corrales 1991.

*Código binario: La asignación de la raza resulta de la suma de los valores binarios de los cultivares susceptibles, en donde la escala los clasifica como: Resistente: valores de 1-3; Susceptible: valores de 4-9 (Schoonhoven and Pastor-Corrales, 1987)

Debido a la variabilidad de razas de antracnosis, no existe un solo gen resistente a todas las razas. Sin embargo, se ha encontrado que *P. polyantus* tiene niveles más altos de resistencia que *P. coccineus* cuando fueron evaluados con las razas 6, 15 y 3481 (Mahuku et al., 2002). Demostrando la relevancia de la evaluación de nuevas fuentes de resistencia.

3. Objetivos

General:

Contribuir con la sostenibilidad de la producción de frijol en Guatemala.

Específicos:

1. Identificar la diversidad patogénica de roya (*Uromyces appendiculatus*) y antracnosis (*Colletotrichum lindemuthianum*) del frijol en zonas productoras de frijol del Altiplano.
2. Identificar posibles genes de *P. vulgaris* confiriendo resistencia a las razas identificadas de roya y antracnosis en Huehuetenango, San Marcos y Quetzaltenango.

4. Hipótesis

Ha. Se encontrará al menos una raza de roya en el Altiplano de Guatemala.

Ha. Se encontrará al menos una raza de antracnosis en el Altiplano de Guatemala.

5. Materiales y métodos

5.1. Localidad y época

La caracterización de razas se llevó a cabo en la región del Occidente, en el municipio de Olintepeque del departamento de Quetzaltenango, en el Centro de Investigación del Altiplano Occidental ICTA-CIALO-. Sin embargo, la fase de recolección de muestras se realizó en áreas productoras de frijol del departamento de Huehuetenango, San Marcos y Quetzaltenango. Se incluyeron muestras obtenidas en Totonicapán y Chimaltenango. Las recolecciones iniciaron en diciembre del 2017, y se continuó en las épocas de producción del

2018 y 2019. Simultáneamente, las caracterizaciones iniciaron en Mayo del 2018 a Noviembre del 2019.

5.2. Muestreo

Las recolecciones fueron realizadas al azar dentro de las parcelas, siempre y cuando se presentaran los síntomas, pues el objetivo fue obtener el patógeno causante. La recolección se ejecutó basada en el protocolo escrito por Steadman (2015), donde indica que una hoja infectada representa una muestra de la enfermedad. Se realizó un muestreo al azar dependiendo de la disponibilidad de parcelas de frijol en cada área, las cuales fueron variables. Además la disponibilidad del productor para permitir el ingreso para el muestro. Los productores fueron contactados por medio de la disciplina de Validación y Transferencia de Tecnología de cada zona. Tomando en cuenta que las condiciones climáticas fueran favorables para el desarrollo de la enfermedad. Debido a que roya se transporta por esporas por lo general no existen patrones para encontrar el patógeno, ni existen registros sobre su ubicación específica. Estas muestras fueron colocadas en sobres de papel debidamente rotulados, y luego secadas con sílica gel.

Las caracterizaciones en el set de diferenciales se realizaron completamente al azar con cuatro repeticiones bajo condiciones controladas. Para la caracterización de razas de roya se siguió el protocolo descrito por Steadman et al. (2002) y Acevedo et al. (2013). Esto incluye las siguientes fases: recolección, purificación, incremento, inoculación y caracterización.

La caracterización de antracnosis se realizó siguiendo el protocolo descrito por Pastor Corrales (1,991) y CIAT, lo cual incluyó las fases de: Recolección, aislamiento, incremento, inoculación y caracterización.

5.3. Tratamientos

Los tratamientos fueron conformados por los aislamientos. Cada aislamiento fue inoculado en un set de 12 genotipos diferenciales con cuatro réplicas y cuatro pseudo réplicas. Cada aislamiento fue evaluado por separado para evitar contaminación.

5.4. Tamaño de la unidad experimental

Una planta representó una unidad experimental.

5.5. Modelo estadístico

Completamente al azar: $y_{ij} = \mu_i + E_{ij}$

Dónde: y_{ij} es la observación de la j -ésima u.e. del i -ésimo tratamiento, μ_i es la media del i -ésimo tratamiento, E_{ij} es el error experimental de la unidad ij .

5.6. Variables de respuesta

1. Tipos de infección basados en el diámetro de la pústula, en escala de 1-6 (Cuadro 2) para el caso de roya. Utilizando una lupa con escala de diámetros IGAGING®.
2. Para el caso de antracnosis, se midió el tipo de infección en planta basado en la escala de 1-9 CIAT (Fig. A.1)

5.7. Análisis de la información

Basado en el tipo de infección en los cultivares diferenciales y la reacción (Resistente/Susceptible) se determinaron los posibles genes confiriendo resistencia a las razas específicas.

5.8. Manejo del experimento

5.8.1. *Uromyces appendiculatus*

Para llevar a cabo la caracterización de roya del frijol, se ejecutaron las siguientes fases:

a. Muestreo, recolección y conservación:

El primer muestreo se realizó en noviembre y diciembre del 2017, sin embargo, por la baja presencia del patógeno en campo y síntomas débiles, se continuó durante el período productivo del 2018. Se cubrieron localidades de Quetzaltenango, San Marcos y Huehuetenango. Además, se integraron muestras de Totonicapán y Chimaltenango ya que estaban disponibles (Cuadro A1). Las zonas fueron seleccionadas basado en la presencia del cultivo, época (entre floración a madurez fisiológica) y disponibilidad del agricultor a través de un muestreo convencional. Para la identificación de las localidades se coordinó con el personal de la Disciplina de Validación y Transferencia de Tecnología de ICTA, además del Programa de Mejoramiento de Frijol ICTA. En total se obtuvo un banco de 67 muestras que conforman 38 localidades diferentes.

Las muestras fueron colectadas según el protocolo de Steadman (2015) de la universidad de Lincoln, Nebraska, EE. UU. Este indica que una hoja por parcela representa un aislamiento. Las hojas con síntomas de roya (pústulas rojizas), fueron cortadas y colocadas en sobres de papel tamaño moneda. Luego, colocadas en caja de cartón con ventilación y bajo sombra. Después de la recolección se disminuyó la humedad de las muestras agregando sílica gel con los sobres abiertos. Las muestras fueron almacenadas hasta el inicio de la caracterización (Cuadro A.1). Las muestras que se lograron reactivar para su aislamiento e incremento para esta caracterización se observan en el cuadro 4.

Cuadro 4. Muestras aisladas de *Uromyces appendiculatus*. ICTA Guatemala, 2019

Identificación de la muestra	Tipo de muestra	Localidad	Coordenadas		Altitud en msnm
Q-1-S1	Hoja	Labor Ovalle, Quetzaltenango	14°52'12"	91°30'50"	2380
CH- 2- S1	Hoja	San Juan Comalapa Chimaltenango	14°44'30"	90°53'20"	2150
T-6-S1	Hoja	Cas. Sn Jose Sigüila, Xequemeyá, Momostenango, Totonicapán	15° 9'99"	91° 19'57"	1755
T-7- S1	Hoja	Paraje Pacaman Aldea Xequemeyá, Momostenango, Totonicapán	15° 05'84"	91° 21'22"	1961
H-12-S1	Hoja	Jacaltenango, Huehuetenango	15° 45'16"	91° 49'10"	750

Fuente: Elaboración propia.

b. Incremento de Esporas

Se incrementaron las esporas obtenidas en cada muestra hasta contar con suficiente cantidad para la evaluación de patogenicidad en los cultivares diferenciales. Las Urediniosporas de cada muestra se colectaron de las hojas y se usaron la solución de Tween-20 (0.04%) y un pincel para removerlas. Luego esta solución con esporas se aplicó para inocular las hojas primarias del cultivar susceptible Pinto UI 114. Después de ser inoculadas, las plantas se secaron a temperatura ambiente y fueron colocadas en cámara de humedad (con agua destilada), por al menos 16 horas (Steadman et al., 2002)

Transcurrido este tiempo las plantas fueron trasladadas al invernadero para el desarrollo de síntomas. Aproximadamente 10-14 días después se cosecharon las esporas y guardadas en papel aluminio y micro tubos plásticos, las mismas se cosecharon cada semana por cuatro semanas. Las esporas cosechadas fueron llevadas a un secador de vidrio con sílica durante 48 horas y almacenadas a -4 °C para su conservación hasta su uso.

c. Aislamiento del único Uredinium (S.I.U. en inglés)

De las pústulas desarrolladas en la fase anterior se eligió una sola pústula para purificar el aislamiento. Si alguna pústula presentaba diferencias de tamaño en la misma hoja, esta se consideró como una pústula distinta y por ende como distinto aislamiento (ej. 1a, 1b). Las pústulas seleccionadas se inocularon por separado en el susceptible Pinto UI-114 para su incremento, tal como se describe en la fase de incremento.

d. Caracterización de razas

La evaluación de patogenicidad para conocer la raza de los aislamientos se llevó a cabo con el set estándar de doce cultivares diferenciales de frijol (Cuadro 1). El inóculo de cada *Uredinium* se preparó de la siguiente manera: Se añadieron aproximadamente 2.5 mg de uredinioesporas por cada 30ml de Tween-20 (0.004), se mezcló por 30 minutos a temperatura ambiente y se realizó el conteo para determinar la concentración. El conteo se realizó en cámara de Neubauer bajo microscopio para luego obtener una concentración final de $2,0 \times 10^4$ por mL de agua destilada.

La mezcla de esporas de cada aislamiento se realizó por separado. Se inocularon cuatro sets de diferenciales con cada aislamiento utilizando un aerógrafo y luego de secarse se trasladaron a la cámara de humedad para su incubación por al menos 16 horas.

Pasado este periodo las plantas fueron colocadas en el invernadero para el desarrollo de síntomas, los cuales fueron evaluados 14 días después de la inoculación. Para la evaluación de los tipos de infección se empleó la escala de 1-6 basada en el diámetro de pústula (Tabla 2) (Stavely, 1984; Mmbaga et al., 1996; Steadman et al., 2002).

Los cultivares con tipos de infección (TI) de 1-3 fueron clasificados como resistentes, y los cultivares con TI de 4-6 como susceptibles. Los valores binarios de los cultivares susceptibles fueron sumados para generar el número de la raza como fue establecido en la 3er Conferencia Internacional de Roya del frijol en E.E. U.U. (Steadman et al., 2002).

e. Conservación del patógeno

Los aislamientos provenientes de un único ureidinio y ya caracterizados, fueron incrementados como se indica anteriormente. Estas esporas fueron cosechadas en microtubos, secadas con sílica y conservadas a -20°C para futuros estudios. El procedimiento de caracterización de razas de *Uromyces appendiculatus* se ilustra en la figuras A.2 al A.11.

5.8.2. Colletotrichum lindemuthianum

a. Muestreo, recolección y conservación

La recolección se realizó en los departamentos de Quetzaltenango, Huehuetenango y San Marcos. Sin embargo, dado a las condiciones favorables para el patógeno y la presencia de síntomas se incluyeron muestras de Totonicapán y Chimaltenango. En total se obtuvo un banco de 52 muestras que conforman 30 localidades diferentes (Cuadro A.2), de las cuales, se aislaron y caracterizaron cuatro muestras. Esto debido a que las demás presentaron síntomas muy débiles, o no fue posible aislar el patógeno en medios de cultivo. Agregado a esto se confirmó una raza ya que presentaba diferente reacción de susceptibilidad en la diferencial Michelite. Las muestras se conservaron en sobres de papel individuales, en una caja con sílica gel. En resumen, las muestras aisladas fueron las que se presentan en cuadro 5.

Cuadro 5. Muestras colectadas de *Colletotrichum lindemuthianum*, ICTA Guatemala, 2019

Identificación de la muestra	Tipo de muestra	Localidad	Coordenadas	Altitud (msnm)
H-2-S1	Vaina	Las Regadillas Chiantla, Huehuetenango	15°21'36.58" 91°28'40.49"	1945
H-3-S1	Hoja	El Pino, Chiantla, Huehuetenango	15°23'32.70" 91°28'11.18"	2584
Q-5-S1, S2	Vaina	Labor Ovalle, Quetzaltenango	14°52'12" 91°30'50"	2380
CH-1-S1	Vaina	Chimaltenango	14°38'16.51" 90°48'11.47"	1766

Fuente: Elaboración propia

b. Preparación de medio para aislamientos

Para el aislamiento de *C. lindemuthianum* durante la ejecución del proyecto se realizaron diferentes pruebas de medio, ya que algunas se contaminaron, o el crecimiento y desarrollo del patógeno no fue adecuado.

b.1. Fase de purificación de *C. lindemuthianum*

En la fase de purificación se realizaron diferentes medios, para obtener el inóculo requerido como el agar-agar, y PDA (Anexo 1).

c. Aislamiento de *Colletotrichum lindemuthianum*

c.1. Siembra

1. Se cortaron explantes de 5x3mm de vainas y hojas infectadas, se evitó que las lesiones estuviesen maduras o viejas, ya que eso favorece el crecimiento de patógenos contaminantes.
2. Se procedió a realizar una pre-desinfección en 100 ml en una solución de agua y cloro al 5%, por cinco minutos en el *hot plate stirrer*. Se cambió la solución de los explantes por agua destilada y se agitó por cinco minutos.

c.2. Desinfección:

Se realizaron dos tipos de desinfección antes de la siembra para identificar el más efectivo, (Anexo 2).

