

INCORPORACION DE GENES DE RESISTENCIA DOMINANTE Y RECESIVA A CEPAS DEL VIRUS DEL MOSAICO COMUN EN DOS VARIETADES COMERCIALES DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.)

Silvia R. Caceres O.*

Francisco J. Morales **

COMPENDIO

Se logró incorporar resistencia monogénica de tipo dominante hipersensible al mosaico común, en líneas F_4 y F_5 de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) que poseen características comerciales de grano similares a la variedad Diacol Calima, susceptible a esta importante enfermedad viral. Se confirmó, sin embargo, que existe ligamiento genético entre el tono oscuro del color rojo moteado, característico de Diacol Calima, y los factores de resistencia al mosaico común. Genes de resistencia recesiva, efectivos contra cepas necróticas del virus del mosaico común (BCMV), se combinaron con el gen hipersensible dominante presente en la variedad de frijol Royal Red, la cual es resistente al mosaico común pero susceptible a las cepas necróticas del BCMV. Se espera que la incorporación simultánea de resistencia múltiple, dominante y recesiva, en líneas de frijol las proteja contra todas las cepas conocidas del BCMV.

ABSTRACT

Monogenic dominant resistance was incorporated in F_4 and F_5 lines possessing commercial grain type characteristics similar to those of Diacol Calima, a mosaic-susceptible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar of economic importance in Colombia. This study, however, confirmed, earlier reports indicating the existence of linkage between l-gene hypersensitive resistance to BCMV and the darker red (purple) color. Simultaneously, recessive genes, effective against necrotic BCMV strain capable of challenging the hypersensitive gene which conditions dominant resistance to common mosaic, were successfully combined with the dominant hypersensitive gene in red kidney grain type derived from the var. Royal Red. It is expected that this kind of multiple resistance, dominant and recessive, would protect bean genotypes against all of the known BCMV strains.

* Estudiante de pre-grado. Universidad Nacional de Colombia. Palmira

** Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT. A.A. 6713, Cali, Colombia.

1. INTRODUCCION

El virus del mosaico común del frijol (BCMV: bean common mosaic virus), se ha distribuido universalmente debido a su transmisión por la semilla y por varias especies de áfidos. La incorporación de resistencia al BCMV ha sido una de las prácticas de control más aconsejables y perseguidas, debido a la dificultad de obtener semilla libre de virus o de efectuar un control químico eficiente del insecto vector.

Existe un tipo de resistencia hipersensible dominante que previene la infección sistemática crónica por el virus y su transmisión en la semilla de plantas infectadas (Ali, 1). Existen, también, un número de genes recesivos que confieren resistencia a cepas específicas del BCMV (Drijfhout, 2). El uso de genes recesivos no se ha recomendado debido a la existencia de cepas del BCMV capaces de atacarlos. Algunos de estos genes recesivos protegen el gen I contra cepas del BCMV que inducen necrosis sistemática en plantas con resistencia monogénica dominante. A pesar de que la ocurrencia de necrosis sistémica es un evento raro en cultivos comerciales de variedades resistentes al mosaico común, la protección de estos genotipos es un objetivo importante en varios centros de investigación.

Vale la pena anotar que la incorporación del gen I ha sido difícil en determinados tipos de grano (rojo moteado, bayos, rojo no moteado, etc.), sin que cambien las características comerciales del grano. Algunos trabajos realizados en el CIAT han demostrado la existencia de ligamiento genético entre ciertos colores de grano y la susceptibilidad al BCMV (Temple, 3).

Basado en lo anterior, el trabajo tuvo como objetivos: incorporar resistencia dominante (gen I) al mosaico común del frijol en la variedad Diacol Calima; seleccionar líneas con resistencia múltiple mediante la combinación de genes de resistencia recesiva con el gran dominante I y establecer la frecuencia relativa de recombinación de genes recesivos, efectivos contra cepas necróticas con el gen dominante I.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El trabajo se realizó en condiciones de invernadero (26°C y 82 o/o de humedad) en el Centro Internacional de Agricultura Tropical-CIAT, utilizando semilla libre de patógenos y genéticamente pura de las variedades de frijol Diacol Calima, Royal Red (tipo Red Kidney) y Red Mexican U I 35 (grupo Great Northern 31) y las cepas Florida, NL 3 (necróticas) y NL 4 del BCMV (Cuadro 1).

