

## Retos y oportunidades en la selección asistida de frijol resistente a BCMV y BCMNV en México. I. Dimensión del problema\*

### Challenges and opportunities in assisted selection of beans resistant to BCMV and BCMNV in Mexico. I. Scale of the Problem

José Luis Anaya-López<sup>1</sup>, Laura Silva-Rosales<sup>2</sup>, Víctor Montero-Tavera<sup>1</sup>, Fulgencio Espejel<sup>2</sup> y Jorge Alberto Acosta-Gallegos<sup>1§</sup>

<sup>1</sup>Campo Experimental Bajío-INIFAP. Carretera Celaya-San Miguel de Allende, km 6.5, A. P. 112, C. P. 38110, Celaya, Guanajuato, México. (anaya.jose@inifap.gob.mx; montero.victor@inifap.gob.mx). <sup>2</sup>Laboratorio de Interacciones Planta-Virus, Departamento de Ingeniería Genética, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, CINVESTAV Irapuato, México. (lsilva@ira.cinvestav.mx; fulespejel@yahoo.com.mx). §Autor para correspondencia: acosta.jorge@inifap.gob.mx.

#### Resumen

Las enfermedades del frijol conocidas como mosaico común y raíz negra, causadas por el virus del mosaico común del frijol (BCMV) y el virus necrótico del mosaico común del frijol (BCMNV), tienen cada vez mayor incidencia en México. El BCMV está ampliamente distribuido en casi todas las regiones productoras, y el BCMNV preferentemente en las regiones tropicales. Ambos virus producen síntomas similares y pueden transmitirse por áfidos o por semilla proveniente de plantas infectadas, por lo que su incidencia está relacionada con el cultivo de variedades susceptibles y las condiciones climáticas que favorecen la presencia de insectos vectores. El control de BCMV y BCMNV puede lograrse mediante programas de certificación de semilla libre de enfermedades y el uso de variedades resistentes. La forma más económica de prevenir daños es sembrar variedades con resistencia durable obtenida mediante la piramidación de genes, en la que se combina una resistencia de amplio espectro contra patógenos de BCMV y BCMNV. Este proceso de mejoramiento puede facilitarse mediante el uso de selección asistida por marcadores moleculares en combinación con la confrontación directa de los virus. El objetivo es dilucidar la problemática en torno a la incidencia del BCMV y BCMNV en las principales regiones productoras de frijol para identificar los retos y oportunidades en la selección asistida de frijol resistente a BCMV y BCMNV.

#### Abstract

The bean diseases known as common mosaic and black root, caused by bean common mosaic virus (BCMV) and bean common mosaic necrosis virus (BCMNV) have increased incidence in Mexico. The BCMV is widely distributed in almost all production regions, and BCMNV preferably in tropical regions. Both viruses cause similar symptoms and can be transmitted by aphids or seed from infected plants, so that its incidence is related to the cultivation of susceptible varieties and climatic conditions that favor the presence of vectors. Control of BCMV and BCMNV can be achieved through certification programs of disease-free seed and use of resistant varieties. The cheapest way to prevent damage is to plant varieties with durable resistance obtained by gene pyramiding, in which a broad-spectrum of resistance is combined against BCMV and BCMNV. This breeding process can be facilitated using molecular marker assisted selection in combination with direct confrontation of the virus. The objective is to elucidate the issues surrounding the impact of BCMV and BCMNV in major producing areas of bean to identify challenges and opportunities in assisted selection of beans resistant to BCMV and BCMNV.

**Keywords:** BCMV, BCMNV, MAS, molecular markers, resistant varieties.

\* Recibido: noviembre de 2014  
Aceptado: febrero de 2015

**Palabras clave:** BCMV, BCMNV, marcadores moleculares, SAMM, variedades resistentes.

## Introducción

Desde tiempos prehispánicos el frijol ha tenido gran importancia alimenticia, social y económica en México. Junto con el maíz es uno de los principales alimentos básicos que forman parte de la tradición y la cultura mexicana. En la actualidad es el principal y único suministro de proteína para los sectores más pobres, que representa 45.5% de la población total (CONEVAL, 2012), y es una importante fuente de ocupación e ingresos para muchos campesinos.

Además de la sequía, el cambio climático contribuye al surgimiento de plagas y enfermedades emergentes que afectan al cultivo de frijol incluso en regiones con una alta disponibilidad de agua. Mientras que un clima seco tiende a favorecer a insectos vectores y virus, uno húmedo favorece a los hongos y bacterias fitopatógenos (Anderson *et al.*, 2004). Los virus son una de las principales limitantes bióticas para la producción de frijol en Latinoamérica y el Caribe (Beebe *et al.*, 2011), y aunque algunos modelos bioclimáticos predicen que en el centro de México podrían haber menos precipitaciones, no se han realizado estudios del impacto del cambio climático sobre la incidencia de virus en el país, como se hizo en Ontario, Canadá, donde se anticipa un incremento significativo del virus del mosaico común del frijol (BCMV) y el virus del mosaico dorado amarillo del frijol (BGYMV) (Boland *et al.*, 2004).

Para obtener en México una predicción similar, se requiere conocer la ecogenómica de los virus, los hospederos y las fuentes de inóculo, y contemplar factores específicos como la situación epidemiológica de estos patógenos o las prácticas agrícolas relacionadas, por ejemplo, con el nulo uso de semilla certificada libre de virus, ya que estos factores pueden contribuir a incrementar la incidencia y severidad de las enfermedades causadas por potyvirus (Anderson *et al.*, 2004). Por otra parte, es importante saber si las variedades que se siembran en el país cuentan con genes de resistencia que las protejan de los virus mencionados.

Recientemente en México se ha detectado una alta incidencia de BCMV y BCMNV (Flores-Esteves *et al.*, 2003; Lepe-Soltero *et al.*, 2012): dos especies del género *Potyvirus* estrechamente relacionados con el frijol que producen

## Introduction

Since pre-Hispanic times bean has had great food, social and economic importance in Mexico. Along with corn is a major staple of Mexican tradition and culture. Today is the main and only protein supply for the poorest sectors, representing 45.5% of the total population (CONEVAL, 2012), and is an important source of employment and income for many farmers.

In addition to drought, climate change contributes to the rise of pests and diseases affecting bean crop even in regions with high water availability. While dry weather tends to favor insect vectors and viruses, a humid weather favors fungi and plant pathogenic bacteria (Anderson *et al.*, 2004). Viruses are a major biotic constraints to bean production in Latin America and the Caribbean (Beebe *et al.*, 2011), and although some bioclimatic models predict that in the center of Mexico could have less rainfall, no studies have been conducted to assess the impact of climate change on the incidence of virus in the country, as was conducted in Ontario, Canada, where a significant increase of bean common mosaic virus (BCMV) and bean golden yellow mosaic virus (BGYMV) is anticipated (Boland *et al.*, 2004).

To obtain a similar prediction in Mexico, it is necessary to know economic of viruses, hosts and sources of inoculum, and contemplate specific factors such as epidemiological situation of these pathogens or related agricultural practices, for example, no use of certified seed free of virus, as these factors may contribute to increase the incidence and severity of disease caused by potyvirus (Anderson *et al.*, 2004). Moreover, it is important to know whether the varieties grown in the country have genes with resistance to protect them against these viruses.