Finalmente se colocaron entre 4 a 5 explantes por caja (PDA o Agar-agua) y se dejaron en la incubadora a 20°C por 10 días. En los aislamientos con la segunda desinfección, se comprobó menor contaminación.

c.3. Purificación

Al término de los diez días en la incubadora, se trasladó micelio al medio Mathur's, el cual hace esporular las hifas mientras siguen su crecimiento. El procedimiento fue el siguiente:

1. Observación en estereoscopio, el tejido enfermo, identificar en él los acérvulos bien desarrollados de color salmón en cuyo interior están los conidióforos y las conidias; éstas se liberan fácilmente al entrar en contacto con el agua.
2. Con la aguja flameada se tocó el acérvulo elegido para que las conidias quedaran adheridas a la punta de la aguja.
3. Se desprendieron las conidias con la ayuda de un gotero y agua destilada, se vertió entre tres a cuatro gotas en el alfiler suspendido sobre el medio, lo cual se esparció con la ayuda de una espátula. Todos los instrumentos fueron previamente esterilizados. Y en cada operación se flameó cada uno de los diferentes instrumentos.
4. Posterior a ello, fueron incubaron en cajas petri a 20°C, al término de dos días las esporas germinaron.
5. Para obtener un cultivo monospórico, se procedió a cortar alrededor de la espora germinada y transferirla a otra caja con medio Mathurs. El cultivo monospórico, entre 10- 12 días, cubrió totalmente el medio con las estructuras del hongo.

d. Incremento de *Colletotridum lindemuthianum*

d.1. Incremento en medio Mathur's

Un aislamiento monospórico permitió realizar varios incrementos, de la siguiente manera. Se vertió agua destilada estéril con la ayuda de un gotero y con la espátula se desintegraron los acérvulos para que las conidias formaran una suspensión, con otro gotero se transfirieron varias gotas a más cajas Petri esparciéndolas con la espátula previamente flameada en cada operación.

d.2. Incremento en hojas

Se esterilizaron hojas de frijol en una caja petri, previamente lavadas. Las cuales se colocaron en medio agar-agua o Mathur's. El incremento se realizó de dos formas, se vertió agua en un aislamiento monospórico, luego se raspó y transfirió la solución sobre la hoja. El segundo método fue con el uso de una aguja de transferencia y asa para seleccionar una espora y se transfirió a la hoja.

d.3. Incremento en vainas

El procedimiento fue esterilizar vainas de frijol, y colocarlas en tubos con medio agar-agua. Se les dejó caer cinco gotas de la solución monospórica.

Los diferentes tipos de incremento fueron realizados dentro de la cámara de flujo laminar. Y las cajas petri con el aislamiento se dejaron en la incubadora a 20°C, el mismo estaba listo entre ocho a diez días.

e. Inoculación de *Colletotrichum lindemuthianum*

Para la inoculación de los sets de diferenciales se seleccionó una caja petri con incremento. La concentración final fue de 1.2×10^6 conidias/ml. El conteo de las esporas para preparar la solución se realizó con la siguiente fórmula:

$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

Se procedió a contar las esporas de las cuatro esquinas y en el centro de la cámara de Neubauer. Ese total se multiplicó por 50,000 lo que dio el valor de C1. Los pasos del procedimiento están en anexos (Fig A.12-A.22).

f. Conservación de *Colletotrichum lindemuthianum*

Para conservar aislamientos que puedan ser requeridos en el futuro se utilizó sílica gel y refrigeración de papel Whatman® con el patógeno figura 1 y 2.



Figura 1 Silica gel (4°C). ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019



Figura 2. Papel infectado (-20°C). ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019.

6. Resultados

6.1. Identificación de razas de roya, *Uromyces appendiculatus*

6.1.1. Caracterización de aislamiento Tot- 6-S1, raza 5-47

Basado en los tipos de infección evaluados en el set de doce cultivares diferenciales con genes específicos de resistencia a roya, se determinó que el aislamiento colectado Tot-6-S1 se identifica como raza 5-47 (Cuadro 6). Esta raza no ha sido reportada previamente en Guatemala, y afecta la mayoría de genes Mesoamericanos y proviene de Caserío San José Sigüila, Xequemeyá, Momostenango, Totonicapán; a altitud de 1755 msnm. Así mismo, fue virulenta a *Ur-4* y *Ur-5* de origen Andino. También a los genes *Ur-7*, *Ur-3*, *Ur-5*, *Ur-3+* y *Ur-11*, de origen Mesoamericano. Por lo tanto, esta raza es altamente virulenta a cultivares con genes de resistencia Mesoamericanos.

Cuadro 6. Tipos de infección en cultivares diferenciales de resistencia a roya al aislamiento Tot-6-S1, ICTA, Guatemala, 2019

No.	Diferencial	Gen R.	Tipo de infección												No. Binario	
			Rep 1				Rep 2				Rep 3					
1	Early Gallatin	Ur-4	4,5	4,5	4	4	3,4	4	4	3	2	3,4	3,4	3,4	^s	1
2	Redlands Pioneer		3	2,3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	^r	-
3	Montcalm		3,4	5	4,5	4	4,5	4,5	5	5	3,4	4	4,5	4	^s	4
4	PC 50	Ur-9	1	2	2	2	2	2	2	2	1	3	3	3	^r	-
5	Golden Gate Wax	Ur-6	3	3	3	3	3	2,3	3	3	3	3,4	3	3	^r	-
6	PI 260418		1	3	3	3	3	3,2	3	3	3	3	2,3	3	^r	-
7	GN 1140	Ur-7	2,3	3	4	3,4	4,5	4,5	4	4	3,4	3,4	3,4	3	^s	1
8	Aurora	Ur-3	4,5	3	3,4	3,4	4	4	4	4	4	4	4	5	^s	2
9	Mex 309	Ur-5	5,4	5	5,6	4	5	5,6	6	5	4	4,5	5,4	3,4	^s	4
10	Mex 235	Ur-3+	4	4	4	4	4	4	3,4	3	4	4	4	4	^s	8
11	CNC		2,3	3	3	3	3	3	3	3	2,3	3	3	2,3	^r	-
12	PI 181996	Ur-11	5	5,6	4,5	DP	5,6	5,6	4	5,6	3	4,5	4	4,5	^s	32
T	UI 114		5,6	5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	5,6		
T	Texel		5,6	6>	5,6	DP	6>8	6	6	6	6	5,6	5	5,6		
Raza														5-47		

Fuente: Elaboración propia

Notas:

Rep: 1...3, cada una con 4 pseudo-réplicas

DP: Datos perdidos por germinación tardía

Gen R. Gen de resistencia a roya

6.1.2. Caracterización de aislamiento Tot- 7- S1, raza 5-47

Al igual que el aislamiento previamente descrito, el aislamiento Tot-6-S1 fue evaluado en el set de doce cultivares diferenciales. Este aislamiento proviene de Paraje Pacaman, Aldea Xequemeyá, Momostenango, Totonicapán; ubicado a 1961 msnm. Como resultado, se identifica como raza 5-47 (Cuadro 7). Este aislamiento cuenta con el mismo código de raza

que el Tot-7-S1, y por ende afecta la mayoría de genes Mesoamericanos. Así mismo, fue virulenta a *Ur-4* y *Ur-5* de origen Andino. También a los genes *Ur-7*, *Ur-3*, *Ur-5*, *Ur-3+* y *Ur-11*, de origen Mesoamericano. Por lo tanto, se puede deducir que la raza 5-47 se encuentra presente en distintas aldeas del municipio de Momostenango, Totonicapán, Guatemala, y que se adapta al rango de aproximadamente 200 msnm de diferencia entre los mismos.

Cuadro 7. Tipos de infección en cultivares diferenciales de roya al aislamiento Tot-7-S1, ICTA, Guatemala, 2019

No.	Diferencial	Gen R.	Tipo de infección												No. Binario	
			Rep 1				Rep 2				Rep 3					
1	Early Gallatin	Ur-4	3	4	3	3,4	4	5	4	4	3	3,4	3,4	4	s	1
	Redlands															
2	Pioneer		3	3	DP	3	4	3,4	3	3	3	3	3	3	r	-
3	Montcalm		4,5	5	4	4	4	3,4	4	4	4	4	4,5	4,5	s	4
4	PC 50	Ur-9	3	3	3	3	2	3	3	2	2	2	2	2,3	r	-
	Golden Gate															
5	Wax	Ur-6	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	DP	r	-
6	PI 260418		3	DP	3	DP	DP	2	2	2	3	2,3	2	2,3	r	-
7	GN 1140	Ur-7	5,6	5,6	5	DP	6>	6	6,5	5	5	5,6	5	DP	s	1
8	Aurora	Ur-3	5	4,5	5	5	5	5	5	5,6	6>	6	6	6	s	2
9	Mex 309	Ur-5	5,6	5,6	4,5	5,6	6,5	6,5	4,5	5	4,5	6	6	5,6	s	4
10	Mex 235	Ur-3+	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	4	3,4	4	s	8
11	CNC		1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	r	-
12	PI 181996	Ur-11	4	4	4	5	3,4	4,5	3	4	5	4,5	5	4,5	s	32
T	UI 114		55	5,6	5	4,5	5	4,5	4	4,5	6	5	5,6	5		
T	Texel		3,4	3,4	4,5	DP	4,5	4	5	DP	4,5	4	5	5,6		
Raza															5-47	

Fuente: Elaboración propia

Notas:

Rep: 1...3, cada una con 4 pseudo-réplicas

DP: Datos perdidos por germinación tardía

Gen R. Gen de resistencia a roya

6.1.3. Caracterización de aislamiento H- 12- S1, raza 0-39

Al igual que el aislamiento previamente descrito, el aislamiento H-12-S1 fue evaluado en el set de 12 cultivares diferenciales. Este aislamiento proviene de Jacaltenango, Huehuetenango; ubicado a 750 msnm. Éste se identifica como raza 0-39 (Cuadro 8). Este aislamiento afectó la mayoría de los genes Mesoamericanos, virulenta con los genes *Ur-7*, *Ur-3*, *Ur-5* y *Ur-11*. Los cultivares con genes andinos, demostraron resistencia.

Cuadro 8. Tipos de infección en cultivares diferenciales de roya al aislamiento H-12-S1, ICTA, Guatemala, 2019

No.	Cultivar diferencial	Gen R	Rep 1				Rep 2				Rep 3				Valor Binario	
1	Early Gallatin	Ur-4	1	1	3	3	1	4	1	4	1	1	1	1	r	-
2	Redlands Pioneer		1	1	1	1	3	3	3	3	1	3	3	3	r	-
3	Montcalm		1	1	1	1	3	3	3	3	1	3	2	2	r	-
4	PC 50	Ur-9	1	1	1	1	2	2	2	2	2	1	2	2	r	-
5	Golden Gate Wax	Ur-6	1	1	1	1	1	1	3	3	2	2	2	1	r	-
6	PI 260418		1	1	1	1	2	2	2	2		2	2	2	r	-
7	GN 1140	Ur-7	3,4	4	4	4	2,3	2	3	3	4,5	4	4,5	4	s	1
8	Aurora	Ur-3	4	4	1	3	3,4	3,4	3,4	5	4,5	4,5	5	s	2	
9	Mex 309	Ur-5	1	4	5	4	1	3	1	1	4	5	4	1	s	4
10	Mex 235	Ur-3+	3	3	3	1	2	2			3	2			r	-
11	CNC		2	3	3	3	2	2	2	2	3	3	3	3	r	-
12	PI 181996	Ur-11	5	5,6	5	4	3	3,4	3	3	3,4	4	4	5	s	32
													RAZA	0-39		

Fuente: Elaboración propia

Notas:

Rep: 1...3, cada una con 4 pseudo-réplicas

DP: Datos perdidos por germinación tardía

Gen R. Gen de resistencia a roya

6.1.4. Caracterización de asilamiento CH- 2- S1, raza 7-47

El aislamiento CH-2-S1 proviene de San Juan Comalapa, Chimaltenango; ubicado a 2150 msnm. Por lo que se identifica como raza 7-47 (Cuadro 9). Este aislamiento afectó genes mesoamericanos y andinos. Dentro de los cultivares de origen andino afectados están Early Gallatin (*Ur-4*), Redlands Pioneer (*Ur-13*) y Montcalm (*Ur- unknown*). La mayoría de los cultivares Mesoamericanos, fueron afectados siendo susceptibles Gn1140 (*Ur-7*), Aurora (*Ur-3*), México 309 (*Ur-5*), México 235 (*Ur-3+*) y PI 181996 (*Ur-11*).

Cuadro 9. Tipos de reacción en cultivares diferenciales de roya al aislamiento CH-1-S1, ICTA, Guatemala, 2019

No.	Diferencial	Gen R.	Tipo de infección												No. Binario	
			Rep 1			Rep 2			Rep 3							
1	Early Gallatin	Ur-4	4	4	4	4	4	5	4	4	6	6	6	6	s	1
2	Redlands Pioneer		4	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	s	2
3	Montcalm		5	4	5	4	4	5	4	5	4	4	4	5	s	4
4	PC 50	Ur-9	3	3	3	3	2	1	2	2,3	1	3	1	1	r	-
5	Golden Gate Wax	Ur-6	3	3,4	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3	r	-
6	PI 260418		1	1	1	1	3	2,3	1	1	2	3	3	2	r	-
7	GN 1140	Ur-7	4	4	6	6	4	4	6	3	5	5	5	6	s	1
8	Aurora	Ur-3	4	4	4	4	4	5,6	6	4	6	5	5	5	s	2
9	Mex 309	Ur-5	4	4	5	5,6	6	6	5	5	6	5	6	6	s	4
10	Mex 235	Ur-3+	4	4	4	4,5	4	4	5	4	5	5	4,5	5	s	8
11	CNC		3	3	3	3	3	2,3	3,4	3	3	3	3	3	r	-
12	PI 181996	Ur-11	4	4	>6	>6	>6	4	4	4	>6	>6	>6	>6	s	32
T	UI 114		>6	>6	4,5	>6	6	>6	5	5	>6	>6	>6	>6		
T	Texel		5	>6	4	>6	>6	>6	>6	>6	6	6	6	6		

Raza 7-47

Fuente: Elaboración propia

Notas:

Rep: 1...3, cada una con 4 pseudo-réplicas
 DP: Datos perdidos por germinación tardía
 Gen R. Gen de resistencia a roya

6.1.5. Caracterización de asilamiento Q-1-S1, raza 0-47

La muestra Q-1-S1 se identificó como raza 0-47 (Cuadro 10), este aislamiento proviene de Labor Ovalle, Olintepeque, Quetzaltenango ubicado a 2380 msnm.