Cuadro 1

Variedades parentales de frijol y genotipo de resistencia al BCMV

No. CIAT	Variedad	Características de grano		Hábito de Crecimiento	Genotipo de resistencia *		
		Color	Peso/ 100 semillas				
G 04494	Diacol Calima	Rojo moteado	47 g	Determinado	bc - u ⁺ ,	bc - l ⁺ ,	bc - 2 ⁺
G 04450	Royal Red	Rojo	49 g	Determinado	bc - u ⁺ ,	bc - l,	bc - 2 ⁺
G 06384	Red Mexican UI 35	Rojo	27 g	Indeterminado	bc - u ,	bc - l ² ,	bc - 2 ²

* (Drijfhout, 2)

Los materiales se cruzaron utilizando la técnica de hibridación por emasculación con estigma cubierto. Las progenies F_2 , F_3 , F_4 y F_5 del cruzamiento Diacol Calima x Royal Red se inocularon manualmente con las cepas Florida y NL3. Para preparar el inóculo se maceraron trifolios de plantas con síntomas de mosaico de 15 días de edad, agregando solución amortiguadora (fosfato de potasio 0.01 M, pH 7.5) hasta una dilución de 1: 10 (p/v). Las plantas que presentaron síntomas se consideraron como susceptibles.

En la prueba de necrosis, utilizada para distinguir plantas con el gen I de aquellas que poseían genes recesivos (I^+ I^+) en las progenies agregantes, hojas primarias inoculadas con la cepa NL3, se colocaron en cámara húmeda para observar el desarrollo de necrosis de nervaduras en plantas que poseían el gen dominante I. El cruzamiento Royal Red x Red Mexican UI35 se realizó con el fin de recombinar los genes recesivos $bc-u$, $bc-1^2$ y $bc-2^2$, que posee Red Mexican UI 35, con el gen I, presente en Royal Red.

Las plantas F_2 y F_3 del cruzamiento Royal Red x Red Mexican UI35 se inocularon con una mezcla de las cepas NL3 + NL4, con el fin de descartar las susceptibles al BCMV que reaccionaron al mosaico y a la necrosis sistémica.

3. RESULTADOS

3.1. Cruce Diacol Calima x Royal Red.

En la F_1 se colectaron 46 semillas con testa roja moteada, grandes, semialargadas y brillantes. La combinación genética de esta generación fue: $I I^+$, $bc-u^+$, $bc-u^+$, $bc-I^+ bc-1$.

En cuanto al color de la testa de la semilla F_2 , se diferenciaron dos grupos: habano con listas moradas (746 semillas) y morado con pocas pintas habanas (14 semillas). El grano en ambos grupos fue mediano, semi-alargado y semi-brillante.

De las 746 plantas F_2 pertenecientes al primer grupo, 612 permanecieron sin síntomas, se consideraron como resistentes y se cosecharon masalmente. De las 14 plantas F_2 del segundo grupo, 13 permanecieron sin síntomas, siendo cosechadas individualmente (Cuadro 2). En la generación de semillas F_3 se presentó segregación en cuanto al color de la testa de la semilla, forma, tamaño, brillo y peso.

Todas las plantas de algunas selecciones de las generaciones F_3 , F_4 y F_5 reaccionaron positivamente a la prueba de necrosis (Cuadros 3, 4 y 5), indi-

Cuadro 2

Reacción de las plantas de la generación F₂ del cruce Diacol Calima x Royal Red a la inoculación con la cepa Florida del BCMV

Grupos	No. Plantas		X ²	P
	Observadas	Esperadas 3:1		
Primer grupo	R: 612	559.5	4.92	< 0.001
	S: 134	186.5	14.77	
Segundo grupo	R: 13	10.5	0.59	> 0.1
	S: 1	3.5	1.78	

R: Sin síntomas

S: Mosaico sistémico

Cuadro 3

Resultados de las pruebas de necrosis e inoculación con la cepa Florida del BCMV en las plantas de las selecciones individuales F₃ del cruce Diacol Calima x Royal Red.