Recently in Mexico has been detected a high incidence of BCMV and BCMNV (Flores-Esteves *et al.*, 2003; Lepe-Soltero *et al.*, 2012): two species of the *Potyvirus* genus closely related to beans that produce diseases known as common mosaic and black root, the latter usually ends with the death of the plant (McKern *et al.*, 1992; Kelly, 1997). Both viruses are transmitted in a non-persistent form by several species of aphids, but the most efficient mean of dissemination and above all for long distances are by seed. In Mexico, INIFAP is the main generator of bean varieties; of the 74 varieties chosen for certification in 2011 by SNICS, 60

las enfermedades conocidas como mosaico común y raíz negra, esta última normalmente culmina con la muerte de la planta (McKern *et al.*, 1992; Kelly, 1997). Ambos virus se transmiten de manera no persistente por varias especies de áfidos, pero el medio de diseminación más eficiente, y sobre todo a largas distancias, es por semilla.

En México, el INIFAP es el principal generador de variedades de frijol; de las 74 variedades elegidas para certificación en 2011 por el SNICS, 60 son del INIFAP. La mayoría de ellas no poseen resistencia a ambos potyvirus, y sólo las de grano negro tropical que poseen el gen *I* son resistentes al BCMV pero no al BCMNV (Rosales *et al.*, 2004). Entre el año 2000 y 2011, el SNICS recibió 27 solicitudes de registro de variedades y otorgó nueve títulos de obtentor, de las cuales 20 solicitudes y seis de los títulos correspondieron al INIFAP (SNICS, 2011).

Los Programas de Mejoramiento Genético de Frijol (PMGF) y de Biotecnología del INIFAP, con la colaboración del CINVESTAV, recién han comenzado a aplicar estrategias de selección asistida por marcadores moleculares (SAMM) desde una perspectiva integral, y aunque en el caso de BCMV y BCMNV se han piramidado genes de resistencia que condujeron a la liberación por parte del INIFAP de Dalia (Flor de Junio), la primera variedad de frijol obtenida por selección asistida, se requiere el desarrollo de nuevos marcadores moleculares de amplio espectro que permitan la introducción de resistencia genética al mayor número de patogrupos posible.

El objetivo de la presente revisión es presentar un panorama de la problemática ocasionada por los principales potyvirus que afectan el cultivo del frijol en México (BCMV y BCMNV), y proponer alternativas para su manejo y control, que incluyen la generación de variedades resistentes, así como el desarrollo y aplicación de herramientas moleculares para identificar y detectar oportunamente los diversos patogrupos virales. En la segunda parte de esta revisión se describirá el diseño, generación y uso de marcadores de ADN para la selección asistida de variedades de frijol resistentes a ambos virus.

### Cultivo de frijol en México

Durante el ciclo agrícola primavera-verano, 96% del frijol (*Phaseolus vulgaris*) cultivado en México se siembra en condiciones de temporal, principalmente en los altiplanos central y semiárido, y durante el otoño-invierno se cultiva en las regiones húmedas, aprovechando la humedad residual mientras que en el trópico seco se cultiva con

are from INIFAP. Most of them do not possess resistance to both potyvirus, and only the black tropical grain that possess *I* gene are resistant to BCMV but not to BCMNV (Rosales *et al.*, 2004). Between 2000 and 2011, SNICS received 27 applications for registration of varieties and gave nine awards of breeder, of which 20 applications and six awards corresponded to INIFAP (SNICS, 2011).

Bean Breeding Programs (PMGF) and Biotechnology from INIFAP, with the collaboration of CINVESTAV, have recently begun to implement strategies of molecular marker assisted selection (MAS) from a holistic perspective, and although in the case of BCMV and BCMNV have pyramiding resistance genes that lead to the release by INIFAP of Dalia (Flor de junio), the first bean variety obtained by assisted selection; it is necessary to develop new molecular markers of broad spectrum that allow the introduction of genetic resistance to a higher number of pathogroups possible.

The objective of this review is to present an overview of the problems caused by major potyvirus affecting bean crops in Mexico (BCMV and BCMNV), and propose alternatives for management and control, including the generation of resistant varieties, thus the development and application of molecular tools to identify and detect on time the different pathogroups. In the second part of this review the design, generation and use of DNA markers for assisted selection of bean varieties resistant to both viruses are described.

### Bean crop in Mexico

During spring-summer cycle, 96% of the bean (*Phaseolus vulgaris*) grown in Mexico is planted under rainfed conditions, mainly in the central and semi-arid plateaus, and during the autumn-winter is grown in humid regions, using residual moisture while in the dry tropics is grown under irrigation (SIAP, 2012). The most important productive area of bean in Mexico is located in the semiarid region of Zacatecas, Durango and Chihuahua where grown more than 50% of the area destined for cultivation and the production in 2011 represented planted just over 28% of domestic production (SIAP, 2012). Because bean production in these states depends almost exclusively on planting under rainfed conditions, low rainfall significantly affects production. In 2011 was recorded the worst drought in 70 years in the producing states, which caused a decrease in the cultivation area reaching only 680,000 hectares of which only 350 000 were harvested (SIAP, 2012).

irrigación (SIAP, 2012). El área productiva de frijol más importante de México se localiza en la región semiárida en los estados de Zacatecas, Durango y Chihuahua en donde se siembra más de 50% de la superficie destinada a este cultivo y cuya producción en 2011 representó poco más de 28% de la producción nacional (SIAP, 2012). Debido a que la producción de frijol en estos estados depende casi exclusivamente de la siembra en condiciones de temporal, la escasez de lluvia afecta significativamente su producción. En el año 2011 se registró en los estados productores la peor sequía en 70 años, que causó una disminución en la superficie de siembra que sólo alcanzó 680 mil hectáreas y de las cuales solo se cosecharon 350 mil (SIAP, 2012).

De 2009 a 2011 la aportación de Durango a la producción nacional decayó de 13 a 3%, y en los casos de Chihuahua y Zacatecas fue de 11 a 6%, y de 25 a 19%, respectivamente (SIAP, 2012). De persistir o incrementarse esta problemática será necesario desplazar el cultivo de frijol a otras regiones, ya que se requiere de una disponibilidad mínima de agua para establecer y obtener el rendimiento adecuado para darle rentabilidad. El desplazamiento a áreas más favorables no estará libre de problemas, como la presencia de patógenos causantes de enfermedades fungosas, bacterianas y virales, así como la competencia con otros cultivos más rentables.

Otros productores importantes de frijol son los estados de Chiapas, Sinaloa, Guanajuato, San Luis Potosí, Puebla, Nayarit, Oaxaca, Hidalgo y Veracruz, que en conjunto aportaron 61% de la producción en 2011 (SIAP, 2012). En estos estados la sequía no ha tenido efectos tan devastadores como en Durango, Chihuahua y Zacatecas; sin embargo, el cambio climático tiene otras repercusiones importantes como el aumento de plagas y enfermedades emergentes cuyo impacto puede afectar la producción del frijol aún en zonas con disponibilidad de agua. En la subregión del Bajío y la mesa central se ha detectado al BCMV; mientras que en las regiones húmedas, que incluyen los estados de Veracruz y Chiapas, así como Nayarit en el trópico seco, prevalece el BCMNV (Flores-Estevés *et al.*, 2003; Lepe-Soltero *et al.*, 2012).

### BCMV y BCMNV

El BCMV y el BCMNV son dos especies de patógenos del género Potyvirus, estrechamente relacionados con el frijol (Dijkstra y Khan, 1992). Hasta 1992 se consideraban como serotipos A y B de la misma especie del BCMV, pero se reclasificaron como dos especies virales con base en los perfiles bioquímicos de sus proteínas de cubierta (PC) (McKern, 1992),

From 2009 to 2011 the contribution of Durango to domestic production fell from 13 to 3% and in the case of Chihuahua and Zacatecas was 11 to 6% and 25 to 19%, respectively (SIAP, 2012). If this situation persists or increases, it will be necessary to move the bean crop to other regions, as it requires minimal water availability to set and obtain the right yield to give profitability. Moving to a more favorable area will not be free of problems, including the presence of pathogens causing fungal, bacterial and viral diseases and competition with more profitable crops.