Este aislamiento afectó únicamente cultivares con genes mesoamericanos, Gn1140 (*Ur-7*), Aurora (*Ur-3*), México 309 (*Ur-5*), México 235 (*Ur-3+*) y PI 181996 (*Ur-11*).

Cuadro 10. Tipos de infección en cultivares diferenciales de roya al aislamiento Q-1-S1, ICTA, Guatemala, 2019.

No	Diferencial	Gen R	Tipo de infección												No. Binario	
			Rep 1				Rep 2				Rep 3					
1	Early Gallatin	Ur-4	2	2	2	3	3	3, 2	2	2	2	1	1	2	r	-
2	Redlands Pioneer		1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	3	r	-
3	Montcalm		3	2	2	3	2	2	2	1	1	2	2	2	r	-
4	PC 50	Ur-9	3	3	3	1	2	2	2	2	3	2	1	2	r	-
5	Golden Gate Wax	Ur-6	3	3	3	1	2	2	3	2	2	2	1	3	r	-
6	PI 260418		1	3	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1	r	-
7	GN 1140	Ur-7	5	5	4	5	4, 5	4	4	5	5	4	4	4	s	1
8	Aurora	Ur-3	4	5,6	4,5	4	4	3, 4	4	3, 4	4	3, 4	4	6	s	2
9	Mex 309	Ur-5	4	4,5	5,4	4	5	4	4	4	4	4	4, 3	4	s	4
10	Mex 235	Ur-3+	4	5	4	5	4	4	6	4, 5	5	4, 5	5	6	s	8
11	CNC		2	1	3	3	2	2	2	1	3	3	3	3	r	-

12	PI 181996	Ur-11	5,6	6	2	5	6	5	5, 4	4	5	5	4	4	s	32
T	UI 114		6	5	6	6	5, 6	5	5	6	5	5	6	5		
T	Texel		5,6	5	5	1	5, 6	5	5, 6	5	5	5	5	5		
															Raza	0-47

Fuente: Elaboración propia

Notas:

Rep: 1...3, cada una con 4 pseudo-réplicas

DP: Datos perdidos por germinación tardía

Gen R. Gen de resistencia a roya

6.2. Antracnosis del frijol *Colletotrichum lindemuthianum*

6.2.1. Caracterización de aislamiento H-2-S-1, Raza 9

En relación a las características de las razas de antracnosis presentes en zonas productoras de frijol muestreadas, se identificó una nueva raza, la muestra pertenece al Cantón Las Regadillas Chiantla, Huehuetenango. Este aislamiento se caracterizó por su desarrollo rápido con relación al resto de aislamientos (cinco días). Para su caracterización, se cumplió con la inoculación de los cultivares diferenciales, se siguió el protocolo de Pastor-Corrales (1991), para la asignación del número de raza. La suma de los valores binarios de los cultivares susceptibles del aislamiento H-2-S-1 dio como resultado la raza No. 9 (Cuadro 11).

Esta raza no ha sido previamente reportada en Guatemala y afecta los cultivares diferenciales Michelite y Cornell 49-242, los cuales poseen los genes *Co-11* y *Co-2*, respectivamente, ambos de origen Mesoamericano. Debido a que el número binario asignado a ambas variedades es bajo, y a su vez el número de la raza también lo es, se puede decir que la raza 9 es de baja virulencia, pero con rápida esporulación (según lo observado en laboratorio). Dicha raza fue caracterizada por primera vez por Santana et. al., en el año 2,002 de un aislamiento proveniente de la zona Oriente de Antioquia.



Figura 3. Cultivar diferencial, inoculado con aislamiento H-2-S1



Figura 4. Reaccion susceptible de líneas Cornell y Michelite

Cómo testigos se utilizaron líneas y variedades de ICTA comúnmente sembradas en zonas del Altiplano. Sin embargo, éstos mostraron susceptibilidad. (Cuadro 11).

Cuadro 11. Tipos de infección en cultivares diferenciales de Antracnosis (escala 1-9) al aislamiento H-2-S-1, ICTA, Guatemala, 2018.

No.	Cultivar diferencia l	Gen resistencia	de Valor binari o	Rep. 1				Rep. 2				Rep 3.				Rep. 4				Reacción	
				P- 1	P- 2	P- 3	P- 4	P-1	P- 2	P- 3	P- 4	P- 1	P- 2	P- 3	P- 4	P- 1	P- 2	P- 3	P- 4		
1	Michelite	Co-11	1	8	8	8	6	9	9	8	9	9	9	9	9	7	7	7	9	Susceptibl e	
2	MDRK	Co-1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	2	2	1	1	Resistente	
3	Perry Marrow	Co-13	4	1	2	2	1	1	1	2	1	2	2	1	1	2	2	2	3	Resistente	
4	Cornell	Co-2	8	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	Susceptibl e	
5	Widusa	Co-15	16	1	3	3	2	2	1	1	1	3	2	3	3	1	2	2	2	Resistente	
6	Kaboon	Co-12	32	1	1	2	DP	DP*	1	1	1	1	2	2	1	2	2	2	2	Resistente	
7	Mexico 223	Co-3	64	3	DP	2	DP	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	3	3	Resistente	
8	PI 207262	Co-33, Co-43	128	3	3	3	1	1	1	2	3	1	2	1	2	3	2	2	1	Resistente	
9	TO	Co-4	256	3	3	3	3	1	1	2	3	2	2	1	1	1	1	1	1	Resistente	
10	TU	Co-5	512	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	Resistente	
11	AB136	Co-6, co-8	1024	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	Resistente	
12	G2333	Co-42, Co-35, Co-52	2048	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	2	1	2	2	1	Resistente

T	ICTA Texel	<i>Desconocido</i>	N/A	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	8	7	7	7	Susceptible
T	ICTA Hunapú	<i>Desconocido</i>	N/A	9	9	5	5	8	8	8	4	9	4	5	8	7	7	7	7	7	Susceptible
T	ICTA Superchiva	<i>Desconocido</i>	N/A	9	5	9	9	9	9	9	9	9	9	9	8	9	9	9	9	9	Susceptible
T	ICTA Altense	<i>Desconocido</i>	N/A	7	7	7	7	1	2	1	1	1	1	8	1	3	1	7	1	1	Susceptible
			Raza	9																	

Fuente: Elaboración propia

Notas:

P1.4: Pseudo-réplicas

DP: Datos perdidos por germinación tardía

Cómo puede observarse en los Cornell y Michelite, la presión del patógeno y condiciones ambientales en el experimento fueron correctas ya que éstos alcanzaron valores altos en el tipo de infección, donde 8 y 9 son los máximos valores de severidad.

6.2.2. Caracterización de aislamiento H-3-S1, Raza 9

Se encontró la raza 9, proveniente de El Pino, Chiantla, Huehuetenango. En la etapa de aislamiento su dinámica de propagación fue diferente al aislamiento H-2-S1 ya que a pesar de ser la misma raza, tomó más tiempo en esporular lo que retardó su inoculación y posterior caracterización.

Según Pastor-Corrales (1991), el aislamiento H-3-S-1 dio como resultado la raza 9. (Cuadro 12).

Como se mencionó anteriormente esta raza no ha sido reportada en Guatemala y afecta los cultivares diferenciales Michelite y Cornell 49-242, los cuales poseen los genes *Co-11* y *Co-2*, respectivamente, ambos de origen Mesoamericano. Debido a que el número binario asignado a ambas variedades es bajo, y a su vez el número de la raza también lo es, se puede decir que la raza 9 es de baja virulencia.

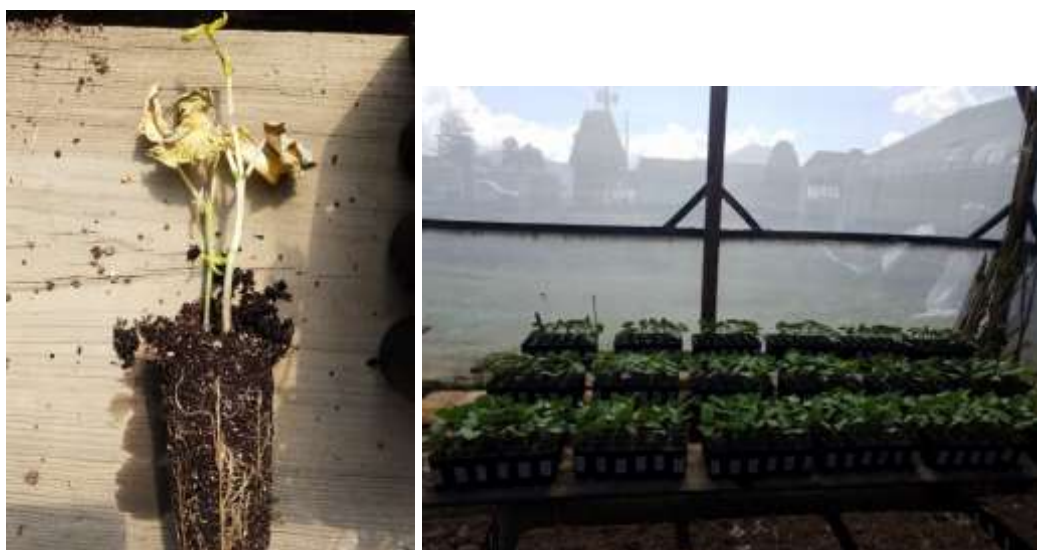


Figura 5. Set de diferenciales inoculadas con H-3-S1. ICTA, Guatemala, 2018

Cuadro 12. Tipos de infección en cultivares diferenciales de Antracnosis (escala 1-9) al aislamiento H-3-S1, ICTA, Guatemala, 2018.

No.	Cultivar diferencial	Gen de resistencia	de Valor binario	Rep. 1				Rep. 2				Rep.3				Rep. 4				Reacción
				P-1	P-2	P-3	P-4	P-1	P-2	P-3	P-4	P-1	P-2	P-3	P-4	P-1	P-2	P-3	P-4	
1	Michelite	<i>Co-11</i>	1	8	8	8	8	5	7	5	4	DP	6	7	6	8	8	8	8	Susceptible
2	MDRK	<i>Co-1</i>	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	Resistente
3	Perry Marrow	<i>Co-13</i>	4	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	Resistente
4	Cornell	<i>Co-2</i>	8	9	9	9	9	9	9	9	8	9	9	9	9	9	9	9	9	Susceptible
5	Widusa	<i>Co-15</i>	16	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	Resistente
6	Kaboon	<i>Co-12</i>	32	1	DP	DP	DP	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	Resistente
7	Mexico 223	<i>Co-3</i>	64	1	2	2	3	3	3	2	1	2	2	3	2	DP	1	DP	1	Resistente
8	PI 207262	<i>Co-33, Co-43</i>	128	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	Resistente
9	TO	<i>Co-4</i>	256	1	2	1	2	1	1	1	1	2	1	1	2	1	2	1	2	Resistente
10	TU	<i>Co-5</i>	512	1	1	1	1	DP	DP	1	1	1	1	1	1	1	DP	1	1	Resistente
11	AB136	<i>Co-6, co-8</i>	1024	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	Resistente
12	G2333	<i>Co-42, Co-35, Co-52</i>	2048	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	Resistente
T	ICTA Texel	<i>Desconocido</i>	N/A	7	6	8	1	8	8	3	8	9	9	9	9	8	9	9	7	Susceptible

T	ICTA Hunapú	<i>Desconocido</i>	N/A	1	1	1	1	4	1	3	1	1	3	9	3	3	5	2	2	Susceptible
T	ICTA Superchiva	<i>Desconocido</i>	N/A	2	3	8	4	3	9	9	8	8	8	9	7	9	9	4	8	Susceptible
T	ICTA Altense	<i>Desconocido</i>	N/A	1	3	7	3	2	1	1	1	1	8	3	DP	7	7	5	1	Susceptible
			Raza	9																

Fuente: Elaboración propia

Notas:

P1..4: Pseudo-réplicas

DP: Datos perdidos por germinación tardía

Cómo puede observarse en los Cornell y Michelite, la presión del patógeno y condiciones ambientales en el experimento fueron correctas ya que éstos alcanzaron valores altos en el tipo de infección, donde 8 y 9 son los máximos valores de severidad.

6.2.3. Caracterización de aislamiento CH1-S1:

En relación a las características de las razas de antracnosis presentes en zonas productoras de frijol en Chimaltenango. La suma de los valores binarios dio como resultado la raza No. 584. Como testigos se utilizaron líneas y variedades de ICTA comúnmente sembradas en zonas del Altiplano. Sin embargo, éstos mostraron reacción susceptible y con valores altos (Cuadro 13).