SI	No. plantas	Reacción				Genotipo *
		Prueba de necrosis		Florida		
		+	-	R	S	
A - 1	10	10	0	10	0	II
A - 4	10	10	0	10	0	II
A - 8	22	22	0	22	0	II
A - 12	20	20	0	20	0	II
A - 2	9	0	9	0	9	I* I*
A - 3	13	10	3	10	3	II*
A - 5	23	22	1	22	1	II*
A - 6	18	17	1	17	1	II*
A - 7	18	11	7	11	7	II*
A - 9	23	21	2	21	2	II*
A - 10	16	13	3	13	3	II*
A - 11	23	21	2	21	2	II*
A - 13	19	16	3	16	3	II*

SI = Selección individual.

R = Sin síntomas

S = Mosaico sistémico

+ = Necrosis sistémica

- = Sin síntomas

Proporción R: S = 3: 1

X² combinando sólo las familias heterocigotas: 9.20

Probabilidad: > 0.001

* El genotipo II se asignó sólo a aquellas familias que presentaron mínimo 10 plantas con reacción + a la prueba de necrosis y ninguna con reacción -.

Cuadro 4

Resultados de las pruebas de necrosis e inoculación con la cepa Florida del BCMV en plantas de las familias F₄ seleccionadas del cruce Diacol Calima x Royal Red.

Familia	No. plantas	Reacción				Sin reacción	Genotipo*
		Prueba de necrosis		Florida			
		+	-	R	S		
A-1-2	1	0	1	0	1		
A-1-3	2	1	1	1	1		II*
A-1-4	2	2	0	2	0		
A-1-5	1	1	0	1	0		
A-1-7	1	1	0	1	0		
A-6-1	12	12	0	12	0		II
A-6-2	11	11	0	11	0		II
A-6-3	9	9	0	9	0		
A-6-4	7	7	0	7	0		
A-6-6	14	14	0	14	0		II
A-6-7	5	5	0	5	0		
A-6-8	10	10	0	10	0		II
A-6-9	9	9	0	9	0		
A-6-10	7	7	0	7	0		
A-6-11	5	4	1	4	1		II*
A-6-12	7	6	1	6	1		II*
A-6-13	3	3	0	3	0		
A-6-15	5	5	0	5	0		
A-6-16	6	6	0	6	0		
A-7-2	3	2	1	3	0	1	II*
A-11-2	16	6	10	13	3	7	II*
A-11-3	14	7	7	9	5	2	II*
A-11-4	16	10	6	12	4	2	II*
A-11-5	16	13	3	16	0	3	II*
A-11-7	12	8	4	9	3	1	II*
A-11-8	13	11	2	12	1	1	II*
A-11-12	19	19	0	19	0		II
A-11-17	17	11	6	14	3	3	II*
A-11-18	12	12	0	12	0		II
A-11-19	8	8	0	8	0		
A-13-1	3	3	0	3	0		
A-13-2	3	3	0	3	0		
A-13-3	3	2	0	3	0	1	II*
A-13-4	5	5	1	5	0		
A-13-5	2	2	0	2	0		
A-13-10	1	1	0	1	0		
A-13-11	2	1	1	1	1		II*
A-13-12	3	3	0	3	0		
A-13-15	4	3	1	3	1		II*

R = Sin síntomas S = Mosaico sistémico + = Necrosis sistémica

- = Sin síntomas

* El genotipo II se asignó sólo a aquellas familias que presentaron mínimo 10 plantas con reacción + a la prueba de necrosis y ninguna con reacción -.

Cuadro 5

Resultados de las pruebas de necrosis e inoculación con la cepa Florida del
 BCMV en plantas de las familias F₅ del cruce Diacol Calima x
 Royal Red