Other major bean producers are the states of Chiapas, Sinaloa, Guanajuato, San Luis Potosí, Puebla, Nayarit, Oaxaca, Hidalgo and Veracruz, which together accounted for 61% of production in 2011 (SIAP, 2012). In these states drought has not been as devastating as in Durango, Chihuahua and Zacatecas; however, climate change has other important implications like the increase of emerging pests and diseases whose impact can affect bean production even in areas with water availability. In the sub region from Bajío and mesa central has been detected BCMV; while in humid regions, including the states of Veracruz and Chiapas, thus Nayarit in the dry tropics, prevails BCMNV (Flores-Estevés *et al.*, 2003; Lepe-Soltero *et al.*, 2012).

### BCMV and BCMNV

BCMV and BCMNV are two species of pathogens of the genus Potyvirus, closely related with bean (Dijkstra and Khan, 1992). Until 1992 were considered as serotypes A and B of the same species of BCMV, but were reclassified as two viral species based on biochemical profiles of their envelope proteins (PC) (McKern, 1992), its serological relationships (Mink and Sibernagel, 1992), their cytological effects on infected tissues as well as their molecular weight and amino acid sequence in the amino terminal region of PC (Spence and Walkey, 1995).

Have been identified and characterized biologically at least 19 different strains of BCMV and only four of BCMNV: *TN-1*, *NL-3*, *NL-5* and *NL-8*. All known strains of each virus are transmitted in a non-persistently form by several species of aphids (Larsen *et al.*, 2005). It can be transmitted by seed, pollen and mechanical inoculation. The transmissibility of these viruses by seed can be higher than 50% and depends on bean genotype, environmental conditions and strain (Morales and Castaño, 1987).



sus relaciones serológicas (Mink y Sibernagel, 1992), sus efectos citológicos en los tejidos infectados, así como por su peso molecular y secuencia de aminoácidos en la región amino terminal de la PC (Spence y Walkey, 1995).

Se han identificado y caracterizado biológicamente al menos 19 cepas diferentes de BCMV y sólo cuatro de BCMNV: *TN-1*, *NL-3*, *NL-5* y *NL-8*. Todas las cepas conocidas de cada virus se transmiten de manera no persistente por varias especies de áfidos (Larsen *et al.*, 2005). También pueden transmitirse por semilla, polen e inoculación mecánica. La transmisibilidad de estos virus por semilla puede ser mayor de 50% y depende del genotipo de frijol, las condiciones ambientales y la cepa del virus (Morales y Castaño, 1987).

Ambas especies virales producen síntomas similares en las plantas de frijol, que incluyen mosaicos, enanismo, rizado de las hojas, y clorosis. Adicionalmente pueden causar otros síndromes que consisten en necrosis sistémica o vascular y necrosis apical (Kelly, 1997), también conocidas como raíz negra (Saiz *et al.*, 1994), que culminan con la muerte de la planta. Dependiendo de la combinación genética del cultivar infectado, este síndrome puede ser causado por BCMNV, a cualquier temperatura, o por algunos patogrupos de BCMV a temperaturas superiores a los 30 °C como resultado de una respuesta hipersensible (RH) asociada con la presencia del gen de resistencia *I*, que favorece la diseminación de necrosis vascular (Whitmer-Collmer *et al.*, 2000).

La identificación del BCMNV por sintomatología es extremadamente imprecisa, ya que la gama de síntomas es amplia y depende de la cepa y del genotipo de frijol inoculado. En genotipos de frijol con el gen *I*, la cepa *NL3* de BCMNV produce lesiones locales necróticas, necrosis de venas, raíz negra, y "pinpoint"; mientras que en genotipos con distintos genes recesivos *bc* induce coloraciones rojizas en las nervaduras principales, enrollamiento de hojas, ampúlas en trifolios, amarillamientos en hojas primarias, entramados de coloraciones rojizas en nervaduras secundarias, mosaicos, manchas cloróticas y lesiones localizadas cloróticas (Figura 1).

### BCMV y BCMNV en México

Las primeras observaciones en México sobre el mosaico común se hicieron en la región del Bajío, cuyo agente etiológico pudo ser BCMV o BCMNV, ya que ambas especies pueden ocasionar este síndrome en genotipos que carecen del gen *I*. Desde la década de los 60's se describió

Both viral species produce similar symptoms in bean plants, which include mosaics, dwarfism, curly leaves and chlorosis. Additionally can cause other syndromes that involve systemic or vascular necrosis and apical necrosis (Kelly, 1997), also known as black root (Saiz *et al.*, 1994), culminating in death of the plant. Depending on the genetic combination of the infected cultivar, this syndrome can be caused by BCMNV, at any temperature, or by some pathogroups of BCMV at temperatures above 30 °C as a result of a hypersensitive response (HR) associated with the presence of *I* gene, which favors the spread of vascular necrosis (Whitmer-Collmer *et al.*, 2000).

The identification of BCMNV by symptomatology is extremely imprecise, since the range of symptoms is broad and depends of the strain and the inoculated bean genotype. In bean genotypes with *I* gene, strain *NL3* from BCMNV produces necrotic lesions, necrosis of veins, black root, and "pinpoint"; while in different genotypes with different recessive *bc* genes induces red coloring on main nervations, leaf rolling, ampules in trefoils, yellowing on primary leaves, half-red coloring on secondary nervation, mosaics, chlorotic spots and localized chlorotic lesions (Figure 1).

### BCMV and BCMNV in Mexico

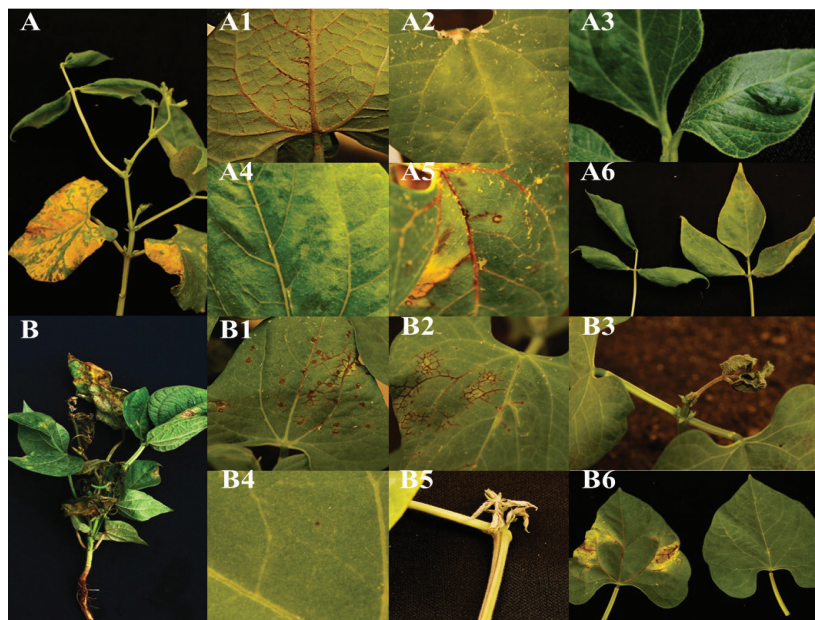
The first observation in Mexico on the common mosaic was made in the Bajío, whose etiologic agent could be BCMV or BCMNV, since both species can cause this syndrome on genotypes lacking *I* gene. Since early 60's was described common mosaic as a major disease (Montenegro, 1970) mainly associated to the bean type with high demand in the region, Flor de Mayo. In Guanajuato this disease was described as one of the main diseases of beans under irrigation (Crispin and Sifuentes, 1970). Crispin and Sifuentes (1970) noted that 'the diseases caused by viruses did not constitute a serious problem in the highlands of Mexico, but were causing considerable damage in tropical and semitropical areas like in the Gulf (Veracruz and Tamaulipas), the Pacific (Sinaloa), and in the Bajío (winter plantings in Guanajuato)'. However, these authors did not mention symptoms of systemic necrosis or black root.

