

PATRONES DE DIVERSIDAD GENETICA Y DOMESTICACION EN FRIJOL TEPARI (*Phaseolus acutifolius* Asa Gray)

Claudia P. Flórez R.¹ Daniel Debouck² -
Ariel Gutiérrez³

COMPENDIO

Se evaluaron 266 accesiones de la colección mundial de frijol tepari utilizando electroforesis de proteínas de reserva (globulinas, PHA y lectinas). La variabilidad proteica se complementó con electroforesis de isoenzimas (15 loci) en una submuestra de 91 accesiones. Se determinaron 25 patrones electroforéticos en las globulinas de los silvestres y dos en los cultivados. En el análisis isoenzimático se obtuvieron 65 fenotipos para silvestres y 15 para cultivados, lo cual refleja fuerte disminución de la variabilidad genética conocida como efecto fundador. Los resultados sugieren a Jalisco (México) como posible centro de domesticación del tepari, sin embargo no se puede descartar un segundo evento de domesticación, tal vez más reciente y cuyo espacio se desconoce aún. No se observó separación clara entre las dos variedades silvestres de *P. acutifolius*.

Palabras Claves: *Phaseolus acutifolius*, Frijol tepari, Variabilidad, Electroforesis, Proteínas, Isoenzimas, Domesticación

ABSTRACT

PATTERNS OF GENETIC DIVERSITY AND DOMESTICATION IN TEPARY BEAN (*Phaseolus acutifolius* Asa Gray)

Two hundred and sixty six accesions from the tepary bean germplasm world collection were evaluated by means of seed storage protein electrophoresis (globulins, PHA and lectins). The protein variability was complemented by isozymes (15 loci) for a subsample of 91 accesions. Twenty five globulin patterns were found in the wild *P. acutifolius* while in the domesticated accesions there were only two. In the isozyme study 65 electromorphs were obtained on the wild forms and 15 on the cultivated accesions, showing a strong diminution of the genetic variability known as founder effect. The results suggest that the Mexican state of Jalisco is the possible center of domestication of tepary bean. However a second event of domestication, more recent, whose location could not be established, is not discarded. No clearcut separation between wild forms of the *P. acutifolius* has been observed.

Key words: *Phaseolus acutifolius*, Tepary bean, Variability, Electrophoresis, Protein, Isozyme, Domestication.

INTRODUCCION

Los recursos fitogenéticos constituyen la clave de la seguridad alimentaria y del desarrollo agrícola sostenible; mientras las áreas de tierra cultivable se mantienen fijas la población humana aumenta a ritmo vertiginoso, razón por la cual se hace necesario producir nuevas variedades de plantas y/o reutilizar especies tradicionales apropiadas para determinados ambientes y con diversos niveles de resistencia a factores bióticos y abióticos (CGIAR, 1994). Teniendo como marco el planteamiento anterior, la investigación agrícola debe dedicar especial atención a cultivos potencialmente utilizables en zonas áridas (las cuales limitan la producción de nuevos cultivos por la alta evapotranspiración, la carencia de agua y el incremento en los costos para extraer el agua del subsuelo)

y a favor la conservación de los recursos fitogenéticos que provienen de estas áreas.

El género *Phaseolus*, de origen americano, incluye cinco especies cultivadas (*P. vulgaris* L., *P. lunatus* L., *P. coccineus* L., *P. polyanthus* Greenm y *P. acutifolius* A. Gray), cada una con su ancestro reconocido, y 50 especies silvestres verdaderas (Debouck, 1991). *P. acutifolius* es nativo de México y la región sudoeste de los Estados Unidos. Formas silvestres y domesticadas de *P. acutifolius* se han utilizado por más de cinco milenios como fuente alimenticia en zonas desérticas o con larga temporada seca en Mesoamérica. Se puede adaptar como cultivo de subsistencia en las regiones áridas de África, Sur América, Asia, el Pacífico y las Islas del Caribe (Webster y Waines, 1985).

¹ Estudiante de Pregrado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. A.A. 237; ² Coordinador, Unidad de Recursos Genéticos. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), A.A. 6713, Cali, Colombia; ³ Profesor Asociado Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. A.A. 237.