Familia	No. plantas	Reacción				Genotipo**
		Prueba de necrosis		Florida		
		+	-	R	S	
A-7-2-1*	11	0	11	0	11	I ⁺ I ⁺
A-7-2-2	17	11	6	11	6	II ⁺
A-11-2-1*	5	0	5	0	5	I ⁺ I ⁺
A-11-2-2*	4	4	0	4	0	
A-11-2-3*	17	8	9	8	9	II ⁺
A-11-2-4*	5	4	1	4	1	II ⁺
A-11-2-5*	5	5	0	5	0	
A-11-2-6*	6	6	0	6	0	
A-11-2-7*	3	3	0	3	0	
A-11-4-1*	8	0	8	0	8	I ⁺ I ⁺
A-11-4-2*	4	0	4	0	4	I ⁺ I ⁺
A-11-4-9	19	15	4	15	4	II ⁺
A-11-8-1	17	0	17	0	17	I ⁺ I ⁺
A-11-8-2*	4	4	0	4	0	
A-11-17-1*	4	0	4	0	4	I ⁺ I ⁺
A-11-17-2*	3	0	3	0	3	I ⁺ I ⁺
A-11-17-3*	3	0	3	0	3	I ⁺ I ⁺
A-11-17-4	11	0	11	0	11	I ⁺ I ⁺
A-11-17-12	13	13	0	13	0	II
A-11-19-1	4	0	4	0	4	I ⁺ I ⁺
A-11-19-2	6	0	6	0	6	I ⁺ I ⁺
A-13-3-1*	11	0	11	0	11	I ⁺ I ⁺
A-13-3-2	7	6	1	6	1	II ⁺
A-13-3-3	6	4	2	4	2	II ⁺

+ : Necrosis sistémica

- : Sin síntomas

* : Familias provenientes de plantas sin reacción en la generación F₄

** : El genotipo II se asignó sólo a aquellas familias que presentaron mínimo 10 plantas con reacción + a la prueba de necrosis y ninguna con reacción -.

cando la presencia del gen dominante I en condición homocigota. En ciertas selecciones se encontraron plantas que reaccionaron positivamente, mientras que otras no reaccionaron, lo cual indica la presencia de plantas con genes I — y I⁺ I⁺. Como era de esperarse al ser inoculadas con la cepa Florida, algunas plantas presentaron síntomas de mosaico; otras selecciones tuvieron pocas plantas con las cuales formar un genotipo hipotético.

Finalmente, un grupo de plantas de diferentes familias F₄, reaccionaron negativamente, tanto a la prueba de necrosis (NL3) como a la de mosaico (Florida), habiéndose descartado también la posibilidad de una infección latente mediante microscopía electrónica.

Vale la pena observar que en las generaciones F₄ y F₅ aún se sigue presentando segregación del color de la testa de la semilla, con predominio del morado-moteado sobre rojos y cremas.

2. Cruce Royal Red x Red Mexican UI 35.

Se cosecharon 80 semillas F₁ medianas, rojas, semi-alargadas y semi-brillantes. La constitución genética de esta generación con relación al BCMV fue: II⁺ bc-u⁺ bc-u, bc-1 bc-1², bc-2⁺ bc-2².

En la F₂ se obtuvieron 1952 semillas moradas, semi-alargadas, semi-brillantes y con paredes del hilum de color negro.

Al inocular las plantas F₂ con una mezcla de las cepas NL3 + NL4, 16 presentaron lesiones locales (resistentes) y 1080 necrosis sistémica (susceptibles). Un tercer grupo de 430 plantas manifestó síntomas de mosaico, mientras que 44 plantas no presentaron ningún síntoma. La conformación genética de este último grupo de plantas será objeto de un estudio futuro. El resto de semillas tuvo problemas de germinación (Cuadro 6).

De las 16 plantas F₂ con lesiones locales, se eliminó una que poseía el BCMV en forma latente. Se obtuvieron 403 semillas F₃ las cuales presentaron segregación en cuanto al color de la testa, tamaño, forma, brillo y peso. Al inocular las familias F₃ con las cepas NL3 + NL4 se presentaron síntomas de mosaico sistémico, necrosis sistémica y lesiones locales (Cuadro 7). Se aprecia también que las familias B-2, B-12 y B-16 son homocigotas por su resistencia tanto al mosaico como a la necrosis sistémica, ya que presentaron exclusivamente lesiones locales necróticas.

En la generación F₃ se esperaban dos tipos de síntomas después de inocular con la mezcla de las cepas NL3 + NL4: lesiones locales y mosaico sistémico, ya que las plantas resistentes seleccionadas en F₂, teóricamente

Cuadro 6

Reacción de las plantas de la generación F₂ del cruce Royal Red x Red Mexican UI 35 a la inoculación con las cepas NL₃ + NL₄ del BCMV

Reacción	No. Plantas		X ²	P
	Observadas	Esperadas 9:3:180:64*		
Sin síntomas	44	55.16	2.25	< 0.10
Lesiones locales	15	18.38	0.62	
Necrosis sistémica	1080	1103.20	0.48	
Mosaico sistémico	430	392.25	3.63	