Four or five decades ago, *I* gene was the only resistance gene known to BCMV, so different breeding programs in the USA and the International Center for Tropical Agriculture (CIAT) systematically incorporated this gene to all materials developed, as a strategy to eradicate the disease of common

al mosaico común como una enfermedad importante (Montenegro, 1970) asociada principalmente al tipo de frijol de mayor demanda en la región, el Flor de Mayo. En Guanajuato esta enfermedad se describió como uno de los principales problemas fitopatológicos del frijol bajo riego (Crispín y Sifuentes, 1970). Crispín y Sifuentes (1970) señalaron que ‘las enfermedades causadas por virus no constituían un problema serio en las partes altas de México, pero sí ocasionaban daños considerables en zonas tropicales y semitropicales, como en las costas del Golfo (Veracruz y Tamaulipas), del Pacífico (Sinaloa), y en el Bajío (siembras de invierno en Guanajuato)’. Sin embargo, estos autores no hicieron mención a la sintomatología de necrosis sistémica o raíz negra.

mosaic. However, as mentioned above, BCMNV strains induce black root in genotypes with *I* gene when not present the recessive *bc* genes.

The first evidence of black root in semiarid regions of the Altiplano and Mesa Central occurred within the experimental fields in parallel with the introduction of germplasm carrying *I* gene from CIAT, USA or even from some tropical area of the country. Which suggested that on these regions were BCMNV strains whose presence had not been previously detected because the cultivars used lacked *I* gene. However, it is also possible that necrotic strains had been introduced to regions where probably did not exist.



**Figura 1. Gama de síntomas producidos por la cepa NL3 de BCMNV en materiales con distintas combinaciones de genes de resistencia *I* y *bc*.** Los paneles con la letra A corresponden a genotipos que carecen del gen dominante de resistencia *I* y con distintas combinaciones de genes recesivos *bc*. Los paneles con la letra B refieren a genotipos con el gen *I* y distintas combinaciones de genes recesivos *bc*. A) planta de frijol con síntomas típicos de mosaico común; A1) coloración rojiza en nervaduras principales; A2) manchas cloróticas en hoja primaria; A3) ámpulas en trifolios; A4) mosaico en hoja primaria; A5) coloración rojiza en nervaduras principales y anillos o “ringspot” en hoja primaria; A6) enrollamiento de trifolios; B) planta de frijol con síntomas típicos de raíz negra; B1) lesiones necróticas localizadas en hoja primaria; B2) necrosis de nervaduras secundarias; B3) necrosis apical; B4) lesiones necróticas punteadas o “pinpoint” en hoja primaria; B5) necrosis sistémica o raíz negra; y B6) efecto de la incorporación del gen de resistencia *bc-3* en un genotipo con el gen *I*. Hoja izquierda variedad SER 16 con el gen *I*, hoja derecha variedad SER 16 con la combinación de genes *I + bc-3*.

**Figure 1. Range of symptoms produced by strain NL3 of BCMNV in materials with different combinations of resistance *I* and *bc* genes.** The panels with letter A correspond to genotypes lacking the dominant resistance *I* gene and with different combinations of recessive *bc* gene. The panels with letter B refer to genotypes with *I* gene and different combinations of recessive *bc* genes. A) bean plant with typical symptoms of common mosaic; A1) reddened color on main nervations; A2) chlorotic spots on primary leaf; A3) ampules in trifolios; A4) mosaic on primary leaf; A5) reddish color on main nervation and rings or “ringspot” on primary leaf; A6) rolling of trifolios; B) bean plant with typical symptoms of black root; B1) necrotic lesions in primary leaf; B2) necrosis of secondary nervation; B3) apical necrosis; B4) necrotic lesions dotted or “pinpoint” in primary leaf; B5) systemic necrosis or black root; and B6) effect of the incorporation of resistance *bc-3* gene in a genotype with *I* gene. Left leaf variety SER 16 with *I* gene, right leaf variety SER 16 with gene combination *I + bc-3*.

Hace cuatro o cinco décadas el gen *I* era el único gen de resistencia a BCMV conocido, por lo que diferentes programas de mejoramiento de los EE.UU y del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) incorporaron sistemáticamente este gen a todos los materiales desarrollados como una estrategia para erradicar la enfermedad de mosaico común. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, las cepas de BCMNV inducen raíz negra en genotipos con el gen *I* cuando no están presentes los genes recesivos *bc*.

Las primeras evidencias de raíz negra en las regiones del Altiplano Semiárido y la Mesa Central se dieron dentro de los Campos Experimentales de manera paralela a la introducción de germoplasma portador del gen *I* del CIAT, de los EE.UU o incluso de algunas áreas tropicales del país. Lo cual sugirió que en esas regiones había cepas de BCMNV cuya presencia no se había detectado previamente debido a que los cultivares usados carecían del gen *I*. Sin embargo, también es posible que se hayan introducido cepas necróticas a regiones donde probablemente no existían.

Reportes posteriores sobre la distribución de BCMV y BCMNV, basados también en la sintomatología, indicaron la presencia del primero en los estados de Guanajuato (Montenegro, 1970), Puebla (Díaz-Plaza *et al.*, 1992), Veracruz (López-Salinas *et al.*, 1994) y Sonora (Jiménez-García y Nelson, 1994). Sin embargo, en 2003 con el uso de RT-PCR con iniciadores específicos para cada especie viral, el PMGF del INIFAP en colaboración con el CINVESTAV, Irapuato, detectaron la presencia de BCMV y/o BCMNV en 15 estados productores de frijol (Flores-Esteves *et al.*, 2003). Posteriormente en 2012 se detectaron ambos virus en cuatro de cinco estados evaluados (Lepe-Soltero *et al.*, 2012), y en Guanajuato, donde sólo se había detectado a BCMV, se detectó también a BCMNV (Figura 2) (Flores-Esteves *et al.*, 2003; Lepe-Soltero *et al.*, 2012) debido probablemente a la introducción de semilla infectada que pudo proceder de Nayarit y Sinaloa.

Aunque con el uso de RT-PCR se logró diferenciar las especies de BCMV y BCMNV, esta estrategia no permite identificar las distintas cepas ni a nuevos virus. Adicionalmente, más de 52% de las muestras evaluadas en 2012 fueron negativas a la presencia de BCMV y BCMNV, a pesar de que se colectaron en base a los síntomas característicos producidos por ambas especies virales (Lepe-Soltero *et al.*, 2012). Este hecho refuerza la noción de que la identificación por sintomatología es muy imprecisa, o bien que otros virus inducen síntomas muy similares. Por ello se

Subsequent reports on the distribution of BCMV and BCMNV, also based on symptoms indicated the presence of the first in the states of Guanajuato (Montenegro, 1970), Puebla (Díaz-Plaza *et al.*, 1992), Veracruz (López-Salinas *et al.*, 1994) and Sonora (Jiménez-García and Nelson, 1994). However, in 2003 with the use of RT-PCR using specific primers for each viral species, the PMGF from INIFAP in collaboration with CINVESTAV, Irapuato, detected the presence of BCMV and/or BCMNV in 15 producing states of bean (Flores-Esteves *et al.*, 2003). Later in 2012 both viruses were detected in four of five evaluated states (Lepe-Soltero *et al.*, 2012) and in Guanajuato, where only have been detected BCMV and BCMNV (Figure 2) (Flores-Esteves *et al.*, 2003; Lepe-Soltero *et al.*, 2012) probably due to the introduction of infected seed that could come from Nayarit and Sinaloa.