Hasta el momento se reconocen dos variedades silvestres en *P. acutifolius*: *tenuifolius* de folíolos lineares-lanceolados, y *acutifolius*, con folíolos ovalado-lanceolados (Delgado Salinas, 1985). Esporádicamente aparece una tercera variedad silvestre con folíolos estrechamente falcados, que por sus características blastogénicas diferentes a la variedad *tenuifolius* y cierta incompatibilidad para su cruzamiento, podría ser otra especie (*P. parvifolius* Freytag) (Debouck, 1992).

El frijol tepari además de crecer en tierras áridas y de vivir independientemente de suplementos de agua (Thomas, 1983a), tolera altas concentraciones de sales y boro en el suelo, muestra resistencia al carbón del frijol (*Macrophomina phaseolina*), al añublo (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*) (Thomas et al., 1983b), al saltahoja (*Empoasca krameri*) (Galwey et al., 1985), y a una de las principales plagas del frijol almacenado *Acanthoscelides obtectus* (Shade et al., 1987). El contenido de proteína de *P. acutifolius* es alto (13 a 34%), comparado con el de leguminosas de grano (15 a 40%) y el de las diferentes variedades de frijol común (20 a 30%) (Scheerens et al., 1983).

No obstante todas las características ventajosas, *P. acutifolius* prácticamente ha desaparecido como cultivo; hoy en día tan sólo se encuentran pequeñas áreas establecidas en reservas indígenas o en zonas cercanas a ellas. Por tanto, el objetivo principal del estudio fue contribuir al entendimiento de la variabilidad genética y el proceso de domesticación de *P. acutifolius*. Los objetivos específicos fueron:

- Precisar el (los) lugar (es) de domesticación.
- Cuantificar el efecto fundador a través del proceso de domesticación, y
- Determinar patrones de diversidad genética en las formas silvestres según patrones medioambientales.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El estudio se llevó a cabo en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). En el análisis de las proteínas de reserva de la semilla se evaluaron 266 accesiones de *P. acutifolius*: 128 de la forma silvestre, 3 "escapadas" y 135 cultivados. Para seleccionarlas se tuvo en cuenta su representatividad y que tuvieran datos completos acerca de su origen. En las formas silvestres y "escapadas" se analizaron de tres a cinco semillas por accesión (con el fin de observar que tan significativa era la variabilidad intra-accesional), y en la forma cultivada sólo se analizó una.

En el análisis isoenzimático se evaluaron 91 accesiones (26 cultivados, 63 silvestres y 2 intermedios), selec-

*Formas intermedias entre silvestres y domesticadas

cionadas teniendo en cuenta que cubrieran todo el rango de distribución natural de la especie presente en la colección de germoplasma y que estuviera representada la diversidad encontrada en los análisis de proteínas de semilla. En el análisis se utilizó una semilla por accesión, teniendo en cuenta que la diversidad genética dentro de una población se reduce significativamente por factores tales como hábito de crecimiento anual, autogamia y tamaño reducido de la población (Loveless y Hamrick, 1984), todas estas características presentes en el frijol tepari. Igualmente, se consideró el hecho de que en los trabajos anteriores (Schinkel & Gepts, 1988, 1989) y en la primera etapa de este estudio, no se encontró variabilidad intra-accesional significativa.

Se destaca que en el estudio se contó con la colección de germoplasma más grande que se haya analizado, evaluando un importante número de accesiones por primera vez.

Los métodos utilizados fueron la electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio, en una (1D-SDS-PAGE) y en dos dimensiones (2D-IF-SDS-PAGE) y la electroforesis de isoenzimas en geles de almidón (SGE) y poliacrilamida (PAGE Simple).

Las proteínas de reserva se separaron en tres fracciones: Globulinas (43-56 KDa), PHA (40-33 KDa) y una fracción comprendida entre 22-29 KDa, (Figura 1).

Los 10 sistemas enzimáticos analizados se seleccionaron con base en un ensayo preliminar en el cual se probaron 17 enzimas, dos técnicas y tres tejidos (raíz, hojas y semillas). Los 15 loci polimórficos estudiados fueron: *Aco-2*, *Adh-1*, *Acp-1*, *Acp-2*, *Diap-1*, *Diap-2*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Prx*, *Got-1*, *Got-2*, *Pgm-2*, *Pgi-1*, *Pgi-2* y *Rbcs*.