* El número de plantas esperadas se calculó con base en el siguiente modelo genético:

Genotipo	Reacción	Frecuencia
1. l __, bc-u bc-u, bc-1 bc-1 ² , bc-2 ² bc-2 ² l __, bc-u bc-u, bc-1 bc-1, bc-2 ² bc-2 ²	Sin síntomas	9/256
2. l __, bc-u bc-u bc-1 ² bc-1 ² , bc-2 ² bc-2 ²	Lesiones locales	3/256
3. l __, bc-u ⁺ __, bc-1 __, bc-2 ⁺ __ l __, bc-u bc-u, bc-1 __, bc-2 ⁺ __ l __, bc-u ⁺ __, bc-1 __, bc-2 ² bc-2 ² l __, bc-u ⁺ __, bc-1 ² __, bc-2 ⁺ __ l __, bc-u bc-u, bc-1 ² __, bc-2 ⁺ __ l __, bc-u ⁺ __, bc-1 ² __, bc-2 ² bc-2 ²	Necrosis sistémica	180/256
4. l ⁺ l ⁺ , __ __, __ __, __ __	Mosaico sistémico	64/256

__ : El gen puede estar en forma dominante o recesiva, y en el caso del locus bc-1 podría ser el alelo bc-1 ó el bc-1².

Cuadro 7

Resultados de la inoculación con mezcla de las cepas NL₃ y NL₄ del BCMV en plantas de las familias F₃ del cruce Royal Red x Red Mexican UI 35

Familia	No. de plantas con reacción			
	S	Sn	Rn	Rd
B-1	34	0	0	
B-2	0	0	31	
B-3	0	4	12 ⁺	
B-5	3	5	10 ⁺	
B-6	1	2	22 ⁺	
B-7	3	4	10 ⁺	
B-8	0	37	2 ⁺	
B-9	0	1	0	19 [*]
B-10	1	4	12 ⁺	
B-11	8	43	0	
B-12	0	0	40	
B-13	0	0	4 ⁺	
B-14	0	1	12 ⁺	
B-15	0	0	0	9 [*]
B-16	0	0	17	

S = Mosaico sistémico

Sn = Necrosis sistémica

Rn = Lesiones locales punteadas necróticas

Rd = Reacción de defensa

+ = Lesiones locales necróticas agrandadas.

* = Lesiones punteadas rojas

— = Arrugas y deformación foliar

presentaban los genotipos $I-$, $bc-u\ bc-u$, $bc-1^2\ bc-1^2$, $bc-2^2\ bc-2^2$. Sin embargo, se registraron 101 plantas con necrosis sistémica, lo cual indicaba que alguno de los genes recesivos $bc-u$ ó $bc-2^2$ estaba en forma heterocigota. En la generación de semillas F_4 se presentó segregación en cuanto al color de la testa, forma, tamaño, peso y brillo.

4. DISCUSION

Los resultados de la evaluación de 39 familias F_4 y 24 F_5 provenientes del cruzamiento Diacol Calima x Royal Red muestran que no se presentó ningún recombinante de las características deseadas: resistencia al BCMV (gen I) y color de la testa rojo moteado. Esto confirma el ligamiento, anotado por Temple (3), entre los colores oscuros de las semillas rojo-moteado y el gen dominante I .

De acuerdo con la manifestación de lesiones locales en las plantas F_2 del cruce Royal Red x Red Mexican UI 35, se puede suponer que, además del gen I , estaban presentes en forma homocigota los genes recesivos $bc-u$, $bc-1^2$. Sin embargo, el gen $bc-1^2$ puede estar o no presente, siendo necesario solamente la presencia de los genes $I-$, $bc-u\ bc-u$ y $bc-2^2\ bc-2^2$ para la expresión de lesiones locales (Drijfhout, 2).

Es posible que las combinaciones genéticas $bc-1\ bc-1$ y $bc-1\ bc-1^2$, al reunirse con $I-$, $bc-u\ bc-u$, $bc-2^2\ bc-2^2$, hayan alterado la expresión de las lesiones locales y por lo tanto las frecuencias esperadas.

Todas las plantas que poseían los genes $I^+ I^+$, fueron atacadas por la cepa NL4, manifestando síntomas de mosaico. Además, se supone que aquellas plantas portadoras del gen dominante I y de los recesivos $bc-u$ y $bc-2^2$ (cualquiera de los dos o ambos en forma heterocigota o dominante), presentaron necrosis sistémica (Cuadro 6).