**Figura 2. Distribución de BCMV y BCMNV en regiones productoras de frijol en México. En negro se indican los estados en los que se cultiva frijol bajo condiciones de temporal, y en gris en los que se hace con humedad residual o riego. Los círculos y estrellas indican la presencia de BCMV y BCMNV, respectivamente; en blanco y negro se indican los muestreos realizados en 2003 y 2012, respectivamente (Flores-Esteves *et al.*, 2003; Lepe-Soltero *et al.*, 2012).**

**Figure 2. Distribution of BCMV and BCMNV in bean producing regions of Mexico; in black indicates the states where beans are grown under rainfed conditions, and in gray which are grown with residual moisture or irrigation. The circles and stars indicate the presence of BCMV and BCMNV respectively; in white and black indicate samplings carried out in 2003 and 2012 respectively (Flores-Esteves *et al.*, 2003; Lepe-Soltero *et al.*, 2012).**



requiere implementar técnicas de detección más robustas que permitan discriminar de manera precisa a los virus que infectan al frijol y causan daños en la producción.

En Nayarit, en condiciones experimentales de riego durante el ciclo 2012- 2013, se registró la muerte de 100% de las plantas, con síntomas típicos de raíz negra, en genotipos mejorados de grano negro opaco portadores del gen *I*, como Negro Guanajuato, mientras que la variedad Dalia que posee la combinación de los genes *I+bc-3* (Acosta *et al.*, 2012), y los genotipos SCR 6, SCR 83, SER 18 y León, que presuntivamente la tienen, no presentaron síntomas (Figura 3).

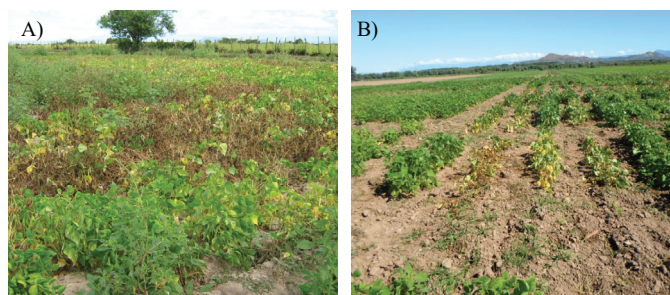
La incidencia de BCMV y BCMNV está relacionada con el cultivo de variedades de frijol susceptibles que les sirven de reservorio, y con las condiciones climáticas que favorecen la presencia de sus insectos vectores. Ambos virus, además de diseminarse de manera no persistente por varias especies de áfidos (Halbert *et al.*, 1997), son frecuentemente transmitidos por semilla (Morales y Castaño, 1987), lo que facilita su dispersión. En México, en muestras de plantas con síntomas atribuibles a BCMV y BCMNV, Lepe-Soltero *et al.* (2012) detectaron la frecuencia más alta de infección con BCMV (33%) en el frijol Azufrado Higuera (raza Nueva Granada) cultivado en Sinaloa, mientras que Negro Jamapa (raza Mesoamericana) de Nayarit tuvo la más alta frecuencia de BCMNV (50%). En estos estados el porcentaje de muestras positivas para cualquiera de las dos especies virales fue de 80%.

Es importante destacar que, en ese mismo estudio, en Nayarit se detectaron infecciones mixtas en frijol Negro Jamapa, una situación que sólo se había detectado en materiales de frijol de color claro, pues el gen *I* está ligado con la intensificación del color en el locus B (Kelly *et al.*, 1995; Kelly, 1997). Una posible explicación, es la heterogeneidad intrínseca de la variedad Jamapa que fue derivada de un compuesto de líneas de una colecta de Jamapa, Veracruz (Cárdenas y Velo, 1965), cuya selección se realizó mediante fitomejoramiento tradicional.

La alta prevalencia de BCMV y BCMNV en las muestras de frijol Negro y Azufrado en Sinaloa y Nayarit, respectivamente (Lepe-Soltero *et al.*, 2012), sugiere que las condiciones climáticas son favorables para los insectos vectores y el desarrollo de la enfermedad, o que los productores usan como semilla el grano contaminado por uno o ambos virus. Esta problemática se acentúa debido a la inexistencia de programas de producción de semilla libre de virus. Por ejemplo, en Nayarit anualmente se establecen alrededor de

Although with the use of RT-PCR was possible to differentiate species of BCMV and BCMNV, this strategy does not allow identifying individual strains or new virus. Additionally, more than 52% of the samples evaluated in 2012 were negative for presence of BCMV and BCMNV, despite were collected based on characteristic symptoms produced by both viral species (Lepe-Soltero *et al.*, 2012). This reinforces the notion that identification through symptomatology is very vague or other viruses induce similar symptoms. It is therefore necessary to implement more robust detection techniques that allow discriminating accurately viruses that infect beans and cause damage to production.

In Nayarit, under experimental conditions of irrigation during 2012- 2013 cycle, the death of 100% of the plants was recorded, with typical symptoms of black root, in improved genotypes of black opaque grain carrying *I* gene, like Negro Guanajuato, while Dalia variety that has the combination of *I+bc3* genes (Acosta *et al.*, 2012), and genotypes SCR 6, SCR 83, SER 18 and Leon, which presumably have it, did not show symptoms (Figure 3).



**Figura 3. Cultivos afectados por mosaico común y raíz negra. A) variedad comercial Jamapa cultivada en Nayarit en el ciclo otoño-invierno 2010-2011. B) línea experimental cultivada en Nayarit en el ciclo otoño-invierno 2012-2013.**

**Figure 3. Crops affected by common mosaic and black root. A) Jamapa commercial variety grown in Nayarit in autumn-winter 2010- 2011. B) Experimental line planted in Nayarit in autumn-winter 2012-2013 cycle.**

The incidence of BCMV and BCMNV is related to the cultivation of susceptible bean varieties that serve as reservoir, and with climatic conditions favoring the presence of their insect vectors. Both viruses besides disseminating in a non-persistent form by various species of aphid (Halbert *et al.*, 1997) and are frequently seedborne (Morales and Castaño, 1987), which facilitates their dispersion. In Mexico, in plant samples with symptoms attributable to BCMV and BCMNV, Lepe-Soltero *et al.* (2012) detected the highest frequency



tres mil hectáreas con la variedad Flor de Junio Marcela, cuyo grano cosechado se embarca para su venta a los mercados de abasto del Bajío.

Este grano, en ocasiones, es utilizado por los agricultores para la siembra debido a la falta de semilla, por lo que es probable que la introducción de semilla contaminada procedente de Nayarit y otros estados, como Sinaloa, a los sistemas de producción del Bajío sea la causa del incremento de la incidencia de BCMV y BCMNV. Una posible alternativa para mitigar esta problemática es el establecimiento de sistemas de producción y certificación de semilla de frijol o cultivar variedades resistentes a los virus prevalentes en las regiones con alta incidencia de estos virus.