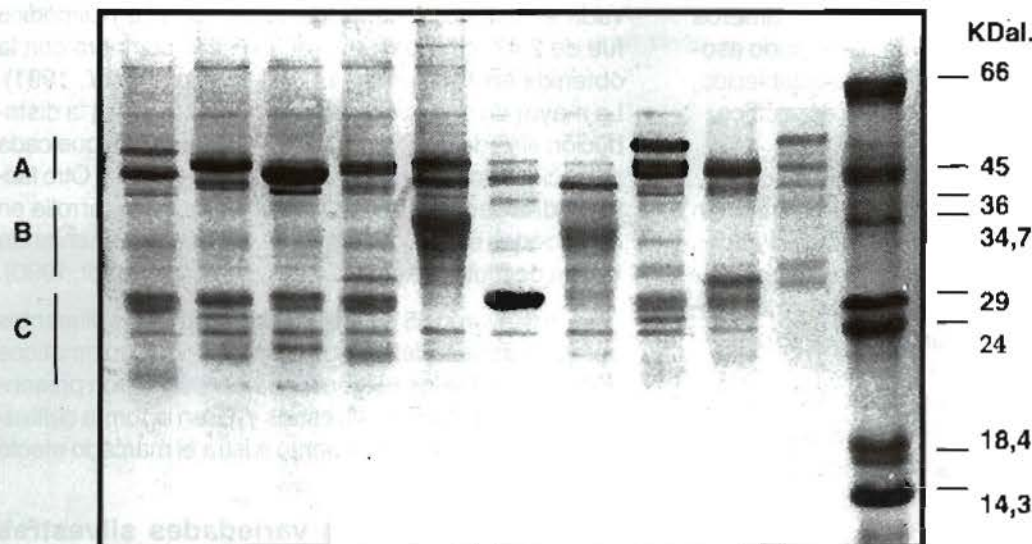
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis electroforético de las proteínas de reserva de la semilla

Globulinas

En el estudio se describieron 11 patrones adicionales para las formas silvestres y uno para las cultivadas, a los cuales se les designó un número romano consecutivo siguiendo la nomenclatura propuesta en el trabajo de Schinkel y Gepts (1988). Los resultados obtenidos en este estudio permiten establecer una mayor variabilidad genética para esta especie que la reportada previamente. Schinkel y Gepts (1988) reportan 14 patrones de globulinas dentro de las formas silvestres de tepari y sólo uno para la forma cultivada.

Este resultado es el reflejo de un mayor número de accesiones evaluadas, ya que Schinkel y Gepts (1988)



**FIGURA 1. Fracciones proteicas evaluadas en *P. acutifolius*.
A: Globulinas, B: PHA; C: 22-29 KDa.**

analizaron sólo 55 accesiones silvestres mientras que en este estudio se examinaron 128. Los patrones proteicos compartidos entre las variedades *acutifolius* y *tenuifolius* se pueden explicar por la procedencia de un ancestro común; el cual se bifurca debido a factores de selección por adaptación a medios contrastantes. También se pueden atribuir al intercambio de genes entre las dos formas botánicas.

En la forma cultivada también se observó mayor variabilidad proteica. En el estudio las accesiones domesticadas exhibieron dos perfiles de globulinas, el XI y el XIX, Schinkel y Gepts (1988) re-portan sólo el XI. Ni la gloulina XI ni la XIX se detectaron en las accesiones silvestres.

Distribución geográfica de los tipos de globulinas

Se encontraron algunos patrones de globulinas que permiten separar las accesiones provenientes de las vertientes este y oeste de la Sierra Madre Occidental en México (Fig. 2). Se sugiere entonces que esta cadena montañosa es una barrera geográfica, que ha impedido el flujo de genes entre sus dos franjas, coincidiendo en esta apreciación con Schinkel y Gepts (1988). La distribución excluyente podría ser el resultado de

la adaptación de diversos genotipos (los cuales originalmente poseían los diferentes tipos de globulinas) a las condiciones ambientales específicas de cada región. Se encontraron además, y con alta frecuencia, cuatro globulinas en accesiones de ambas regiones (II, IV, XXI y XXII). La presencia de estos patrones compartidos se debe probablemente a una migración, comprometiéndose diferentes mecanismos, desde el sitio en el cual se originaron hasta alcanzar

la distribución que ocupan en la actualidad. No es claro el mecanismo de distribución ya que por tratarse de formas silvestres no se conoce si los grupos humanos de la zona intervinieron en este proceso.