Éste aislamiento (CH1-S1) afectó los cultivares Cornell 49-242, México 22, y TU, los cuales poseen los genes *Co-2*, *Co-3*, y *Co-5* de origen Mesoamericano, resultando en **la raza 584**. La raza 585 fue reportada en ésta zona por Maldonado et al. (2018), debido al número binario designado, ambos aislamientos son muy cercanos o pueden ser el mismo, a diferencia que el aislamiento caracterizado en este estudio no afectó el cultivar Michelite (*Co-11*). La raza 585 (Maldonado et al., 2018) fue encontrada en Quetzaltenango, localidades de Chimaltenango y Huehuetenango, por lo que fue catalogada como una de las más comunes.



Figura 6. Síntomas en diferenciales inoculadas con CH-1- S1. ICTA, Guatemala, 2019

Cuadro 13. Tipos de infección en cultivares diferenciales de Antracnosis (escala 1-9) al aislamiento CH-1-S1, ICTA, Guatemala, 2019

No.	Cultivar diferencial	Gen de resistencia	de Valor binario	Rep. 1				Rep. 2				Rep. 3				Reo. 4				Reacción
				P-1	P-2	P-3	P-4	P-1	P-2	P-3	P-4	P-1	P-2	P-3	P-4	P-1	P-2	P-3	P-4	
1	Michelite	<i>Co-11</i>	1	3	3	4	3	1	1	1	1	3	3	4	3	1	1	1	1	Resistente
2	MDRK	<i>Co-1</i>	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	Resistente
3	Perry Marrow	<i>Co-13</i>	4	1	1	1	1	DP*	DP	DP	DP	DP	DP	1	1	1	2	1	3	Resistente
4	Cornell	<i>Co-2</i>	8	8	8	9	8	8	9	9	8	7	7	8	7	8	8	8	8	Susceptible
5	Widusa	<i>Co-15</i>	16	2	2	2	2	1	1	1	DP	2	3	2	DP	3	3	3	3	Resistente
6	Kaboon	<i>Co-12</i>	32	1	1	2	DP	1	DP	DP	2	1	1	1	1	1	1	2	1	Resistente
7	Mexico 223	<i>Co-3</i>	64	8	DP	6	4	3	DP	DP	3	7	DP	DP	DP	DP	6	4	4	Susceptible
8	PI 207262	<i>Co-33, Co-43</i>	128	1	1	1	1	3	3	3	3	1	1	1	1	DP	2	3	2	Resistente
9	TO	<i>Co-4</i>	256	DP	DP	2	3	1	2	2	1	2	DP	1	2	1	1	2	1	Resistente
10	TU	<i>Co-5</i>	512	8	9	DP	9	8	9	8	DP	9	DP	DP	9	8	8	9	9	Susceptible
11	AB136	<i>Co-6, co-8</i>	1024	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	3	3	1	Resistente
12	G2333	<i>Co-42, Co-35, Co-52</i>	2048	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	Resistente
T	ICTA Texel	<i>Desconocido</i>	N/A	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	9	8	DP	8	8	9	Susceptible

T	ICTA Superchiva	<i>Desconocido</i>	N/A	4	9	8	9	8	8	8	9	9	9	5	9	7	9	5	9	Susceptible
T	ICTA Altense	<i>Desconocido</i>	N/A	9	9	DP	DP	4	6	5	DP	8	8	8	7	9	8	8	9	Susceptible
Raza			584																	

Fuente: Elaboración propia

Notas:

P1...4: Pseudo-réplicas

DP: Datos perdidos por germinación tardía. Por lo que se descartan sus datos ya que no recibieron inóculo en la misma fase

T: Los testigos susceptibles mostraron altos valores de severidad de daño por el patógeno, indicando correcta presión del patógeno y condiciones ambientales adecuadas.

Cómo puede observarse en los *Cornell México 223* y *Tu*, la presión del patógeno y condiciones ambientales en el experimento fueron correctas ya que éstos alcanzaron valores altos en el tipo de infección, donde 8 y 9 son los máximos valores de severidad

6.2.4. Caracterización de aislamiento Q-5-S3:

El aislamiento Q5-S3, proveniente de Quetzaltenango, fue uno de los aislamientos más complicados en esporular o invadir los platos en medio de cultivo. Esto puede deberse a que la muestra contenía más de un patógeno, o características propias de su virulencia.

Con este aislamiento fue necesaria la reconfirmación de datos dado a que en la primera inoculación, por falta de condiciones adecuadas se tuvieron muchos datos perdidos por germinación tardía.

Posterior a la reconfirmación, la suma de valores binarios de los cultivares susceptibles dio como resultado la raza No. 584 (Cuadro 14). Esta raza afectó a los cultivares Cornell, México 223 y Tu, siendo virulenta a los genes *Co-2*, *Co-3* y *Co-5* respectivamente. Así mismo como se mencionó anteriormente la raza 585 fue reportada en ésta zona por Maldonado et al. (2018), debido al número binario designado ambos aislamientos son muy cercanos o pueden ser el mismo, a diferencia que el aislamiento caracterizado en este estudio tampoco afectó el cultivar Michelite (Co-11). La raza 585 (Maldonado et al., 2018) fue encontrada en Quetzaltenango, localidades de Chimaltenango y Huehuetenango, por lo que fue catalogada como una de las más comunes.



Figura 7. Incremento de esporas Q-5-S3

Fuente: Fotografías tomadas en Laboratorio de Protección Vegetal, ICTA, CIALO, 2019.

Cuadro 14. Tipos de infección en cultivares diferenciales de Antracnosis (escala 1-9) al aislamiento Q-5-S3, 2019. ICTA, Guatemala, 2019

No.	Cultivar diferencial	Gen de resistencia	de Valor binario	Rep. 1				Rep. 2				Rep. 3				Rep. 4				Reacción
				P-1	P-2	P-3	P-4	P-1	P-2	P-3	P-4	P-1	P-2	P-3	P-4	P-1	P-2	P-3	P-4	
1	Michelite	Co-11	1	3	4	3	3	5	3	3	3	1	3	3	3	3	3	2	3	Resistente
2	MDRK	Co-1	2	1	1	1	1	1	1	1	D P	1	1	1	1	1	1	D P	1	Resistente
3	Perry Marrow	Co-13	4	1	1	1	1	1	1	1	1	D P	1	1	1	1	1	1	1	Resistente
4	Cornell	Co-2	8	3	4	9	3	5	4	7	4	9	6	7	9	4	D P	4	4	Susceptible
5	Widusa	Co-15	16	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	Resistente
6	Kaboon	Co-12	32	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	D P	1	1	1	Resistente
7	Mexico 223	Co-3	64	3	4	4	D P	3	4	3	4	5	4	4	D P	4	3	4	4	Susceptible
8	PI 207262	Co-33, Co-43	128	1	1	1	1	1	D P	1	D P	1	1	1	1	1	2	1	1	Resistente
9	TO	Co-4	256	1	3	1	1	3	1	1	1	1	1	1	3	1	1	1	1	Resistente
10	TU	Co-5	512	8	8	5	9	9	9	7	8	9	9	9	9	9	8	9	9	Susceptible
11	AB136	Co-6, co-8	1024	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	Resistente

12	G2333	Co-42, Co-35, Co-52	2048	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	Resistente		
T	ICTA Texel	Desconocido	N/A	3	3	1	1	7	4	6	DP	1	1	1	1	2	3	2	1	Susceptible	
T	ICTA Hunapú	Desconocido	N/A	6	6	5	5	7	6	4	5	4	4	1	4	4	5	6	1	Susceptible	
T	ICTA Superchiva	Desconocido	N/A	8	8	4	4	4	5	6	DP	4	4	3	4	7	7	5	5	Susceptible	
T	ICTA Altense	Desconocido	N/A	7	8	D	P	8	6	7	7	6	4	4	7	6	7	4	4	5	Susceptible
			raza																		584

Fuente: Elaboración propia

Notas:

P1...4: Pseudo-réplicas

DP: Datos perdidos por germinación tardía. Por lo que se descartan sus datos ya que no recibieron inóculo en la misma fase

T: Los testigos susceptibles mostraron altos valores de severidad de daño por el patógeno, indicando correcta presión del patógeno y condiciones ambientales adecuadas.

Cómo puede observarse en los *Cornell México 223* y *Tu*, la presión del patógeno y condiciones ambientales en el experimento fueron correctas ya que éstos alcanzaron valores altos en el tipo de infección, donde 8 y 9 son los máximos valores de severidad.

6.3. Resumen de datos de caracterizaciones

6.3.1. Resumen de caracterizaciones de razas de *U. appendiculatus* (Fig. A.23 y A.25)

Cuadro 15. Razas caracterizadas en las diferentes muestras colectados. ICTA, Guatemala, 2019

Cultivar diferencial	Gen de resistencia de roya	No. binario	Tot-6-S1	Tot-7-S1	H-12-s1	CH-2-S1	Q-1-S1
Early Gallatin	Ur-4	1	4	4	2	5	2
Redlands Pioneer		2	3	3	2	4	2
Montcalm		4	5	4	2	4	2
PC 50	Ur-9	8	2	3	1	2	2
Golden Gate Wax	Ur-6	16	3	3	2	3	2
PI 260418		32	3	2	2	2	1
GN 1140	Ur-7	1	4	5	4	5	4
Aurora	Ur-3	2	4	5	4	5	4
Mex 309	Ur-5	4	5	6	3	5	4
Mex 235	Ur-3+	8	4	4	3	4	5
CNC		16	3	3	3	3	2
PI 181996	Ur-11	32	4	4	4	4	5
RAZA			5-47	5-47	0-39	7-47	0-47

Fuente: Elaboración propia

6.3.2. Resumen de caracterizaciones de *C. lindemuthianum* (Fig. A.24 y A.26)

Cuadro 16. Razas caracterizadas en las diferentes muestras colectados.

Cultivar diferencial	Gen de resistencia	Valor binario	H-2-S1	H-3-S2	CH-1-S1	Q-5-s3
Michelite	<i>Co-11</i>	1	9,8	8,7	1,3	3
MDRK	<i>Co-1</i>	2	1,2	1	1,2	1
Perry Marrow	<i>Co-13</i>	4	2,1	1,3	1,2	1
Cornell	<i>Co-2</i>	8	9	9,8	8,9	8,9
Widusa	<i>Co-15</i>	16	2,1	1,2	2,3	1
Kaboon	<i>Co-12</i>	32	1,2	1	1,2	1
Mexico 223	<i>Co-3</i>	64	3,2	2,3	4,6	4
PI 207262	<i>Co-33, Co-43</i>	128	1,3	1	1,3	1
TO	<i>Co-4</i>	256	1,3	1,2	2,1	1
TU	<i>Co-5</i>	512	1	1	9,8	9,8
AB136	<i>Co-6, co-8</i>	1024	1	1	1,3	1
G2333	<i>Co-42, Co-35, Co-52</i>	2048	1,2	1	1	1
Raza			9	9	584	584

Fuente: Elaboración propias

7. Conclusiones

Los aislamientos de roya, Tot-6-S1 y Tot-7-S1, provenientes de Xequemeyá, Momostenango, Totonicapán, se identificaron como la raza 5-47. Dicha raza no ha sido reportada en Guatemala.

Para antracnosis, el aislamiento H-2-S1, proveniente de Las Regadillas, Chiantla, Huehuetenango y el aislamiento H-3-S1, proveniente de El Pino, Chiantla, Huehuetenango, se identificaron como raza 9.

Se identificó la raza de antracnosis 584, con el aislamiento proveniente de Chimaltenango (CH-1-S1).

8. Recomendaciones

- En las localidades donde está presente la raza 0-39 de roya se recomiendan utilizar genes de resistencia mesoamericano *Ur-3+*, o andinos como *Ur-4*, *Ur-9* y *Ur-6*.
- En las localidades donde está presente la raza 7-47 de roya se recomienda utilizar genes de resistencia andinos como *Ur-9* y *Ur-6*. De igual manera donde se encuentra la raza 5-47.
- En las localidades donde está presente la raza 0-47 de roya, se recomienda utilizar genes de resistencia andinos como *Ur-4*, *Ur-9*, *Ur-6*.
- En las localidades donde está presente la raza 9 de antracnosis, se recomienda utilizar los genes de resistencia *Co-1*, *Co-1³*, *Co-1⁵*, *Co-1²*, *Co-3*, *Co-3³*, *Co-4³*, *Co-4*, *Co-5*, *Co-6*, *Co-8*, *Co-4²*, *Co-35* y *Co-5²*.
- Se recomienda utilizar la información generada para programas de mejoramiento como lo es el uso de los genes *Co-1¹*, *Co-1*, *Co-1³*, *Co-1⁵*, *Co-1²*, *Co-3³*, *Co-4³*, *Co-4*, *Co-6*, *Co-8*, *Co-4²*, *Co-3⁵*, *Co-5²* en las localidades donde la raza 584 de antracnosis está presente.
- Realizar nuevas evaluaciones con muestras de otras localidades para enriquecer la base de datos existente y posteriormente evaluar líneas resistentes.
- Realizar identificación de resistencia en líneas promisorias generadas por ICTA, con el uso de las razas identificadas como inóculo, para determinar su resistencia y posibles genes que confieran la misma.

