

## DETECCIÓN Y MAPEO DE POLIMORFISMOS ASOCIADOS A LA RESISTENCIA A LA ANTRACNOSIS EN FRIJOL COMÚN (*Phaseolus vulgaris*)

Azucena Mendoza Herrera,<sup>1</sup> Jorge Acosta,<sup>2</sup> Jorge L Fuentes Lorenzo,<sup>3</sup> Octavio Martínez<sup>4</sup> y June Simpson<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CINVESTAV-Irapuato Apto. 629, Gto., México. <sup>2</sup>CEVAMEX-INIFAP Apto. Postal 10 Chapingo, México. <sup>3</sup>CAEDEN Apto. 6122 C. Habana, Cuba. <sup>4</sup>Universidad de S.L.P.

### Introducción

El frijol (*Phaseolus vulgaris*), es uno de los alimentos básicos para millones de gentes en México y América Latina. Una de las enfermedades de mayor expansión e impacto económico que tiene este cultivo es la Antracnosis, la cual es causada por el hongo *Colletotrichum lindemuthianum*. Este hongo puede causar hasta un 100 % de pérdidas en regiones de clima templado y alta humedad. Debido a esto el empleo de variedades resistentes es una estrategia con un gran potencial en el control de la antracnosis.

En Europa se tiene identificadas fuentes de resistencia de las cuales se conoce los genes que la controlan. Sin embargo, ésta se rompe en presencia de razas latinoamericanas del hongo. Por lo tanto, es importante estudiar fuentes de resistencia de origen mexicano y latinoamericano para el desarrollo de nuevas variedades resistentes, útiles en estas regiones.

El objetivo del presente trabajo es evaluar el polimorfismo entre genotipos resistentes y un genotipo susceptible a la antracnosis en base a marcadores de DNA (RFLPs, RAPDs y AFLPs), para identificar marcadores ligados al o los genes de resistencia y realizar la construcción de un mapa de ligamiento preliminar.

### Materiales y Métodos

Los genotipos resistentes empleados para este estudio fueron: A193, AB136 y G2333, el genotipo susceptible fue Flor de Mayo (FM) y la población segregante que proviene de una cruce entre el FM x A193. La asignación de la resistencia se basó en una evaluación de campo hecha por el fitomejorador.

#### Extracción del ADN

El aislamiento del ADN total fue hecha con el método descrito por Dellaporta y colaboradores (1) para el cual se utilizó fresco de los trifolios de frijol.

#### Análisis de marcadores

El ADN de frijol fue digerido con las enzimas EcoRI, HindIII y EcoRV. Se siguieron los protocolos estándar para la hibridación tipo Southern (2). En el marcaje y detección se empleó el sistema no radioactivo de Boehringer para sondas marcadas con digoxigenina. Las sondas fueron proporcionadas por el Dr. Vallejos, Universidad de Florida (3).

Para los RAPDs se emplearon decámetros al azar de OPERON (Operon Technologies Inc., 1000 Atlantic Ave., Alameda, CA 94501 USA) y se siguieron protocolos estándar (4). Con los AFLP's se siguieron los protocolos amablemente proporcionados por Keygene (Holanda) descritos en Zebau M y Vos P (5) y Lin J y Kuo J (6).

#### Análisis del ligamento

Para el análisis de ligamento se emplearon los programas de MAPMAKER (7) y JOINTMAP (8).

### Resultados y Discusión

El grado de polimorfismo que se detectó en los 4 genotipos evaluados con los diferentes marcadores utilizados se resumen en la tabla.

Marcador	No. de Bandas Polimórficas	Polimorfismo
RFLP'S	1	50 %
RAPD'S	3	65 %
AFLP'S	6	95 %

EL mayor grado de polimorfismo detectado se encontró entre FM y A193 con cualquiera de los marcadores, lo cual fue un resultado esperado dado que el FM es un frijol de origen mesoamericano y el frijol A193 es de origen andino.

Por este motivo fueron elegidos como progenitores de la población segregante para la construcción del mapa de ligamiento, además del mapeo de los genes de resistencia a la antracnosis. En base a evaluaciones realizadas con infecciones del hongo en plántula, se ha encontrado que la F1 presenta una reacción de resistencia (Fernando Hernández, comunicación personal), por lo que se tiene la hipótesis de que la resistencia sea dominante.

Entre la progenie resistente y susceptible se detectó suficiente grado de polimorfismo para llevar a cabo el mapeo de los marcadores.

Con los datos hasta ahora obtenidos se construyó un mapa preliminar, formado por dos grupos de ligamiento que será presentado y discutido en el momento de la presentación del trabajo.

- Dellaporta, et al. *Plant. Mol. Biol. Reporter* 1983 1:19-21.
- Sambrook, et al. *Molecular Cloning. Manual de laboratorio*. 1989.
- Vallejos, et al. *Genetics* 1992 131:733-740.
- Williams, et al. *Nucl. Acids. Res.* 1990 18:6531-6535.
- Zebau M, Vos P, *European Patente Application*. 1992.
- Lin J y Kuo J, *Focus* 1995 17(2):66-70.
- Lander, et al. *Genomics* 1987 1:174-181.
- Stam P, *The Plant Journal* 1993 3(5):739-744.