Otras fracciones proteicas de *P. acutifolius*

Se encontraron 10 patrones de PHA en los genotipos silvestres analizados, los cuales fueron nombrados con números cardinales consecutivos. En la forma domesticada sólo se observó un tipo de PHA, el cual se caracterizó por la baja o nula actividad.

En la fracción de 22-29 KDa aproximadamente se encontraron siete patrones, tres de ellos en la forma



FIGURA 2. Distribución geográfica de los tipos de globulinas en *P. acutifolius* silvestre a través de las franjas este y oeste de la Sierra Madre Occidental Mexicana

cultivada, los cuales fueron catalogados con números cardinales consecutivos. Esta fracción no se pudo asociar con ningún rango molecular previamente establecido, por lo cual no se le otorgó ningún nombre específico.

Análisis electroforético de isoenzimas

Para algunas de las enzimas, se encontró también polimorfismo en accesiones silvestres y domesticadas que no había sido reportado antes por otros investigadores. Tanto para la AAT como para la MDH se encontraron los dos loci polimórficos y un alelo nuevo para el locus 1 dos en el locus 2 (*Aat-1ⁿ*, *Aat-2⁹³*, *Aat-2⁹⁵*, *Mdh-1⁹⁰*, *Mdh-2ⁿ* y *Mdh-2ⁿ*). En la PRX, también se encontró un alelo adicional (*Prx⁹⁵*). Para Shinkel y Gepts (1989) estas tres enzimas eran monomórficas. Igualmente, para locus *Pgm-2* habían sido reportados entre uno y tres alelos (Shinkel y Gepts, 1989; Garvin *et al.*, 1989). En este estudio se encontraron cuatro (Figura 3). En la DIAP, Shinkel y Gepts (1989) encontraron cinco combinaciones alélicas, en el estudio se reportaron seis.

Variabilidad aloenzimática entre formas silvestres y domesticadas

La forma silvestre de *P. acutifolius* revela mayor número de loci polimórficos así como alto número de variantes por locus polimórfico comparadas con la forma cultivada. En las formas silvestres (*acutifolius* y *tenuifolius*) se observaron 15 loci polimórficos y siete en la forma culti-

vada; el número promedio de alelos por locus polimórfico fue de 2.47, cifra bastante alta si se le compara con la obtenida en *P. vulgaris* ($A/L = 2,1$) (Singh *et al.*, 1991). La mayor diversidad se debe probablemente a la distribución aislada de *P. acutifolius*, lo cual permite que cada población evolucione de manera independiente. Otro factor podría ser el hecho de que el tepari se desarrolla en condiciones extremas de sequía, las que incrementarían la tasa de mutaciones naturales (Hamrick y Godt, 1990).

Se observaron 65 genotipos, producto de las diferentes combinaciones alélicas de los 15 loci isoenzimáticos estudiados. De los 65 genotipos, 50 estuvieron presentes sólo en las formas silvestres y 15 en la forma cultivada, resultado que nuevamente ilustra el marcado efecto fundador en la especie.

Comparación de las variedades silvestres *acutifolius* y *tenuifolius*

A nivel bioquímico se observó gran similitud entre las dos variedades silvestres de *P. acutifolius*. Pese a que *P. acutifolius* es una especie autógama, la polinización cruzada ocasional no se puede descartar (Pratt y Nabhan, 1988), por lo cual el intercambio de genes entre las dos formas sería una explicación razonable al hecho de encontrar patrones compartidos tanto en proteínas de semilla como en isoenzimas.