### Desarrollo de variedades resistentes a BCMV y BCMNV

Las primeras variedades mejoradas desarrolladas con el objetivo específico de incorporar resistencia al BCMV fueron Flor de Mayo RMC (Martínez, 1981) y Flor de Mayo Bajío (Montes *et al.*, 1988), a esta última también se le incorporó resistencia a la roya (*Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus*). La primera variedad incluye en su genealogía a la variedad criolla Flor de Mayo y como fuente de resistencia al BCMV a la variedad Amanda portadora de los genes  $I + bc-I^2$ , combinación que confiere resistencia a todas las cepas de BCMV y a las cepas *NL3* y *NL8* de BCMNV siendo susceptible a la cepa *NL5* (Drijfhout *et al.*, 1984), cepa cuya descripción fue hecha en Europa por Hubbeling en 1963 (Drijfhout *et al.*, 1984) y aún se desconoce si existe en México.

La variedad Flor de Mayo Bajío se desarrolló a partir de cuatro progenitores: dos líneas resistentes a la roya y dos líneas resistentes al BCMV (Montes *et al.*, 1988); estas últimas también derivaron su resistencia de la variedad Amanda. Posteriormente se registró en Zacatecas una tercera variedad, Flor de Mayo Sol (Zandate y Pérez, 1996), variedad derivada de una línea hermana de Flor de Mayo Bajío, probablemente también portadora de los genes  $I + bc-I^2$ . El uso comercial de las variedades mencionadas impulsó el cultivo del frijol en la región del Bajío. Variedades posteriores registradas en esta región como Flor de Mayo M38 (Acosta *et al.*, 1995) y Flor de Mayo Anita (Castellanos *et al.*, 2003) probablemente poseen únicamente el gen *I* sin protección de algún gen recesivo.

Hasta ahora en México, sólo la variedad Dalia generada por el INIFAP (Acosta-Gallegos *et al.*, 2012) se ha seleccionado para resistencia a BCMV mediante SAMM usando los

of infection with BCMV (33%) in beans Azufrado Higuera (race Nueva Granada) grown in Sinaloa, while Negro Jamapa (Mesoamerican race) of Nayarit had the highest frequency of BCMNV (50%). In these states the percentage of positive samples for either viral species was 80%.

It is important to note that in the same study, in Nayarit mixed infections were detected in bean Negro Jamapa, a situation that was only detected in bean materials of bright color, because *I* gene is linked with the intensification of color in locus B (Kelly *et al.*, 1995; Kelly, 1997). One possible explanation is the intrinsic heterogeneity of Jamapa variety that was derived from a compound of a collection of lines from Jamapa, Veracruz (Cardenas and Velo, 1965), whose selection was made using traditional plant breeding.

The high prevalence of BCMV and BCMNV in bean samples of Negro and Azufrado in Sinaloa and Nayarit, respectively (Lepe-Soltero *et al.*, 2012) suggests that climatic conditions are favorable for insect vectors and disease development, or producers use as seed contaminated grain by one or both viruses. This problem accentuates due to the inexistence of seed production programs free of virus. For example, in Nayarit annually are established around of 3 000 hectares with Flor de Junio variety Marcela, grain that is shipped for sale to food markets from Bajío.

This grain sometimes is used by farmers for planting due to lack of seed, so it is likely that the introduction of contaminated seed from Nayarit and other states such as Sinaloa, into production systems from Bajío is the cause of the increased incidence of BCMV and BCMNV. A possible alternative to mitigate this problem is the establishment of production systems and seed certification of bean or to plant varieties resistant to viruses prevalent in regions with high incidence of these viruses.

### Development of varieties resistant to BCMV and BCMNV

The first improved varieties developed with the specific aim of incorporating resistance to BCMV were Flor de Mayo RMC (Martínez, 1981) and Flor de Mayo Bajío (Montes *et al.*, 1988); To Flor de Mayo Bajío was also incorporated rust resistance (*Uromyces appendiculatus* var. *appendiculatus*). The first variety includes in its genealogy the landrace Flor de Mayo and as source of resistance to BCMV, the Amanda variety carrier of  $I + bc-I^2$  gene, a combination that confers resistance to all strains of BCMV and strains of *NL3* and *NL8*

marcadores SW13 para el gen *I* (Haley *et al.*, 1994; Melotto *et al.*, 1996), y ROC11 para *bc-3* (Johnson *et al.*, 1997). Esta variedad mostró baja incidencia de raíz negra (10%) en condiciones experimentales de campo en Nayarit, mientras que en variedades como Negro Guanajuato portadora del gen *I* fue alta (90%). Las variedades Flor de Mayo Dolores (Acosta *et al.* 2011) y Flor de Mayo Eugenia desarrolladas recientemente también presentan estos marcadores asociados a los genes *I* y *bc-3*.

Recientemente, en colaboración con el Laboratorio de Virología del Centro Internacional de Agricultura Tropical, se evaluó la resistencia de líneas de frijol generadas por PMGF del INIFAP, incluida la variedad Dalia. Sin embargo, cuando se inocularon mecánicamente con la cepa *NL3* de BCMNV todas presentaron síntomas de raíz negra, lo que indicó que los materiales evaluados tienen el gen *I*, pero que carecen del *bc-3*. Esto sugirió diversas posibilidades: que el marcador ROC11 no es eficiente para seleccionar al gen *bc-3*, o que selecciona un gen distinto que confiere resistencia a cepas específicas, que la resistencia observada en campo pudo ser específica a las cepas de Nayarit. Sin embargo, se desconoce cuáles cepas de BCMV y BCMNV están distribuidas en México.

### Perspectivas

Como parte de la línea base de conocimiento requerido para reducir o eliminar los daños causados por BCMV y BCMNV en las regiones productoras de frijol en México, lo primero es conocer cuáles son las cepas de BCMV y BCMNV presentes en México y qué otros virus se encuentran en frijol silvestre y cultivado en el centro de domesticación de frijol en México. Para lo cual se puede hacer uso de técnicas como la secuenciación masiva. El estado actual del conocimiento científico, así como el desarrollo de nuevas tecnologías para el estudio de ácidos nucleicos y proteínas, permite llevar a cabo la identificación eficiente de genes y marcadores a partir de germoplasma con características de interés, en función a su resistencia a virus y aceptación por el consumidor. Para esto es necesario conjuntar esfuerzos de investigación en las áreas básica y aplicada de manera interdisciplinaria e interinstitucional.

El conocer el genoma de los virus asociados al frijol, incluidos el BCMV, BCMNV y algunos no reportados, permitirá en el corto plazo desarrollar herramientas moleculares que servirán para determinar la distribución de los virus identificados en otras regiones productoras de frijol;

from BCMNV being susceptible to *NL5* (Drijfhout *et al.*, 1984), strain whose description was made in Europe in by Hubbeling in 1963 (Drijfhout *et al.*, 1984) and still unknown if exist in Mexico.

Flor de Mayo Bajío variety developed from four parents, two rust resistant lines and two lines resistant to BCMV; (Montes *et al.*, 1988); the latter also derived its resistance from the Amanda variety. Later a third variety, Flor de Mayo Sol (Zandate and Pérez, 1996) was registered in Zacatecas, a variety derived from a sister line of Flor de Mayo Bajío, probably carrier of *I+bc-I<sup>2</sup>* genes. Commercial use of these varieties promoted the cultivation of beans in the Bajío region. Later other varieties registered in this region as Flor de Mayo M38 (Acosta *et al.*, 1995) and Flor de Mayo Anita (Castellanos *et al.*, 2003) probably possess *I* gene without protection of some recessive gene.