9. Referencias bibliográficas

- Acevedo, M., J.R. Steadman, and J.C. Rosas. 2013. *Uromyces appendiculatus* in Honduras: Pathogen Diversity and Host Resistance Screening. *Plant Dis.* 97(5): 652–661.
- Agrios, G.N. 2004. Losses caused by plant diseases. *Plant Pathology*. Elsevier, Oxford, UK. p. 29-45.
- Allen, E.A., H.C. Hoch, J.R. Stavely, and J.R. Steadman. 1991. Uniformity among races of *Uromyces appendiculatus* in response to topographic signaling for appressorium formation. *Phytopathology* 81:883–887.
- Aust, H.J., A.B. Filho, and J.O.M. Menton. 1984. Resistance of three bean cultivars to *Uromyces phaseoli* expressed through sporulation of the fungus. *Phytopathol. Z.* 110:30–36.
- Azurdia, C. 2014. Cultivos Nativos de Guatemala y Bioseguridad del Uso de Organismos Vivos Modificados. Frijol (*Phaseolus* spp.). Consejo Nacional de Áreas Protegidas, Guatemala. Documento Técnico No.9-2014. 61 p.
- Ballantyne, B.J. 1978. The genetic bases of resistance to rust, caused by *Uromyces appendiculatus* in beans (*Phaseolus vulgaris*). PhD Thesis, Univ. Sydney, Australia.
- Beebe, S., J. Ramirez, A. Jarvis, I.M. Rao, G. Mosquera, J.M. Bueno, and M.W. Blair. 2011.

- Genetic Improvement of Common Beans and the Challenges of Climate Change. In *Crop Adaptation to Climate Change*. p. 356–369.
- Broughton, W.J., G. Hernandez, M. Blair, S. Beebe, P. Gepts, and J. Vanderleyden. 2003. Beans (*Phaseolus* spp.)-model food legumes. *Plant Soil* 252(1): 55–128.
- CGIAR Research Program. 2017. Common Bean – Grain Legumes. Available at <http://grainlegumes.cgiar.org/crops/common-bean/> (Accessed 21 Feb. 2017).
- de Souza, T., A. Alzate-Marin, F. Faleiro, and E. Barros. 2008. Pathosystem common bean-*Uromyces appendiculatus*: host resistance, pathogen specialization, and breeding for rust resistance. *Pest Technol.* 2(2): 56–69.
- De Young, D., B. Reyes, J.C. Villatoro, L.M. Montejó, J. Moscoso, J.M. Osorno and M. Maredia. 2015. The Role of Beans in the Milpa Production and Dietary Systems of Guatemalan Highlands: Results of a Farm Household Survey. Poster session presented at: Pan-African Grain Legume & World Cowpea Conference. Livingstone, Zambia.
- Duplessis, S., Cuomo, C.A., Lin, Y.C., Aerts, A., Tisserant, E., Veneault-Fourrey, C., Joly, D.L., Hacquard, S., Amselem, J., Cantarel, B.L., Chiu, R., Coutinho, P.M., Feau, N., Field, M., Frey, P., Gelhaye, E., Goldberg, J., Grabherr, M.G., Kodira, C.D., Kohler, A., Kues, U., Lindquist, E.A., Lucas, S.M., Mago, R., Mauceli, E., Morin, E., Murat, C., Pangilinan, J.L., Park, R., Pearson, M., Quesneville, H., Rouhier, N., Sakthikumar, S., Salamov, A.A., Schmutz, J., Selles, B., Shapiro, H., Tanguay, P., Tuskan, G.A., Henrissat, B., Van de Peer, Y., Rouze, P., Ellis, J.G., Dodds, P.N., Schein, J.E., Zhong, S., Hamelin, R.C., Grigoriev, I.V., Szabo, L.J. and Martin, F. (2011) Obligate biotrophy features unraveled by the genomic analysis of rust fungi. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108, 9166–9171.
- Flor, H.H. Current status of the gene-for-gene concept. *Ann. Rev. Phytopathology* 9:275-296. 1971.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2016. Guatemala Indicators. Available at <http://www.fao.org/faostat/en/#country/89> (Accessed 22 Feb. 2017).
- Fromme, F.D., and S.A. Wingard. 1921. Varietal susceptibility of beans to rust. *J. Agr. Res.* 21:385–404, illus
- Geil, P.B., and J.W. Anderson. 1994. Nutrition and health implications of dry beans: a review. *J. Am. Coll. Nutr.* 13(6): 549–558.
- Gepts, P. 2004. Crop domestication as a long-term Selection Experiment. *Plant Breed.* 24(2): 1–44.
- Groth, J. V., and B. D. Mogen, 1978 Completing the life cycle of *Uromyces phaseoli* var. *typica* on bean plants. *Phytopathology* 68: 1674–1677.
- Habgood, R.M. 1970. Designation of physiological races of plant pathogens. *Nature* 227:1268–1269.

- Harter, L.L., C.F. Andrus, and W.J. Zaumeyer. 1935. Studies on bean rust caused by *Uromyces phaseoli typica*. *J. Agr. Res.* 50:737–759.
- Harter, L.L., and W.J. Zaumeyer. 1941. Differentiation of physiologic races of *Uromyces phaseoli typica* on bean. *J. Agr. Res.* 62:717–731
- Hurtado-Gonzales, O. P., Valentini, G., Gilio, T., Martins, A. M., Song, Q., & Pastor-Corrales, M. 2017. Fine mapping of ur-3 , a historically important rust resistance locus in common bean. *G3. (Bethesda, Md.)* 7(2): 557-569.
- Jules, J. (Ed.). 2010. *Horticultural Reviews (Vol. 37)*. doi:10.1002/9780470543672
- Kelly, JD; Afanador, L; Cameron, LS. 1994. New races of *Colletotrichum lindemuthianum* in Michigan and implication in dry bean resistance breeding. *Plant Dis.* 78: 892-894.
- Last, F.T., and R.D. Schein. 1973. Histology of pustule formation after inoculating leaves of *Phaseolus* with *Uromyces appendiculatus*. *Acta Bot. Neerl.* 22:23–31.
- León, I.2009. *Notas La antracnosis y la mancha angular del frijol común (Phaseolus vulgaris L.)*. Temas de Ciencia Y Tecnología. La Habana, Cuba.
- Liebenberg, M.M. 2003. Breeding for resistance to rust of dry bean (*Phaseolus vulgaris*) in South Africa. PhD Thesis. Univ. Free State, Bloemfontein, South Africa.
- Liebenberg, M.M., and Z.A. Pretorius. 2010. Common Bean Rust: Pathology and Control. *Horticultural rev.* 37 (7): 1-99
- Linde, D.C., J.V. Groth, and A.P. Roelfs. 1990. Comparison of isozyme and virulence diversity patterns in the bean rust fungus *Uromyces appendiculatus*. *Phytopathology* 80:141–147.
- Lopes, D.B., y R.D. Berger. 2001. The effects of rust and anthracnose on the photosynthetic competence of diseased bean leaves. *Phytopathology* 91:212–220.
- Mahuku, G. S., C.E. Jara. C. Cajiao, and S. Beebe. 2002. Sources of resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in the secondary gene pool of *Phaseolus vulgaris* and in crosses of primary and secondary gene pools. *Plant Disease.* 86(12): 1383-1387.
- Mahuku, G.S., and J.J. Riascos. 2004. Virulence and molecular diversity within *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Andean and Mesoamerican bean varieties and regions. *Eur. J. Plant Path.* 110:253-263.
- Maldonado, C. R. 2017. Identification of New Sources of Resistance to Anthracnose in Climbing Bean Germplasm from Guatemala . Master Thesis, North Dakota State University. p.85
- Markell, S., L. Olson, and M. Acevedo. 2012. Dry Edible Bean Rust. Available at <https://www.ag.ndsu.edu/pubs/plantsci/pests/pp1601.pdf> (Accessed 24 Febr. 2017).
- McMillan, M. S., H. F. Schwartz, and K. L. Otto, 2003 Sexual stage development of *Uromyces appendiculatus* and its potential use for disease resistance screening of *Phaseolus*

- vulgaris. *Plant Dis.* 87(9): 1133–1138
- Mendgen, K. 1978. Der Infektionsverlauf von *Uromyces phaseoli* bei anfälligen undresistenten Bohnensorten [the development of the infection of *Uromyces phaseoli* in susceptible and resistant bean types]. *Phytopathol. Z.* 93:295–313.
- Mersha, Z., and B. Hau. 2008. Effects of bean rust (*Uromyces appendiculatus*) epidemics on host dynamics of common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Plant*
- Mmbaga, M.T., J.R. Steadman, and K.M. Eskridge. 1996. Virulence patterns of *Uromyces appendiculatus* from different geological areas and implications for finding durable resistance to rust of common bean. *J. Phytopathol.* 144:533–541.
- Mohammed A, Ayalew A, Dechassa N. 2013. Effect of integrated management of bean anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum* Sacc. and Magn.) through soil solarization and fungicide applications on epidemics of the disease and seed health in Hararghe Highlands, Ethiopia. *J. Plant Pathol. Microb.* 4:182.
- Montejo L.M., J. Steadman, J.C. Villatoro, J. Moscoso, K. Agreda, P. McClean, and J.M. Osorno. 2017. Rust Resistance in the Guatemalan Climbing Bean Germplasm Collection. North Dakota State University. Master Thesis. 75 p.
- Nedumaran, S., P. Abinaya, P. Jyosthnaa, B. Shraavya, P. Rao, and C. Bantilan. 2015. Grain Legumes Production, Consumption and Trade Trends in Developing Countries. ICRISAT Res. Program, Mark. Institutions Policies Work. Pap. Ser. 502(60): 4–7.
- Osorno, J.M., and P. McClean. 2013. Genetic Improvement of Middle-American Climbing Beans in Guatemala (SO1.A1). Feed the Future, Legume Innovation Lab. Michigan State University, Michigan. Available at http://legumelab.msu.edu/uploads/files/SO1.A1_NDSU.pdf (Accessed 12 Apr. 2016).
- Padder BA, Sharma PN, Awale HE, Kelly JD 2017 *Colletotrichum lindemuthianum*, the causal agent of bean anthracnose. *J Plant Pathol* 99:317–330
- Pastor-Corrales, M.A. 1991. Estandarización de variedades diferenciales y de designación de razas de *Colletotrichum lindemuthianum*. (Standardizing differential varieties and races designation of *Colletotrichum lindemuthianum*) *Phytopathol.* 81:694.
- Pastor-Corrales, M. A.; TU, J.C. 1989. Anthracnose. In: Schwartz, H.F. and M.A. Pastor eds. 2nd. *Bean Production Problems in the Tropics*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. pp.77-104
- Perfect SE, Hughes HB, O'Connell RJ and Green JR. 1999. *Colletotrichum*: A model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. *Fungal Genetics and Biology.* 27:186-198. <http://dx.doi.org/10.1006/fgbi.1999.1143>
- Plantwise Knowledge Bank. Anthracnose of beans (*Colletotrichum lindemuthianum*). Disponible en: <https://www.plantwise.org/KnowledgeBank/Datasheet.aspx?dsid=14918>

(Verificado el 12 Nov. 2017)

- Ribeiro, Jennifer & Serra, Ilka & Araújo, Marcela. 2016. Uso de produtos naturais no controle de antracnose causado por *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. *Summa Phytopathologica*. 42. 160-164. 10.1590/0100-5405/2023.
- Rosas, J. C. y J. Venegas. 2007.. Generalidades, aislamiento, conservacion, inoculacion y evaluacion de *Colletotrichum lindemuthianum*. Programa de investigaciones de Frijol, Zamorano, Honduras.
- Schwartz, H.F., M.S. McMillan, and M.R. Vaughn. 1990. Aecial and pycnial stages of bean rust in Colorado. *Plant Dis*. 74:80.
- Schoonhoven, A.; PASTOR, M. 1987. Sistema estándar para la evaluación de germoplasma de frijol. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. 56p.
- Stavely, J. R. 1984. Pathogenic specialization in *Uromyces phaseoli* in the United States and rust resistance in beans. *Plant Disease*. 68:95-99.
- Stavely, J.R., and M.A. Pastor-Corrales. 1989. Rust. pp. 159–194. In: H.F. Schwartz, and M.A. Pastor-Corrales (eds.), *Bean production problems in the tropics*. CIAT, Cali, Colombia.
- Stavely, J.R., J.R. Steadman, and R.T. McMillan, Jr. 1989b. New pathogenic variability in *Uromyces appendiculatus* in North America. *Plant Dis*. 73:428–432.
- Stavely, J.R., and J.R. Steadman. 1992. An overview of the rust problem and potential for control. *Annu. Rep. Bean Improv. Coop*. 35:7–8.
- Steadman, J.R. 2015. How to collect rust leaf samples Standard Operating Protocol. *Epidemiology and Plant Disease Resistance Laboratory*. Department of Plant Pathology, University of Lincoln, Nebraska. p. 1.
- Steadman, J.R., M.A. Pastor-Corrales, and J.S. Beever. 2002. An Overview of the 3rd Bean Rust and 2nd Bean Common Bacterial Blight International Workshops, March 4-8, 2002 Pietermaritzburg, South Africa. *Bean Improv. Coop. Annu. Report*. 45: 120–122.
- Toome, M., and C. Aime. 2013. *Pucciniomycetes*. Available at <http://tolweb.org/Pucciniomycetes/51246> (Accessed 5 May 2017).
- Von Alten, H. 1983. The effect of temperature, light and leaf age on the frequency of appressoria formation and infection with *Uromyces phaseoli* (Pers.) Wint. *Phytopathol. Z*. 107:327–335.
- Waters, C.W. 1928. The control of teliospore and urediniospore formation by experimental methods. *Phytopathology* 18:157–213.
- Wingard, S.A. 1935. Host-parasite relationship in bean rust. *Phytopathology* 25:39. (Abstr.)
- World Bank. 2016. Guatemala Overview. Available at <http://www.worldbank.org/en/country/guatemala/overview> (Accessed 22 Feb. 2017).