Domesticación en *P. acutifolius*

La reducción en la variabilidad genética contrasta con

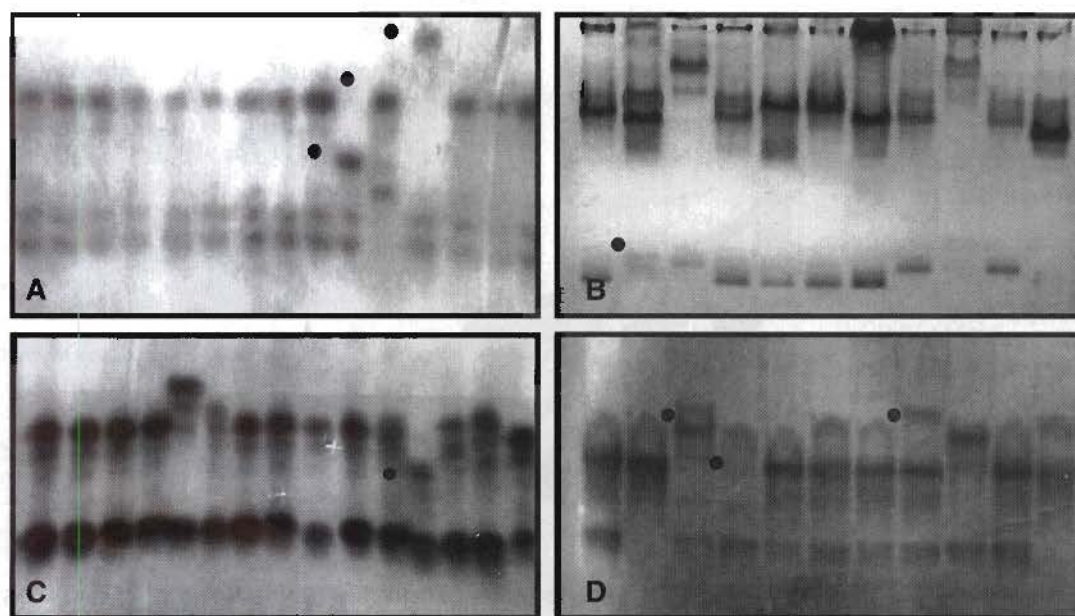


FIGURA 3. Nuevas formas aloenzimáticas detectadas en este estudio. A: MDH; B: PRX; C: PGM; D: ATT

la heterogeneidad de marcadores morfológicos tales como el tipo de semilla (color, forma), caracteres producto de una fuerte presión de selección en el proceso de domesticación, mientras que los marcadores bioquímicos presumiblemente no han sido influenciados por el hombre. Además los caracteres morfológicos, que distinguen las formas cultivadas de las silvestres, generalmente son altamente heredables y controlados por muy pocos genes que tienen una expresión fenotípica muy fuerte (Gepts, 1990).

Basándose en los resultados se pueden enunciar dos hipótesis acerca de la domesticación del frijol tepari:

- 1 : La domesticación ocurrió como único evento en una región determinada.
- 2 : La domesticación ocurrió en una o varias épocas en espacios diferentes.

La primera hipótesis sugiere que el proceso de domesticación se inició a partir de pocas poblaciones, en las cuales estaba presente una pequeña fracción de la variabilidad de la especie, lo cual se conoce como el efecto fundador. A pesar de que las formas silvestres se encuentran extendidas a lo largo de México y la región sur-occidental de Estados Unidos, el proceso de domesticación pudo involucrar sólo una pequeña zona en la cual estas pocas poblaciones estuvieron presentes. Una vez domesticada esta pequeña fracción se difundió rápidamente, fuera de los límites del grupo humano encargado de este primer evento. Las tribus Uto - Aztecas, habitantes de esta zona, tenían un comercio bien fundamentado ya desde tiempos muy lejanos, como lo confirman los hallazgos arqueológicos de grandes cantidades de frijol tepari, que aparentemente almacenaban para intercambiar dentro de un contexto algunas veces no tanto comercial como mítico (Nabhan y Felger, 1978).