Los resultados obtenidos en la prueba de las familias F_3 (Cuadro 7) muestran la posibilidad de que alguno de los genes recesivos ($bc-u$ ó $bc-2^2$) estuviera en forma heterocigota en aquellas plantas clasificadas como resistentes a la necrosis sistémica en F_2 . Posiblemente, debido a la influencia de los genes $bc-1\ bc-1$ ó $bc-1\ bc-1^2$, dichas plantas manifestaron síntomas similares a lesiones locales y al segregar en F_3 genotipos $bc-u^+ bc-u^+$ ó $bc-2^+ bc-2^+$ produjeron plantas susceptibles a la necrosis sistémica. Quizá en el momento de hacer la clasificación en F_2 , se tomaron como resistentes a la necrosis sistémica plantas que presentaron síntomas no típicos de lesiones locales.

Mediante el cruzamiento de los materiales Royal Red x Red Mexican UI 35 se obtuvieron 4 familias F_4 con resistencia múltiple (dominante y recesiva) a la necrosis sistémica. Estas poseen características de grano similares a las del progenitor Royal Red. Es posible que en generaciones avanzadas, ó mediante retrocruzamiento, se logre mejorar las características comerciales de color y tamaño exigidas para estos tipos de grano.

Resumiendo, en este estudio se demostró la posibilidad de obtener líneas de frijol resistentes al mosaico y a la necrosis sistémica causados por cepas del virus del mosaico común, siguiendo técnicas de cruzamiento e inoculación relativamente sencillas. La selección de líneas de frijol con características comerciales de grano, por el contrario, exige la implementación de una metodología paralela de mejoramiento genético, como el retrocruzamiento, para mantener las características comerciales de los tipos de granos estudiados. La confirmación de la existencia de ligamiento genético entre ciertos colores y la susceptibilidad al BCMV, también sugiere la necesidad de realizar una selección amplia de materiales parentales con el fin de romper el ligamiento mediante una combinación favorable. Finalmente, la observación de la frecuencia apreciable de recombinación de genes de resistencia recesiva y dominante, hace posible recomendar un incremento en el número de poblaciones segregantes con la finalidad de aumentar las posibilidades de seleccionar líneas con resistencia múltiple al BCMV, que posean granos de características comerciales.

4. CONCLUSIONES

- 4.1. Mediante el cruzamiento de los materiales Diacol Calima x Royal Red, se obtuvieron 6 familias F_4 y 1 F_5 con el gen de resistencia dominante I en condición homocigota y grano de interés comercial para el mercado colombiano.
- 4.2. Se confirmó el ligamiento entre el gen I y el tono oscuro de la semilla rojo moteado. Sin embargo, es posible obtener familias con resistencia dominante y grano morado-moteado, aparentemente aceptable en el mercado.
- 4.3. En la generación F_3 del cruzamiento de las variedades Royal Red x Red Mexican UI 35, se obtuvieron 3 familias con resistencia múltiple, dominante y recesiva, a las cepas del BCMV conocidas hasta el momento.
- 4.4. Mediante la selección individual de plantas F_3 del cruce Royal Red x Red Mexican UI 35, resistentes a la necrosis sistémica, se obtuvieron 4 familias F_4 con una tonalidad muy similar a la del progenitor Royal

Red, de potencial en el mercado internacional.

- 4.5. La expresión de lesiones locales punteadas, características de genotipos que poseen resistencia múltiple al BCMV, necesita un estudio genético intensivo.

5. BIBLIOGRAFIA

1. ALI, M. A. Genetics of resistance to the common bean mosaic virus (bean virus 1) in the bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Phytopathology* 40:69 - 79. 1950.
2. DRIJFHOUT, E. Genetic interactions between *Phaseolus vulgaris* and bean common mosaic virus with implications for strain identification and breeding for resistance. Doctoral thesis. Wageningen, Center for Agricultural Publishing and Documentation, 1978. 98 p.
3. TEMPLE, S. R. Linkage of dominante hypersensitive resistance to BCMV to seed color in *Phaseolus vulgaris* L. Presented at the 1983 Bean Improvement Cooperative Meeting, Minneapolis, November 1983.