- Wortmann, C.S., and D.J. Allen. 1994. African bean production environments: their definition, characteristics and constraints. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Network on Bean Research in Africa, Dar es Salaam, TZ. 11:47.
- Wynn, W.K. 1976. Appressorium formation over stomates by the bean rust fungus: Response to a surface contact stimulus. *Phytopathology* 66:136–146.
- Yarwood, C.E. 1961. Uredospore production by *Uromyces phaseoli*. *Phytopathology* 51:22–27.
- Zaumeyer, W.J., and H. Thomas. 1957. A monographic study of bean diseases and methods for their control. Tech, Bul.868. USDA.

ANEXOS

Anexo 1. Procedimiento e indicaciones de preparación de medios utilizados.

PDA (fase de purificación de *C. lindemuthianum*)

El medio se preparó a razón de

1. 39 g de PDA
2. 1000 ml de Agua destilada

Para inhibir el crecimiento de bacterias se realizaron aislamientos en PDA acidificado y en PDA con tetraciclina (ya que es un antibiótico de alto espectro) a razón de 0.50 g/ litro de medio. Sin embargo, la contaminación persistía en la mayoría de aislamientos.

Agar-Agua (fase de purificación de *C. lindemuthianum*)

Se procedió a preparar el medio a razón de

1. 15 g de Agar bacteriológico
2. 1000 ml de agua

Para inhibir el crecimiento de bacterias se utilizó agar-agua + tetraciclina (0.50g/ litro de medio). Dado a que no contiene nutrientes este medio de cultivo el crecimiento fue más limpio pero lento.

Mathurs (fase de incremento de *C. lindemuthianum*)

Se procedió a preparar el medio a razón de

1. 11.2 g de dextrosa
2. 2.5 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
3. 2.7 g de KH_2PO_4
4. 1 g de peptona
5. 0.8 de extracto de levadura
6. 15 g de agar
7. 1 litro de agua destilada

Para inhibir el crecimiento de bacterias se utilizó Mathurs + tetraciclina (0.50g/ litro de medio) utilizandolo cuando ya se tuviera el patógeno libre de contaminantes ya que este medio se utiliza para incrementar la esporulación de *C. Lindemuthianum*.

Anexo 2. Proceso de desinfección.

Desinfección 1: Se necesita por muestra:

1. 100 ml de agua destilada estéril
2. 50 ml de cloro al 5%
3. 3 cajas petri estériles
4. Pinzas y bisturí estériles
5. Papel absorbente estéril

Procedimiento:

1. Se colocó dentro de la cámara de flujo laminar todos los insumos a necesitar. Se prepararon 3 cajas petri con agua- cloro – agua.
2. Se colocaron los explantes en la caja petri con agua por 3 minutos agitándolos constantemente con la pinza. Posterior a ello se colocaron en la caja petri con cloro por 5 minutos. Por último se colocaron en la caja petri con agua por 3 minutos más.
3. Luego se colocaron los explantes a secar por 2 horas en la cámara de flujo sobre el papel absorbente previamente esterilizado.

Desinfección 2: Se necesita por muestra:

1. 100 ml de agua destilada estéril
2. 30 ml de cloro al 5%
3. 4 tubos falcon estériles
4. Beacker de 100 ml estéril
5. Pinzas y bisturí estériles
6. Papel absorbente estéril

Procedimiento

1. Se colocó dentro de la cámara de flujo laminar todos los insumos a necesitar. Se distribuyeron los explantes en los 4 tubos falcon y se les colocó 10ml de agua destilada estéril. Se llevaron a la centrífuga por 1 minuto. Luego se decantó la solución y se agregó el cloro al 5% y se centrifugó por 1 minuto, se decantó la solución y finalmente se le agregó agua destilada estéril se centrifugó por 1 minuto nuevamente.
2. Con cuidado se sacaron los explantes para que se secaran por dos horas sobre papel absorbente dentro de la cámara de flujo

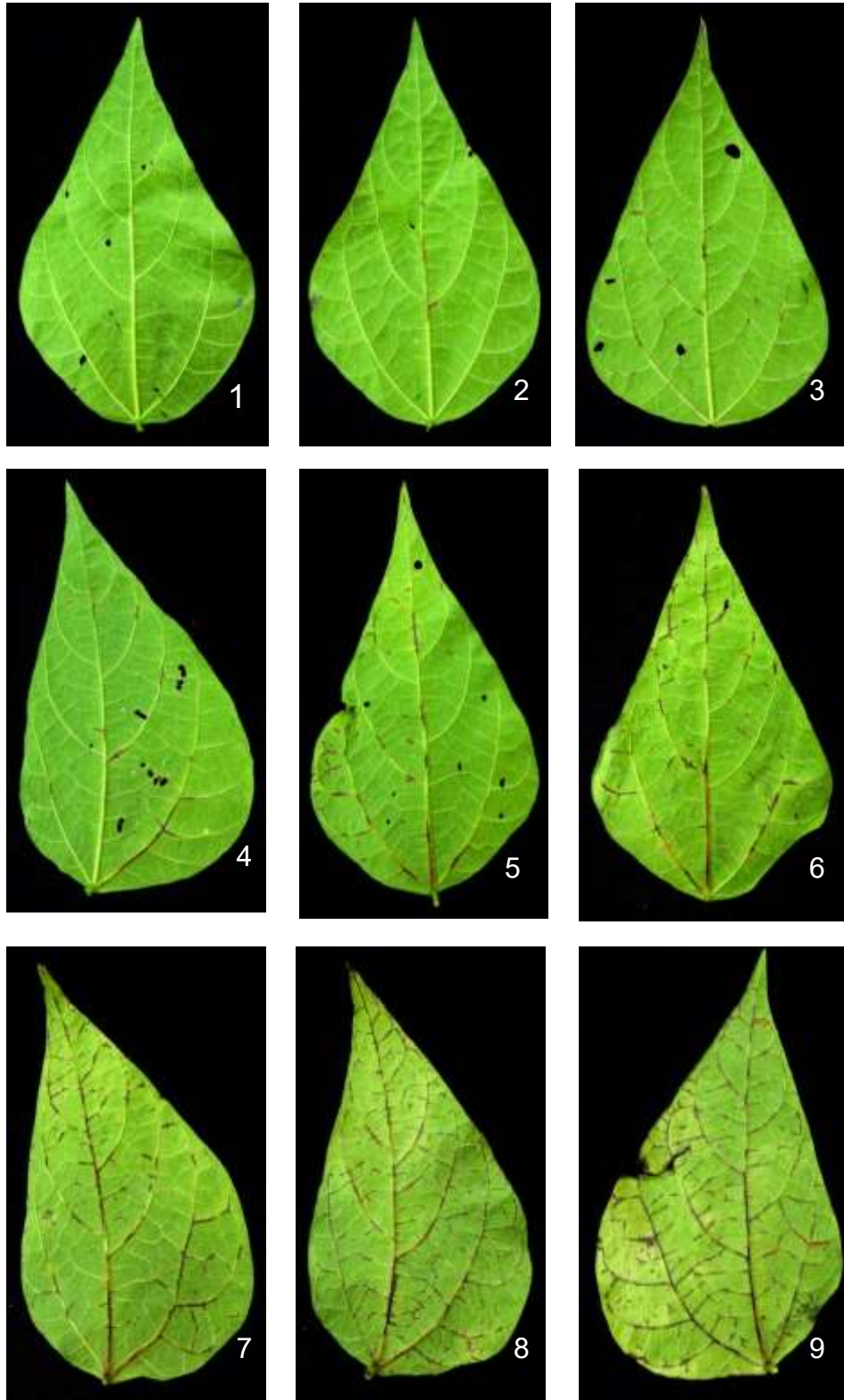


Figura A. 1. Escala de evaluación de antracnosis del 1 al 9.

Fuente: De acuerdo a: Schoonhoven and Pastor-Corrales, 1987; Rosas y Venegas, 2007

Procedimiento de caracterización de roya.



Figura A. 2. Muestreo Quetzaltenango, 2019
Se muestreo y recolectaron hojas con síntomas, se conservaron para su incremento posterior.



Figura A. 3. Incremento de esporas
Se realizó el incremento de esporas con la ayuda de una solución agua-tween, un pincel y plantas susceptibles como UII14 e ICTA Texel.



Figura A. 4. Aislamiento del único Uredinium, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019

Con el fin de purificar el aislamiento, se seleccionó una pústula para su incremento



Figura A. 5. Conservación 1, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019

Al tener suficientes pústulas, se procedió a colectarlas y conservarlas para la posterior inoculación.



Figura A. 6. Secado, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019

Se dejaron secando los microtubos por 48 horas.

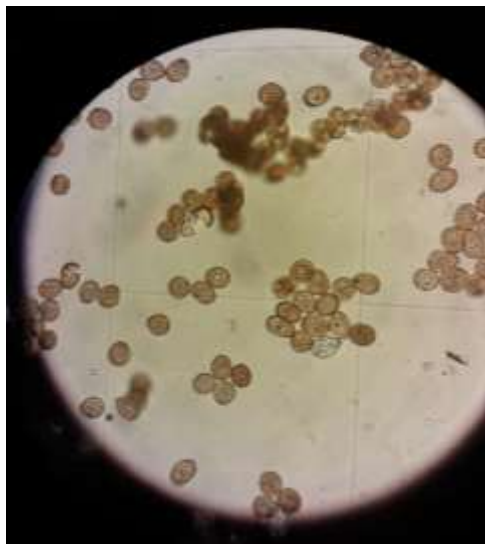


Figura A. 7. Conteo de esporas de roya. ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019

Al contar con suficiente cantidad de esporas se procedió a realizar la solución para inoculación. Se realizó un conteo en la cámara de Neubaber para obtener la concentración requerida.



Figura A. 8. Inoculación de roya. ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019

Se procedió a inocular el set de diferenciales correspondiente.



Figura A. 9. Sets en cámara de humedad. ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019. Se dejaron en la cámara de humedad por 14 horas



Figura A. 10. Sets en invernadero. ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019. Fueron trasladados al invernadero manteniendo las condiciones de humedad y temperatura



Figura A. 11. Establecimiento de sets inoculados en invernadero. ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019.

Después de 14 días desde su inoculación se procedió a la toma de datos. Posterior a la toma de datos se recolectaron las pústulas para guardar el inocúlo y poder conservarlo para futuros estudios.

Procedimiento de inoculación de antracnosis.



Figura A. 12. Desinfección de muestras.
Laboratorio Protección Vegetal, ICTA,
Quetzaltenango, Guatemala, 2019

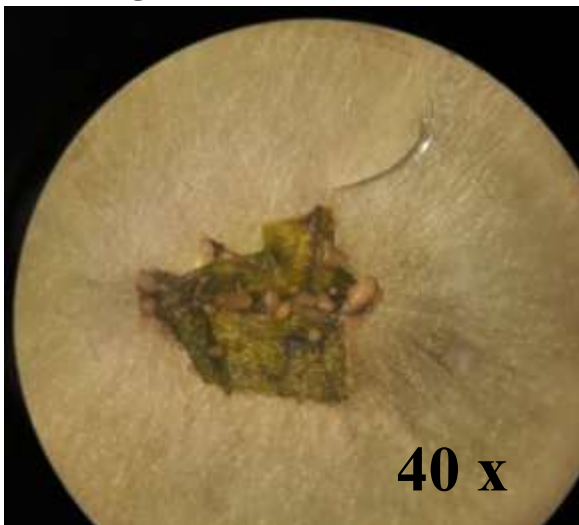


Figura A. 14. Incremento y purificación.
Laboratorio Protección Vegetal, ICTA,
Quetzaltenango, Guatemala, 2019
Algunos de los explantes se contaminaron
entonces se purificó el aislamiento.



Figura A. 13. Aislamiento de muestras

Laboratorio Protección Vegetal,
ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019



Figura A. 15. Incremento de esporas.
Laboratorio Protección Vegetal, ICTA,
Quetzaltenango, Guatemala, 2019

Al tener el aislamiento purificado se procedió
a incrementarlo para contar con suficiente
cantidad de esporas para la inoculación



Figura A. 16. Incremento de aislamiento Q-5-S3. Laboratorio Protección Vegetal, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019



Figura A. 17. Preparación del inóculo. Laboratorio Protección Vegetal, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019
Se agregó 10 ml de agua destilada estéril al incremento.



Figura A. 18. Preparación del inóculo. Laboratorio Protección Vegetal, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019
Se raspó con una espátula y se coló en un beacker con una gasa. Todo previamente esterilizado.



Figura A. 19. Conteo de esporas de antracnosis. Laboratorio Protección Vegetal, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019
Con la cámara de Neubauer. A razón de 1.2 x 10⁶ conidias/ml.