Se encontraron dos perfiles de globulinas en las accesiones domesticadas, la globulina XI en casi todas y la XIX en una accesión proveniente de Durango. Ninguna accesión silvestre exhibió las globulinas XI y XIX. Esto se podría deber a que el ancestro silvestre de estas globulinas se ha extinguido o que todavía los individuos que las contienen no han sido muestreados. No obstante que los factores mencionados no permiten delimitar una (o varias) región (es) donde la domesticación ocurrió, sí se puede sospechar los aspectos que precedieron a la aparición de estos dos tipos de globulinas en las accesiones cultivadas. Se podría pensar que los dos tipos de globulinas provienen de dos poblaciones silvestres y que la domesticación de estos individuos ocurrió en espacios y tiempo distintos. Uno de los dos eventos sería reciente, lo cual explicaría el hecho de la poca difusión

de la globulina XIX en las poblaciones cultivadas actualmente. El tiempo ha sido el factor limitante en la diseminación de esta proteína. Otra explicación sería que la globulina XIX fue el producto de una mutación de la globulina XI y que todas las accesiones domesticadas provienen de una sola población silvestre, y que este suceso, igualmente reciente, ocasionó su división en los dos perfiles que hoy se pueden observar; lo que apoyaría la hipótesis de un sólo centro de domesticación.

Mediante el análisis isoenzimático se encontraron dos grandes grupos producto de las combinaciones alélicas. En el primer grupo, los tepari domesticados en general se encuentran genéticamente más cercanos a dos accesiones silvestres provenientes del estado de Jalisco (México) las cuales pertenecen a la variedad *acutifolius*. Previamente se propuso que el frijol tepari se domesticó a partir la variedad *acutifolius*, debido a la gran similitud observada entre los folíolos de ambas formas y el hecho de que la variedad *acutifolius* coloniza con mayor frecuencia hábitats disturbados por el hombre (Pratt y Nabhan, 1988). En una de las accesiones silvestres (G40106) se encontró homología absoluta con la accesión domesticada (G40032) proveniente de Zacatecas. Este resultado permite postular que Jalisco fue el centro de domesticación del frijol tepari y que la domesticación ocurrió a partir de la variedad *acutifolius*.

Garvin & Weeden (1994) ya habían propuesto a Jalisco como centro de domesticación pero en su trabajo no pudieron precisar si era Jalisco o Sinaloa. Schinkel y Gepts (1988, 1989) propusieron un único espacio para la domesticación del tepari el cual pudo ocurrir en cualquiera de los estados de Sinaloa, Sonora o Durango. En este estudio no se encontraron evidencias que involucren a estos estados como centro de domesticación.

Ahora bien, la accesión domesticada, G40084, presentó alto grado de diferenciación con las otras (>0.799) y con las silvestres (>0.863) de los sitios de recolección. Esta observación establece nuevamente la posibilidad de un segundo evento de domesticación, cuyo espacio no pudo determinarse en el estudio, puesto que no se encontró la respectiva contraparte silvestre.

La hipótesis de dos eventos de domesticación ya había sido planteada por Manshardt y Waines (1983) y por Pratt y Nabhan (1988). Un evento en la región conocida como Aridoamérica (la cual comprende la parte suroccidental de USA y el Noroccidente de México) y el otro evento en Mesoamérica, donde está localizado Jalisco. Manshardt & Waines (1983) sugirieron a Jalisco y Sonora como posibles lugares donde la domesticación tuvo sus orígenes.

Evidencias relacionadas con la especiación de *P. parvifolius*

Las diferencias entre *P. acutifolius* y *P. parvifolius*, no son muy claras a nivel de las pruebas bioquímicas. Tanto en las proteínas de reserva de semilla como en los de isoenzimas, no se observó la presencia de patro-

nes que puedan discriminar estas dos especies, solamente el alelo Aat-2⁹⁵ fue el único marcador bioquímico capaz de separar las dos especies.

Lo que si se pudo determinar es que entre las dos variedades silvestres de *P. acutifolius*, la variedad *tenuifolius* es la más cercana a *P. parvifolius*.