Until now in Mexico, only Dalia variety generated by INIFAP (Acosta-Gallegos *et al.*, 2012) has been selected for resistance to BCMV by MAS using SW13 marker for gene *I* (Haley *et al.*, 1994; Melotto *et al.*, 1996), and ROC11 for *bc-3* (Johnson *et al.*, 1997). This variety showed low incidence of black root (10%) under experimental field conditions in Nayarit, while in varieties like Negro Guanajuato carrier of gene *I* was high (90%). Flor de Mayo Dolores varieties (Acosta *et al.* 2011) and Flor de Mayo Eugenia recently developed also have these markers associated to *I* and *bc-3* genes.

Recently, in collaboration with the Laboratory of Virology of the International Center for Tropical Agriculture, the resistance of bean lines generated by PMGP from INIFAP was evaluated, including Dalia variety. However, when mechanically inoculated with strain *NL3* of BCMNV all had symptoms of black root, indicating that the evaluated materials have *I* gene but lacking *bc-3*. This suggested several possibilities: that ROC11 marker is not efficient to select *bc-3* gene or selects a different gene conferring resistance to specific strains, that resistance observed in field could be specific for the strains from Nayarit. However, is unknown which strains of BCMV and BCMNV are distributed in Mexico.

### Perspective

As part of baseline knowledge required to reduce or eliminate damage caused by BCMV and BCMNV in bean producing regions of Mexico, the first thing is to know which strains

hacer estudios de patogenicidad, e identificar la introducción de cepas y patotipos de BCMV y BCMNV descritos hasta ahora en otros países.

A mediano y largo plazo la información generada contribuirá a incrementar la producción de frijol al reducir, o incluso eliminar, la incidencia de mosaico común y raíz negra en México mediante la generación de variedades resistentes a las cepas predominantes en la zona específica de cultivo, adaptadas a las condiciones climáticas con las características que demanda el mercado de cada región, y a establecer normas para la regulación de la importación y exportación de frijol con la finalidad de proteger el germoplasma de frijol silvestre y cultivado en México.

## Conclusiones

La amplia distribución de BCMV, y de la especie necrótica BCMNV, en las principales regiones productoras de frijol de México representa un problema latente en la producción nacional, sobre todo si se consideran el incremento de temperatura atribuible al cambio climático y el alto riesgo de infección ocasionado por la movilización interestatal de semilla infectada. Esta situación enfatiza la necesidad de piramidar los genes de resistencia ya conocidos en las principales variedades cultivadas en las regiones productoras, e identificar nuevos genes de resistencia a fin de desarrollar marcadores moleculares para usarse en los programas de mejoramiento genético de frijol.

Adicionalmente, es necesario conocer los genes de resistencia a ambas especies virales. El conocimiento de los mecanismos de replicación viral y de la variedad de los componentes de la célula hospedera, necesarios para llevar a cabo dicha replicación, permitirá determinar los genes importantes en el desarrollo de marcadores moleculares para la resistencia a BCMV y BCMNV. La contraparte viral a partir del conocimiento de la diversidad de demás especies y patogrupos también será indispensable para vislumbrar estrategias de resistencia de amplio espectro.

Es por ello que para enfrentar la problemática actual y futura del cultivo de frijol en México se requiere usar tecnologías que hagan más eficientes los programas de mejoramiento. Implementar las herramientas moleculares existentes es una alternativa viable, siempre y cuando satisfagan las necesidades particulares de estos programas. Por otra

of BCMV and BCMNV are present in Mexico and what other viruses are found in wild and cultivated bean in the center of domestication in Mexico. For which could make use of techniques such as massive sequencing. The current state of scientific knowledge and the development of new technologies for the study of nucleic acids and proteins allow performing efficient identification of genes and markers from germplasm with characteristics of interest, in function of their resistance to virus and consumer acceptance. This requires joint efforts of research in basic and applied areas of interdisciplinary and interagency basis.

Knowing the genome of virus associated to beans, including BCMV, BCMNV and some unreported, will allow in a short period to develop molecular tools that will help to determine the distribution of virus identified in other producing regions; perform pathogenicity studies, and identify the introduction of strains and pathotypes of BCMV and BCMNV described so far in other countries.

In the medium and long term the information generated will help to increase bean production by reducing, or even eliminating, the incidence of common mosaic and black root in Mexico through the generation of resistant varieties to prevalent strains in specific area of crop, adapted to weather conditions with characteristics that the market demands of each region, and establish standards regulating the import and export of beans in order to protect wild bean germplasm and cultivated in Mexico.

## Conclusions

The wide distribution of BCMV and the necrotic BCMNV species, in the main producing regions of Mexico represents a latent problem in domestic production, especially when considering temperature increase attributable to climate change and the high risk of infection caused by interstate movement of infected seed. This emphasize the need for pyramiding resistance genes known in the main varieties grown in the producing regions, and to identify new genes of resistance in order to develop molecular markers to use in bean breeding programs.

Additionally, it is necessary to know genes of resistance to both viral species. Knowledge of the mechanisms of viral replication and variety of components of host cell needed to carry out such replication will allow identifying

parte y no menos importante, es urgente producir y utilizar semilla de calidad certificada de las variedades mejoradas de reciente registro.

## Agradecimientos

Los autores(as) agradecen el financiamiento con los fondos S0007 de SAGARPA- CONACYT, por el apoyo al proyecto 0109621. "Desarrollo de variedades de frijol de alto rendimiento, tolerantes a sequía resistente a patógenos y con la calidad que demanda el consumidor" de la convocatoria 2009-1.