Figura A. 20. Inoculación para caracterizar antracnosis. Laboratorio Protección Vegetal, ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019



Figura A. 21. Sets inoculados en cámara de humedad. ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019

Se trasladaron los sets inoculados en la cámara húmeda donde la humedad relativa fue de 90% y cubierta en su totalidad por 48 horas



Figura A. 22. Establecimiento de sets en invernadero. ICTA, Quetzaltenango, Guatemala, 2019

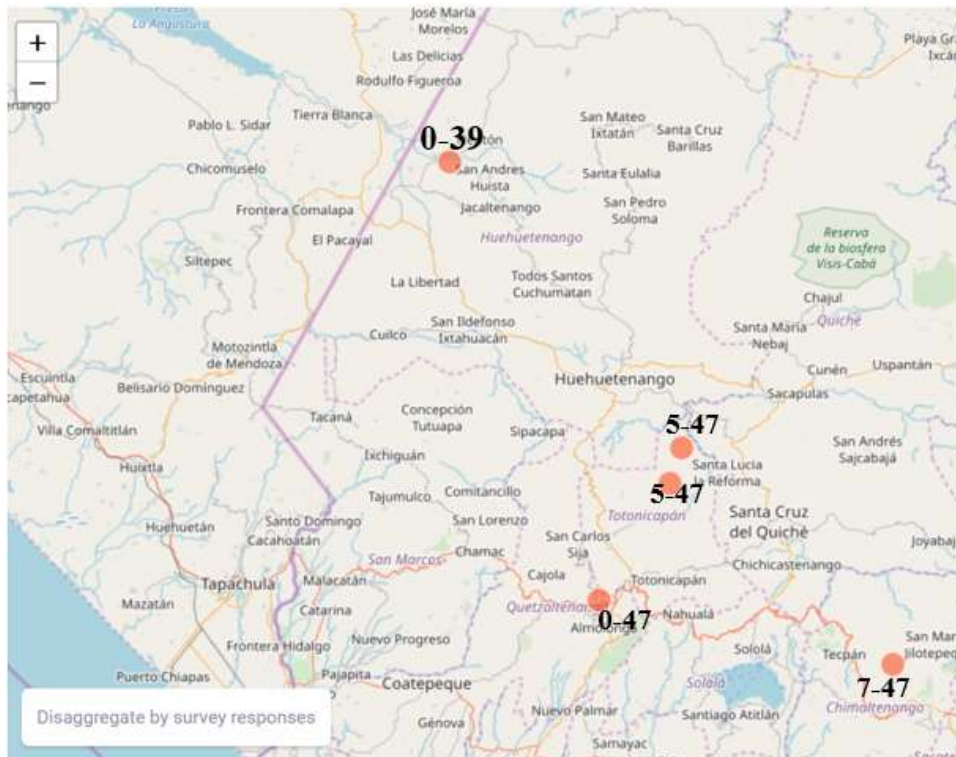


Figura A. 23. Localización de razas de roya identificadas en éste estudio. Mapa elaborado en KoBoToolbox®, 2019



Figura A. 24. Localización de razas de antracnosis identificadas en éste estudio. Mapa elaborado en KoBoToolbox®, 2019

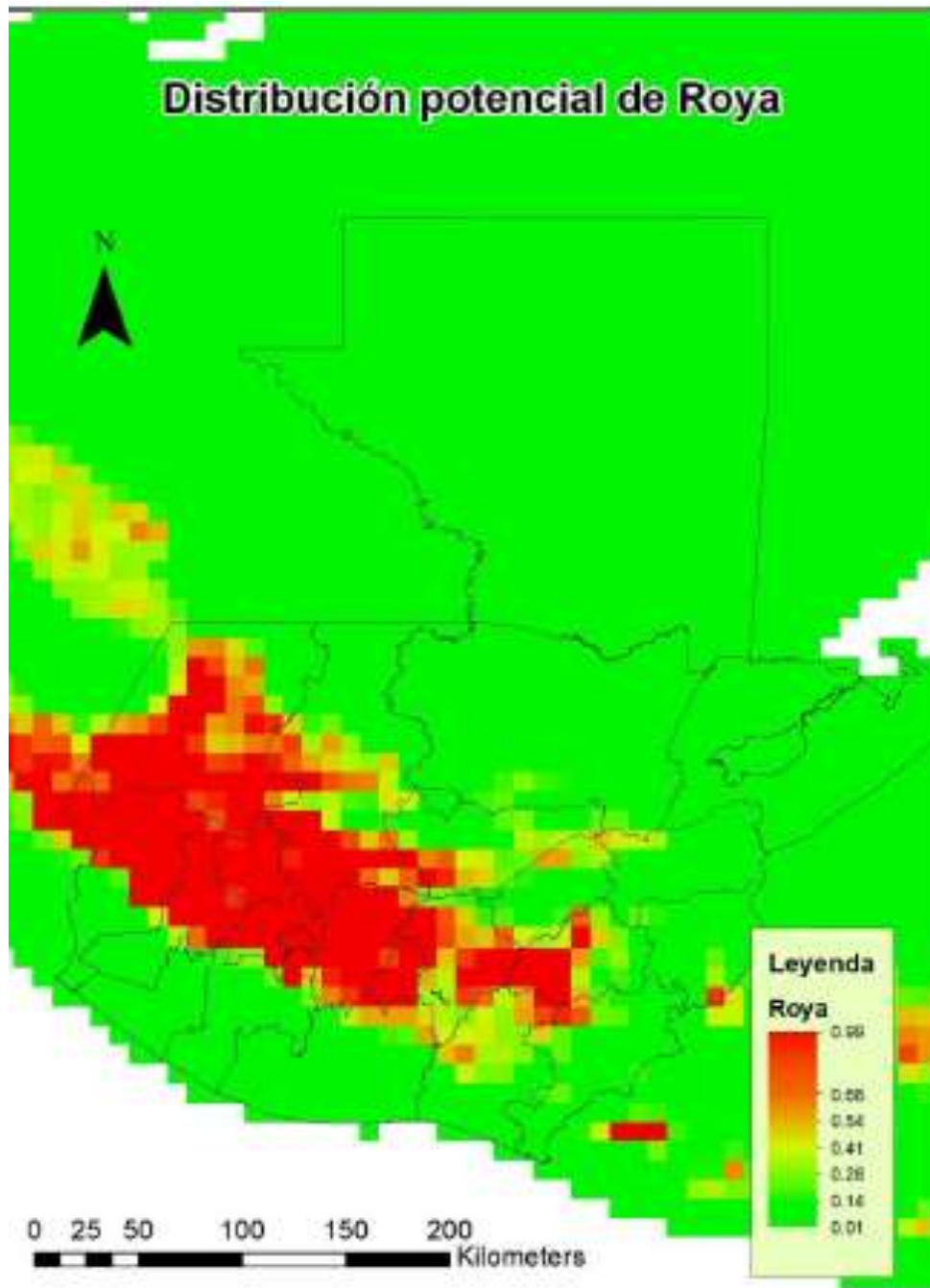


Figura A. 25. Distribución potencial de roya del frijol en zonas del altiplano occidental de Guatemala, basado en datos obtenidos en Montejo et al., 2017 y éste estudio. Las variables más relevantes que generan la información Temporalidad de la temperatura, estacionalidad de la precipitación, temperatura media anual y precipitación del mes más húmedo. Mapa elaborado en KoBoToolbox®, 2019

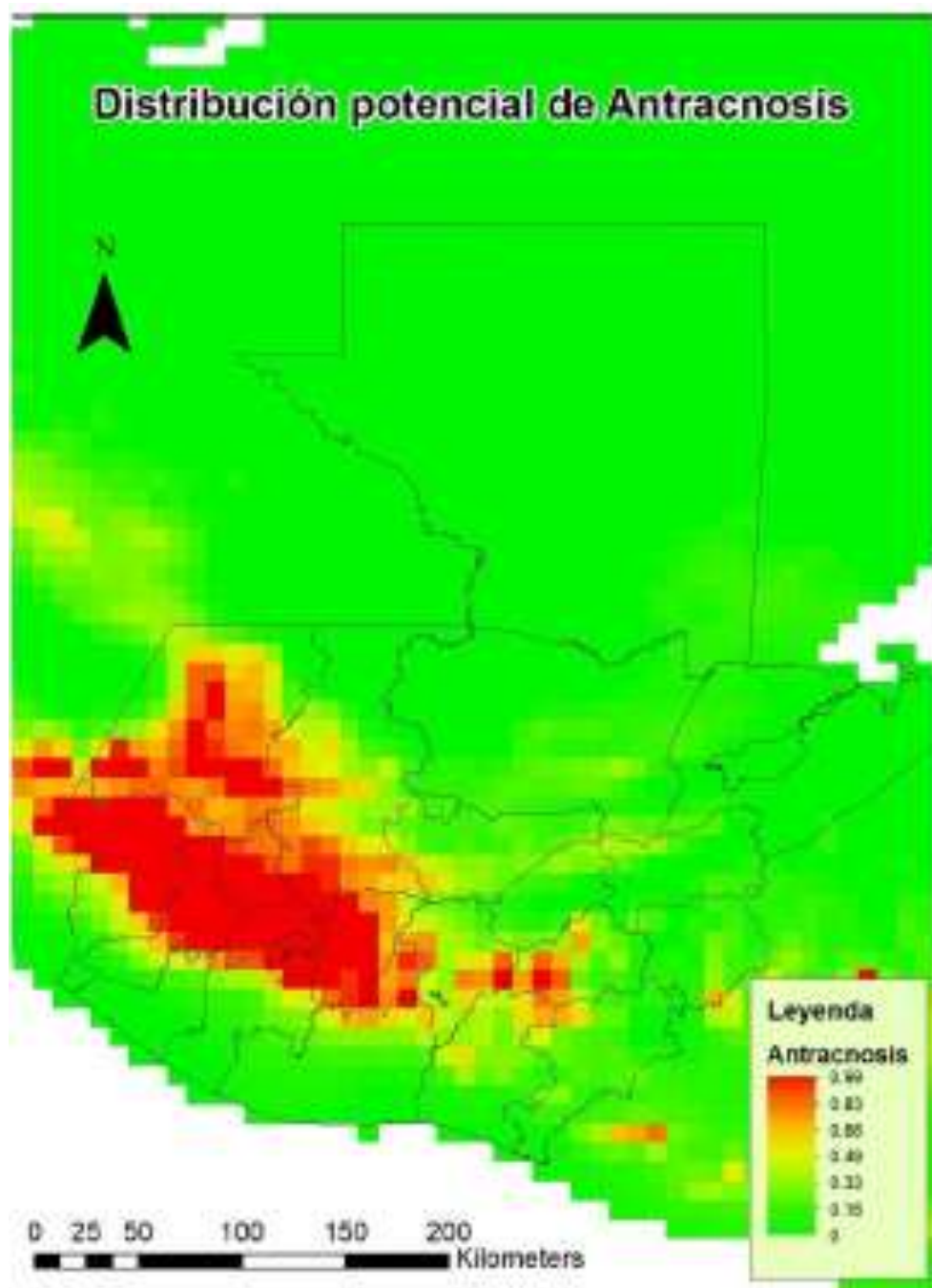


Figura A. 26. Distribución potencial de antracnosis del frijol en zonas del altiplano occidental de Guatemala, basado en datos obtenidos en Maldonado et al., 2017 y éste estudio. Las variables más relevantes que generan la información Temporalidad de la temperatura, media anual y precipitación del mes más húmedo. Mapa elaborado en KoBoToolbox®, 2019

Cuadro A. 1. Listado de banco de muestras recolectadas de *U. appendiculatus*

	Identificación de la muestra	Localidad	Coordenadas		Altitud
	H-1-S1	Aldea los chucles, La democracia, Huehuetenango	15° 38'15.4''	91° 51'57.0''	915
1	H-1-S2	Aldea los chucles, La democracia, Huehuetenango	15° 38'15.4''	91° 51'57.0''	915
	H-1-S3	Aldea los chucles, La democracia, Huehuetenango	15° 38'15.4''	91° 51'57.0''	915
	H-1-S4	Aldea los chucles, La democracia, Huehuetenango	15° 38'15.4''	91° 51'57.0''	915
2	H-2-S1	Pebil bam, Jacaltenango, Huehuetenango	15° 45'19.2''	91° 48'34.2''	685
	H-2-S2	Pebil bam, Jacaltenango, Huehuetenango	15° 45'19.2''	91° 48'34.2''	685
	H-2-S3	Pebil bam, Jacaltenango, Huehuetenango	15° 45'19.2''	91° 48'34.2''	685
3	H-3-S1	Los Regadillos, Chiantla, Huehuetenango	15°18'23.10"	91°29'16.69"	1937
	H-3-S2	Los Regadillos, Chiantla, Huehuetenango	15°18'23.10"	91°29'16.69"	1945
4	H-4-S1	El Pino, Huehuetenango	15°23'26.42"	91°27'33.46"	2376
	H-4-S2	El Pino, Huehuetenango	15°23'26.42"	91°27'33.46"	2376
5	H-5-S1	El Pino Chiantla, Huehuetenango	15°23'32.70	91°28'11.18	2584
	H-5-S2	El Pino Chiantla, Huehuetenango	15°23'32.70	91°28'11.18	2584
6	H-6-S1	Jacaltenango, Huehuetenango	15° 45' 20.4	91° 48' 31.3	779
7	H-7-S1	Quilenco, Chaintla, Huehuetenango	15° 23'13.37"	91° 27'17.16"	2457
8	H-8-S1	Todos Santos Cuchumatanes, Huehuetenango	15°23'39.84"	91°27'15.45"	2484
9	H-9-S1	Todos Santos Cuchumatanes, Huehuetenango	15° 23'40.15	91° 27'15.47"	2484
10	H-10-s1	Todos Santos Cuchumatanes, Huehuetenango	15° 23'15.84"	91° 27'14.22"	2475
11	H-11-S1	Jacalteango Huehuetenango	15°22'58.95"	91°27'31.69	2249
12	H-12-S1	Jacaltenango Huehuetenango	15° 45' 16"	91° 49'10' "	750
13	T-1-S1	Paraje Chojer Cabal Momostenango, Totonicapan	15° 02'2.99"	91° 21'7.8"	2512
	T-1-S2	Paraje Chojer Cabal Momostenango, Totonicapan	15° 02'2.99"	91° 21'7.8"	2512
14	T-2-S1	Xecacoi Los Cipreses Momostenango, Totonicapan	15° 1'29.94"	91°24'49.98"	2350
	T-2-S2	Xecacoi Los Cipreses Momostenango, Totonicapan	15° 1'29.94"	91°24'49.98"	2350
15	T-3-S1	Parrachaca Santa Ana Momostenango, Totonicapan	15° 1'7.61"	91° 26' 4.37"	2402
	T-3-S2	Parrachaca Santa Ana Momostenango, Totonicapan	15° 1'7.61"	91° 26' 4.37"	2402
16	T-4-S1	Chimaldonado Chivarreto, San Francisco, Totonicapan	14° 59' 1108"	91° 31' 26.73"	2710
17	T-5-S1	Totonicapán	15° 1'14.52"N	91°30'35.73"O	1163
18	T-6-S1	Cas. Sn Jose Sigüila, Xequemeyá, Momos, Totonicapán	15° 9'99"	91° 19'57"	1755