BIBLIOGRAFIA

- CGIAR, 1994 El hombre y las plantas, La agenda para el desarrollo. Roma: IPGRI. 13p.
- DEBOUCK, D.G., 1991 Systematics and morphology. In: A. V. SCHOONHOVEN and O. VOYSEST (eds.) Common beans: research for improvement. Cali, Colombia. p. 55-118.
- , 1992 Frijoles, *Phaseolus* spp. In: E. HERNÁNDEZ BERMEJO and J. LEÓN (eds.) Cultivos marginados: otra perspectiva de 1492. Rome: FAO. p. 45-60.
- DELGADO SALINAS, A., 1985 Systematics of the genus *Phaseolus* (Leguminosae) in North and Central America. PhD thesis-The University of Texas.
- GALWEY, N.W.; TEMPLE, S.R. and SCHOONHOVEN, A. 1985 The resistance of genotypes of two species of *Phaseolus* beans to the leafhopper *Empoasca kraemeri*. Ann. Appl. Biol. 107: 147-150.
- GARVIN, D.F.; ROOSE, M.L. and WAINES, J.G. 1989 Isozyme genetics and linkage in tepary bean, *Phaseolus acutifolius* A. Gray. J. Hered. 80: 373-376.
- GARVIN, D.F. and WEEDEN, N.F. 1994 Isozyme evidence supporting a single geographic origin for domesticated tepary bean. Crop Sci. 34: 1390-1395.
- GEPTS, P., 1990. Genetic diversity of seed storage proteins in plants. In: A. D. H. BROWN, M. CLEGG, A. KÄHLER and B. WEIR (eds.) Plant populations genetics, breeding and genetic resources. Sunderland: Sinauer. p. 64-82.
- HAMRICK, J.L. and GODT, M.J.W. 1990 Allozyme diversity in plant species. In: A. D. H. BROWN, M. Clegg, A. Kähler and B. Weir (eds.) Plant populations genetics, breeding and genetic resources. Sunderland: Sinauer. p. 43-63.
- LOVELESS, M.D. and HAMRICK, J.L. 1984 Ecological determinants of genetic structure in plant populations. Ann. Rev. Ecol. Syst. 15: 65-95.
- MANSHARDT, R.M. and WAINES, J.G. 1983 Isozyme variation and the origin of domesticated tepary beans (*Phaseolus acutifolius* Gray). Annu. Rept. Bean Improvement Coop. 26: 18-19.
- NABHAN, G.P. and FELGER, R.S. 1978 Teparies in southwestern North America - A biogeographical and ethnohistorical study of *Phaseolus acutifolius*. Econ. Bot. 32: 2-19.
- PRATT, R.C. and NABHAN, G.P. 1988 Evolution and diversity of *Phaseolus acutifolius* genetic resources. In: P. GEPTS (ed.) Genetic Resources of *Phaseolus* Beans. Dordrecht: Kluwer. p. 409-440.
- SCHEERENS, J.C.; TINSLEY, A.M.; ABBAS, I.R., Weber, C.W. and BERRY, J.W. 1983 The nutritional significance of tepary bean consumption. Desert Plants. 5: 11-14; 50-56.
- SHADE, R.E.; Pratt, R.C. and POMEROY, M.A. 1987 Development and mortality of the bean weevil, *Acanthoscelides oblectus* (Coleoptera: Bruchidae), on mature seeds of tepary beans, *Phaseolus acutifolius*, and common beans, *Phaseolus vulgaris*. Environ. Entomol. 16: 1067-1070.
- SCHINKEL, C. and GEPTS, P. 1988 Phaseolin diversity in the tepary bean, *Phaseolus acutifolius* A. Gray. Plant Breeding. 101: 292-301.
- , 1989 Allozyme variability in the tepary bean, *Phaseolus acutifolius* A. Gray. Plant Breeding. 102: 182-195.
- SINGH, S.P.; NODARI, R. and GEPTS, P. 1991 Genetic diversity in cultivated common bean: 1 Allozymes. Crop Sci. 31: 19-23.
- THOMAS, C.V., 1983a Genetic, morphological and physiological studies of drought and heat resistance in tepary beans (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) and common beans (*P. vulgaris* L.). PhD. Thesis-Riverside, University of California.
- THOMAS, C.L.; MANSHARDT, R.M. and WAINES, G. 1983b Teparies as a source of useful traits for improving common beans. Desert Plant. 5: 43-48.
- WEBSTER, B.D. and WAINES, J.G. 1985 Tepary beans: a resource for improvement of common beans. Research Highlights, Michigan State University Bean/Cowpea CRSP. USA. Vol. 2 (3)