## Literatura citada

- Acosta-Gallegos, J. A.; Castellanos, J. Z.; Núñez- González, S.; Ochoa-Márquez, R.; Rosales- Serna, R. and Singh, S. P. 1995. Registration of Flor de Mayo M38 Common Bean. *Crop. Sci.* 35:941-942.
- Acosta- Gallegos, J. A.; Sánchez- García, B. M.; Jiménez- Hernández, Y.; Montero-Tavera, V.; Mendoza-Hernández, F. M.; Herrera-Hernández, G. y Silva-Rosales, L. 2011. Flor de Mayo Dolores, nueva variedad de frijol para riego y temporal en Guanajuato, México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 2(6):993-999.
- Acosta- Gallegos, J. A.; Sánchez- García, B. M.; Montero- Tavera, V.; Jiménez- Hernández, Y.; Silva-Rosales, L.; Espinoza-Trujillo, E. y González-Chavira, M. 2012. 'Flor de Junio Dalia' a new drybean cultivar for central Mexico. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative. 55:287-288.
- Anderson, P.; Cunningham, A. A.; Patel, N. G.; Morales, F. J.; Epstein, P. R. and Daszak, P. 2004. Emerging infectious diseases of plants: pathogen pollution, climate change and agrotechnology drivers. *Trends Ecol. Evol.* 19:535-544.
- Beebe, S.; Ramírez, J.; Jarvis, A.; Rao, E. M.; Mosquera, G.; Bueno, J. M. and Blair, M. W. 2011. Genetic improvement of common beans and the challenges of climate change. *In: Crop adaptation to climate change.* Yadav, S. S.; Redden, R.; Hatfield, J. L.; Lotze-Campen, H. and Hall, A. Wiley-Blackwell UK. 356-369 pp.
- Boland, G. J.; Melzer, M. S.; Hopkin, A.; Higgins, V. and Nassuth, A. 2004. Climate change and plant diseases in Ontario. *Epidemiology.* 26:335-350.
- Castellanos- Ramos, J. Z.; Guzmán- Maldonado, H.; Muñoz- Ramos, J. J. y Acosta- Gallegos, J. A. 2003. Flor de Mayo Anita, nueva variedad de frijol para la región Central de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 26:209-211.
- Cardenas, F. y Velo, G. 1965. Jamapa, una variedad mejorada de frijol para el tropico. *In: 3ª. Reunión del Proyecto Cooperativo Centro Americano de Mejoramiento de Frijol.* Antigua, Guatemala, 1964. Informe Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. Pub. Misc. Núm. 22. Turrialba, Costa Rica. 35-38 pp.
- Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social (CONEVAL). Porcentaje, número de personas y carencias promedio por indicador de pobreza, 2012-2012 <http://www.coneval.gob.mx/medicion/Paginas/Medici%C3%B3n/Pobreza%202012/Pobreza-2012.aspx>.
- Crispín, M. A. y Sifuentes, J. A. 1970. Enfermedades y plagas del frijol en México. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIFAP). Secretaría de Agricultura y Ganadería (SAG). Folleto de Divulgación Núm. 39. 46 p.
- Díaz-Plaza, R.; Téliz, O. D. y Muñoz-Orozco, A. 1992. Efecto de las enfermedades en frijol de temporal en la Mixteca Poblana. *Rev. Mex. Fitopatol.* 9:21-30.
- Drijfhout, E.; Silbernagel, M. J. and Burke, W. 1984. Differentiation of strains of bean common mosaic virus. *Neth. J. Pl. Path.* 84:13-26.
- Dijkstra, J. and Khan, J. A. 1992. A proposal for a bean common mosaic subgroup of potyviruses. *Archiv. Virol. Suppl.* 5:389-395.
- Flores- Estéves, N.; Acosta- Gallegos, J. A. and Silva- Rosales, L. 2003. Bean common mosaic and Bean common mosaic necrosis virus in Mexico. *Plant Dis.* 87:21-35.
- Halbert, S.; Mink, G. I.; Silbernagel, M. J. and Mowry, T. M. 1994. Transmission of bean mosaic virus by cereal aphids (Homoptera: Aphididae). *Plant Dis.* 78(10):983-985.
- Haley, S. D.; Afanador, L. and Kelly, J. D. 1994. Identification and application of a random amplified polymorphic DNA marker for the I gene (potyvirus resistance) in common bean. *Phytopathology.* 84:157-160.
- Jiménez-García, E. y Nelson, M. R. 1994. Los virus del frijol en las áreas agrícolas de Sonora. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP). Celaya, México. 16 p.
- Johnson, W. C.; Guzman, P.; Mandala, D.; Mkwandawire, A. B. C.; Temple, S.; Gilbertson, R. L. and Gepts, P. 1997. Molecular tagging of the *bc-3* gene for introgression into Andean common bean. *Crop Sci.* 37:248-254.
- Kelly, J. D. 1997. A review of varietal response to bean common mosaic potyvirus in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Varieties and Seeds.* 10:1-6.

*End of the English version*





- Kelly, J. D.; Afanador, L. and Haley, S. D. 1995. Pyramiding genes for resistance to bean common mosaic virus. *Euphytica*. 82:207-212.
- Larsen, R. C.; Miklas, P. N.; Druffel, K. L. and Wyatt, S. D. 2005. NL-3 K strain is a stable naturally occurring interspecific recombinant derived from Bean common mosaic necrosis virus and Bean common mosaic virus. *Phytopathology*. 95:1037-1042.
- Lepe-Soltero, D.; Sánchez- García, B. M.; Jiménez- Hernández, Y.; Salinas- Pérez, R. A.; García-Neria, M. A.; González de León, D.; Becerra- Leor, N. E.; Acosta- Gallegos, J. A. and Silva-Rosales, L. 2012. Presence of BCMV and BCMNV in five dry bean-producing states in Mexico. *Trop. Subtrop. Agroecosys*. 15:313-321.
- López-Salinas, E.; Durán- Prado, A. y Becerra-Leor, E. N. 1994. Manual de producción de frijol en el estado de Veracruz. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP). Folleto para Productores. Número 7. Veracruz, México, CECOT-CIRGOC-INIFAP. 29 p.
- Martínez, A. J. 1981. Flor de Mayo RMC nueva variedad de frijol resistente al mosaico común para siembra de riego en el Bajío. CAEB-CIAB-INIA, Folleto Técnico Núm. 1. 8 p.
- McKern, N. M.; Mink, G. I.; Barnett, O. W.; Mishra, A.; Whittaker, L. A.; Silvernagel, M. J.; Ward C. D. and Shukla, D. D. 1992. Isolates of bean common mosaic virus comprising two distinct potyviruses. *Phytopathology*. 82:923-929.
- Melotto, M.; Afanador, L. and Kelly, J. D. 1996. Development of a SCAR marker linked to the I gene in common bean. *Genome*. 39:1216-1219.
- Mink, G. I. and Silbernagel, M. J. 1992. Serological and biological relationships among viruses in the bean common mosaic virus subgroup. *Archiv. Virol. Supplem*. 5:397-406.
- Montenegro, B. A. 1970. Identificación de los principales virus del frijol en el estado de Guanajuato y evaluación de la resistencia de veinte variedades. Tesis M. C. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Escuela Nacional de Agricultura (ENA). Chapingo, Estado de México. 60 p.
- Montes, R. R.; Martínez, A. J. y Delgadillo, F. 1988. Flor de Mayo Bajío, nueva variedad de frijol. CEBAJ-CIFAP-INIFAP. Folleto Técnico Núm. 5. 8 p.
- Morales, F. L. and Castaño, M. 1987. Seed transmission characteristics of selected bean common mosaic virus strains in differential bean cultivars. *Plant Dis*. 71:51-53.
- Rosales- Serna, R.; Acosta-Gallegos, J. A.; Muruaga- Martínez, J. S.; Hernández- Casillas, J. M.; Esquivel- Esquivel, G. y Pérez-Herrera, P. 2004. Variedades mejoradas de frijol del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Libro Técnico Núm. 6.
- Saiz, M.; Castro, S.; De Blas, C. and Romero, J. 1994. Serotype-specific detection of bean common mosaic potyvirus in bean leaf and seed tissue by enzymatic amplification. *J. Virol. Methods*. 50:145-154.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2012 [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5&Itemid=5](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=5&Itemid=5).
- Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). 2011. Gaceta oficial de los derechos de obtentor de variedades vegetales (Plant variety rights gazette) <http://snics.sagarpa.gob.mx/Paginas/Inicio-SNICS.aspx>.
- Spence, N. J. and Walkey, D. G. A. 1995. Variation for pathogenicity among isolates of bean common mosaic virus in Africa and a reinterpretation of the genetic relationship between cultivars of *Phaseolus vulgaris* and pathotypes of BCMV. *Plant Pathol*. 44:527-546.
- Whitmer-Collmer, C.; Fisher-Marston, M.; Taylor, J. C. and Jahn, M. 2000. The I gene of bean: a dosage dependent allele conferring extreme resistance, hypersensitive resistance, or spreading vascular necrosis in response to the potyvirus bean common mosaic virus. *Mol. Plant Microbe Interactions*. 11:1266-1270.
- Zandate, H. R. y Pérez, T. H. 1996. Flor de Mayo Sol, nueva variedad de frijol para condiciones de riego en Zacatecas. *In: Memorias del XVI Congreso de la Sociedad Mexicana de Fitogenética*. Texcoco, Estado de México, México. 69 p.