Cuadro A. 2. Listado de banco de muestras recolectadas de *U. appendiculatus*
(Continuación)

19	T-7-S1	Paraje Pacaman Aldea Xequemeyá, MomosToto	15° 05'84"	91° 21'22"	1961
20	Q-1-S1	Labor Ovalle, Quetzaltenango	14°52'12"	91°30'50."	2380
	Q-1-S2	Labor Ovalle, Quetzaltenango	14°52'12"	91°30'50."	2380
21	Q-2-S1	Labor Ovalle, Quetzaltenango	14°52'12"	91°30'50."	2380
	Q-2-S2	Labor Ovalle, Quetzaltenango	14°52'12"	91°30'50."	2380
22	Q-3-S1	Chitay Las Rosas, Quetzaltenango	14°50'52.74"	91° 29'3.54"	2328
	Q-3-S2	Chitay Las Rosas, Quetzaltenango	14°50'52.74"	91° 29'3.54"	2328
	Q-3-S3	Chitay Las Rosas, Quetzaltenango	14°50'52.74"	91° 29'3.54"	2328
23	Q-4-S1	Aldea Tuipox Concepcion Ch. Quetzaltenango	14° 51'15"	91° 36' 35"	2475
	Q-4-S2	Quetzaltenango	14° 51'15"	91° 36' 35"	2475
24	Q-5-S1	Pasac 2 Cantel, Quetzaltenango	14° 48' 10.1"	91° 27' 07.3"	2226
	Q-5-S2	Pasac 2 Cantel, Quetzaltenango	14° 48' 09.2"	91° 27' 03.3"	2297
25	Q-6-S1	El Llano Sn Miguel Sigüila Sn Juan Onst. Quetzaltenango	14°54'21.66"	91°36'48.18"	2519
	Q-6-S2	Quetzaltenango	14°54'21.66"	91°36'48.18"	2519
26	Q-7-S1	Sec. Los Marroquin Varsovia Sn Juan Onst. Quetzaltenango	14°53'38.70"	91°37'50.82"	2522
	Q-7-S2	Sec. Los Marroquin Varsovia Sn Juan Onst. Quetzaltenango	14°53'38.70"	91°37'50.82"	2522
	Q-7-S3	Sec. Los Marroquin Varsovia Sn Juan Onst. Quetzaltenango	14°53'38.70"	91°37'50.82"	2522
27	Q-8-S1	Sec. Los Marroquin Varsovia Sn Juan Onst. Quetzaltenango	14°53'35.34"	91°37'47.94"	2553
	Q-8-S2	Quetzaltenango	14°53'35.34"	91°37'47.94"	2553
28	Q-9-S1	Labor Ovalle, Quetzaltenango	14°52'12"	91°30'50."	2380
29	Q-10-S1	Labor Ovalle, Quetzaltenango	14°52'12"	91°30'50."	2380
30	Q-11-S1	Labor Ovalle, Quetzaltenango	14°52'12"	91°30'50."	2380
	Q-11-S2	Labor Ovalle, Quetzaltenango	14°52'12"	91°30'50."	2380
31	JAL-1-S1	Salama, Monja S, Jalapa	14°31'34.78"	89°51'55.49"	963
	JAL-1-S2	Salama, Monja S, Jalapa	14°31'34.78"	89°51'55.49"	963
	JAL-1-S3	Salama, Monja S, Jalapa	14°31'34.78"	89°51'55.49"	963
32	CH-1-S1	ICTA, Chimaltenango	14°38'16.51"N	90°48'11.47"O	1766
	CH-1-S2	ICTA, Chimaltenango	14°38'16.51"N	90°48'11.47"O	1766
33	CH-2-51	San Juan Comalapa Chimaltenango	14°44'30" N	90°53'20" O	2150
34	SM-1-S1	Sec. Los Conaques, Sta Rosa Sn Lorenzo, San Marcos	15° 01'35.7"	91° 46' 40.4"	2732

Cuadro A. 3. Listado de banco de muestras recolectadas de *U. appendiculatus* (Continuación)

Sec. Los Conaques, Sta Rosa Sn Lorenzo, San					
	SM-1-S2	Marcos	15° 01'35.7"	91° 46' 40.4"	2732
35	SM-2-S1	Santa Rosa, Sn Lorenzo, San Marcos	15° 2'9.5"	91° 44'54.5"	2683
	SM-2-S2	Santa Rosa, Sn Lorenzo, San Marcos	15° 2'9.5"	91° 44'54.5"	2683
	SM-3-S1	Santa Rosa, Sn Lorenzo, San Marcos	15° 02' 10.3"	91° 46'04.4"	2770
36	SM-3-S2	Santa Rosa, Sn Lorenzo, San Marcos	15° 02' 10.3"	91° 46'04.4"	2770
	SM-3-S3	Santa Rosa, Sn Lorenzo, San Marcos	15° 02' 10.3"	91° 46'04.4"	2770
37	SM-4-S1	La Ciénaga, Sn Lorenzo, San Marcos	15° 02'42.9"	91° 43' 35.3"	2697
	SM-4-S2	La Ciénaga, Sn Lorenzo, San Marcos	15° 02'42.9"	91° 43' 35.3"	2697
38	SM-5-S1	La ciénaga San Miguel SM	15° 19'06.6"	91° 42'21.6"	2518

Fuente: Elaboración propia

Cuadro A. 4. Listado de banco de muestras recolectadas de *C. lindemuthianum*

Identificación de la muestra		Localidad	Coordenadas		Altitud
1	SM-1-S1	Sec. Los Conaques, Sta Rosa Sn Lorenzo, San Marcos	15° 01'35.7"	91° 46' 40.4"	2732
	SM-1-S2	Sec. Los Conaques, Sta Rosa Sn Lorenzo, San Marcos	15° 01'35.7"	91° 46' 40.4"	2732
2	SM-2-S1	La Cienaga, San Lorenzo, San Marcos	15° 02' 42.9"	91° 43' 35.3"	2697
	SM-2-S2	La Cienaga, San Lorenzo, San Marcos	15° 02' 42.9"	91° 43' 35.3"	2697
3	SM-3-S1	Santa Rosa, San Lorenzo, San Marcos	15° 02' 10.3"	91° 46' 04.4"	2770
		Canton Mariscal 2	14° 55'46.8"	91° 54'36.89"	1108
4	SM-4-S1 y s2	Canton Mariscal San Rafael Pie de la Cuesta San Marcos	14° 55'46.8"	91° 54'36.89"	1108
5	SM-5-S1	Colonia la Asunción San Rafael Pie de la Cuesta San Marcos	14° 55'14.5"	91° 55'00.1"	782
	SM-5-S2	Colonia la Asunción San Rafael Pie de la Cuesta San Marcos	14° 55'14.5"	91° 55'00.1"	782
6	H-1-S1	Regadillas Chiantla, Huehuetenango	15°21'48.56"	91°28'45.61"	1937
	H-1-S2	Regadillas Chiantla, Huehuetenango	15°21'48.56"	91°28'45.61"	1937
7	H-2-S1	Canton Las Regadillas Chiantla, Huehuetenango	15°21'36.58"	91°28'40.49"	1945
	H-2-S2	Canton Las Regadillas Chiantla, Huehuetenango	15°21'36.58"	91°28'40.49"	1945
8	H-3-S1	El Pino, Chiantla, Huehuetenango	15°23'32.70"	91°28'11.18"	2584
	H-3-S2	El Pino, Chiantla, Huehuetenango	15°23'32.70"	91°28'11.18"	2584
9	H-4-S1	El Pino, Chiantla, Huehuetenango	15°23'26.42"	91°27'33.46"	2376
	H-4-S2	El Pino, Chiantla, Huehuetenango	15°23'26.42"	91°27'33.46"	2376
10	h-5-s1	Pueblo Viejo, San Sebastian, Huehuetenango	15° 22'12.39"	91° 34'51.27"	1818
11	H-6-S1	Sibila bajo, Chiantla Huehuetenango	15° 23'40.15"	91° 27' 15.47"	2480
12	H-7-S1	Sibila bajo, Chiantla Huehuetenango	15° 23'39.84"	91° 27'15.45"	2480
13	H-8-S1	Quilenco, Chiantla, Huehuetenango	15° 23'13.37"	91° 27'17.16"	2457
14	T-1-S1	Xecacoi, Los Cipreses, Momostenango, Totonicapan	15° 1'29.94"	91°27'33.46"	2350
	T-1-S2	Xecacoi, Los Cipreses, Momostenango, Totonicapan	15° 1'29.94"	91°24'49.98"	2350
15	T-2-S1	Parrachaca Santa Ana Momostenango, Totonicapan	15° 1' 7.61"	91° 26' 4.37"	2402
	T-2-S2	Parrachaca Santa Ana Momostenango, Totonicapan	15° 1' 7.61"	91° 26' 4.37"	2402
16	T-3-S1	Paraje Chojer Cabal Momostenango, Totonicapan	15° 02' 2.99"	91° 21' 7.8"	2512

Cuadro A. 5. Listado de banco de muestras recolectadas de *C. lindemuthianum* (continuación)

	T-3-S2	Paraje Chojer Cabal Momostenango, Tonicapan	15° 02' 2.99"	91° 21' 7.8"	2512
	T-3-S3	Paraje Chojer Cabal Momostenango, Tonicapan	15° 02' 2.99"	91° 21' 7.8"	2512
	T-3-S4	Paraje Chojer Cabal Momostenango, Tonicapan	15° 02' 2.99"	91° 21' 7.8"	2512
17	T-4-S1	Paraje Chojer Cabal Momostenango, Tonicapan	15° 02' 2.99"	91° 21' 7.8"	2512
18	T-5-S1	Los Cipreses, Momostenango, Tonicapan	15° 1'29.94"	91°27'33.46"	2350
	T-6-S1	Chimaldonado Chivarreto Sn Francisco, Tonicapan	14° 59' 11.08"	91° 31' 26.73"	2710
19	T-6-S2	Chimaldonado Chivarreto Sn Francisco, Tonicapan	14° 59' 11.08"	91° 31' 26.73"	2710
	T-6-S3	Chimaldonado Chivarreto Sn Francisco, Tonicapan	14° 59' 11.08"	91° 31' 26.73"	2710
20	T-7-S1	Poxlajú, Tonicapan	14° 55' 13.14"	91° 23' 20.45"	2490
21	CH-1-S1	ICTA Chimaltenango	14°38'16.51"	90°48'11.47"	1766
22	Q-1-S1	Pasac 2 Cantel, Quetzaltenango	14° 48' 10.1"	91° 27' 07.3"	2226
23	Q-2-S1	La Estancia Cantel, Quetzaltenango	14° 34' 21.2"	91° 26' 13.1"	2417
24	Q-3-S1	Pasac 2 Cantel, Quetzaltenango	14° 48' 09.2"	91° 27' 03.3"	2297
	Q-4-S1	El Llano Sn Miguel Sigüila, Sn Juan Onst. Quetzaltenango	14°54'21.66"	91°36'48.18"	2519
25	Q-4-S2	El Llano Sn Miguel Sigüila, Sn Juan Onst. Quetzaltenango	14°54'21.66"	91°36'48.18"	2519
	Q-4-S3	El Llano Sn Miguel Sigüila, Sn Juan Onst. Quetzaltenango	14°54'21.66"	91°36'48.18"	2519
	Q-5-S1	Labor Ovalle, Quetzaltenango	14°52'12"	91°30'50."	2380
26	Q-5-S2	Labor Ovalle, Quetzaltenango	14°52'12"	91°30'50."	2380
	Q-5-S3	Labor Ovalle, Quetzaltenango	14°52'12"	91°30'50."	2380
	Q-6-S1	Aldea Tuipox Concepcion Ch. Quetzaltenango	14° 51' 15"	91° 36' 35"	
27	Q-6-S2	Aldea Tuipox Concepcion Ch. Quetzaltenango	14° 51' 15"	91° 36' 35"	
28	Q-7-S1	Sec. Los Marroquin Varsovia Sn Juan Onst, Quetzaltenango	14°53'35.34"	91°37'47.46"	2053
29	Q-8-S1	Sec. Los Marroquin Varsovia Sn Juan Onst, Quetzaltenango	14°53'38.70"	91°37'50.82"	2522
	Q-9-S1	Chitay Las Rosas, Quetzaltenango	14°50'52.74"	91°29'3.54"	2328
30	Q-9-S2	Chitay Las Rosas, Quetzaltenango	14°50'52.74"	91°29'3.54"	2328
	Q-9-S3	Chitay Las Rosas, Quetzaltenango	14°50'52.74"	91°29'3.54"	2328

Fuente: Elaboración propia



CRIA

Programa de consorcios de Investigación Ag



**GOBIERNO de
GUATEMALA**

DR. ALEJANDRO GIAMMATTEI

MINISTERIO DE
AGRICULTURA,
GANADERÍA
Y ALIMENTACIÓN

