

USO DE MARCADORES MOLECULARES EN POROTOS (*Phaseolus vulgaris* L.)

O. Mario Paredes C.

Centro Regional de Investigaciones Quilamapu
Instituto de Investigaciones Agropecuarias
Chillán, Chile.

INTRODUCCIÓN

El fréjol es un cultivo importante en muchos países de Latinoamérica y de África. En Chile, la importancia de este cultivo se ve reflejada en varios aspectos: a) económico, el producto cosechado contribuye, por un lado, a una parte importante de la dieta alimenticia de un sector de la población chilena, y por otro lado, parte de la producción es vendida al exterior, lo cual mejora el ingreso de los productores y contribuye a una generación importante de divisas para el país; b) social, es un cultivo sembrado fundamentalmente por medianos y pequeños agricultores, generando un importante nivel de empleo; c) nutricional, el fréjol es un alimento rico en proteínas, bajo en grasas, alto en fibra de buena calidad y su consumo es altamente recomendado por sus beneficios en la salud humana y d) agronómico, el fréjol como leguminosa aporta nitrógeno al suelo y forma parte de la rotación de cultivos de muchas empresas agrícolas donde contribuye en forma importante a la sanidad y sustentabilidad de la producción agrícola.

El nivel tecnológico del fréjol, en el país es bajo, es decir, el nivel de mecanización, uso de variedades mejoradas, semilla certificada, fertilizantes, y prácticas de riego recomendadas es escaso, todo lo cual redundaría negativamente en su producción. Esta situación hace que el fréjol esté enfrentado a una fuerte competencia y a problemas de rentabilidad que amenazan seriamente su supervivencia y/o el mejoramiento de sus condiciones actuales de producción.

Bajo estas condiciones, los programas de mejoramiento genético con el apoyo de la biotecnología, recursos genéticos y el uso de mutación,

deberían estar principalmente enfocados a desarrollar cultivares altamente eficientes, de alto rendimiento y calidad, a un bajo costo. Esta estrategia, unida a un mayor procesamiento agroindustrial del producto, podría favorecer una mayor competitividad y rentabilidad del cultivo.

El objetivo de este trabajo es dar a conocer algunos ejemplos del uso actual y potencial de los marcadores moleculares en fréjol y su posible contribución al mejoramiento de la productividad de esta especie.

USO DE LOS MARCADORES MOLECULARES

Los marcadores moleculares en fréjoles han sido incorporados recientemente en una serie de estudios relacionados con evolución, diversidad genética, construcción de mapas genéticos, selección de plantas en programas de mejoramiento genético y caracterización de cultivares.

Evolución

En fréjol, los marcadores bioquímicos, como la faseolina (mayor componente de la proteína de la semilla) han sido utilizados para estudiar una serie de aspectos, relacionados con la domesticación del fréjol (Gepts y Bliss, 1986; Gepts, *et al.*, 1986; Gepts, 1988, 1989; Koenig *et al.*, 1990; Sonnante *et al.*, 1994), diseminación de los cultivares desde sus centros de domesticación (Gepts y Bliss, 1986) y evaluar el impacto del proceso de domesticación de la especie sobre su diversidad genética (Mutschler *et al.*, 1980, Becerra y Gepts, 1994).

Los marcadores moleculares como RFLPs (Jacob *et al.*, 1994; Zink *et al.*, 1994), microsatélites (Hamann *et al.*, 1994) y RAPDs (Skroch *et al.*, 1992) han sido utilizados para determinar las relaciones filogenéticas entre diferentes especies leguminosas. Los RFLPs también han sido utilizados para evaluar el grado de conservación del genoma de fréjol en comparación con otras especies leguminosas (Boutin *et al.*, 1994) y para estudiar la transmisión de algunos genes en cruza interespecíficas (Wall, 1968; Guo *et al.*, 1991).

Diversidad Genética

Un requisito básico para mejorar la productividad de cualquier especie es poseer variabilidad genética para las características que se desea mejorar. Tradicionalmente, la diversidad genética en fréjoles ha sido evaluada usando características morfológicas y agronómicas de genotipos individuales con poca consideración de su origen evolutivo o relaciones entre y dentro de sus pool de genes. Una de las desventajas de las características morfológicas es que no detectan toda la diversidad genética presente en la especie. Las características morfológicas están controladas por pocos genes, con efectos mayores están influenciadas por el medio ambiente (Smith y Smith, 1989). En contraste, los marcadores moleculares presentan una serie de cualidades que los hacen más atractivos para abordar este problema en forma más eficientemente (Soller y Beckman, 1983; Tanksley, 1983; Smith y Smith, 1989; Gepts, 1990).

Pool de genes y razas

Los marcadores bioquímicos y moleculares en fréjol han contribuido a definir los centros primarios y secundarios de origen de la especie. Actualmente, se reconoce la existencia de dos centros principales de origen de fréjol: Centro Americano y Andino (Gepts y Bliss, 1985; Koenig y Gepts, 1989b; Sprecher, 1988; Chase *et al.*, 1991; Khairallah *et al.*, 1990; Becerra y Gepts, 1994) y una zona de transición comprendida entre el Sur de Colombia y el Norte de Perú (Debouck *et al.*, 1993). Posteriormente, datos morfológicos, ecológicos y bioquímicos (isoenzimas y faseolina) han servido de base para subdividir los dos pool de genes o centros de origen del fréjol en diferentes razas (Singh *et al.*, 1991a). Es así como, el pool de genes centroamericanos se subdividió en las razas 'Mesoamérica', 'Durango', y 'Jalisco' y el pool de genes andino lo hizo en las razas 'Nueva', 'Granada', 'Perú' y 'Chi-

le'. Estos estudios han servido de base para reenfocar y mejorar la eficiencia de algunos programas de mejoramiento genético en la especie.

Niveles de polimorfismo

Los marcadores bioquímicos y moleculares han servido también para evaluar el grado de polimorfismo presente en la especie.

a)Tipos silvestres y cultivados. Estudios comparativos entre materiales silvestres y cultivados han demostrado que el proceso de domesticación ha producido una reducción de la variabilidad genética en la especie (Gepts *et al.*, 1986; Becerra y Gepts, 1994, Sonnante *et al.*, 1994). Esta disminución de la diversidad genética en la especie tiene diferentes grado, dependiendo el marcador que se analice. Por ejemplo, se han determinado una fuerte reducción en la diversidad genética de los materiales cultivados con respecto a los silvestres al usar faseolina como marcador bioquímico, sin embargo, esta situación se atenúa cuando la diversidad genética se evalúa con marcadores moleculares como son los RFLPs (Becerra y Gepts, 1994).

b)Tipos cultivados. Los marcadores bioquímicos como faseolina e isoenzimas (Sprecher, 1988; Singh *et al.*, 1991b) y moleculares como RFPL de ADN nuclear (Chase *et al.*, 1991; Nodari *et al.*, 1992; Becerra y Gepts, 1994) y mitocondrial (Khairallah *et al.*, 1990) también se han usado para determinar niveles de polimorfismos entre materiales cultivados. Estos y otros resultados indican que los genotipos cultivados pertenecientes al pool de genes Mesoamericano presentan niveles más alto de polimorfismo que los materiales pertenecientes al pool de genes Andino (Singh *et al.*, 1991c; Nodari *et al.*, 1992; Kolnange, 1992; Paredes, 1993; Becerra y Gepts, 1994; Sonnante *et al.*, 1994). Esta situación indica que el mejoramiento genético de materiales de un pool de genes necesita la transferencia de genes del otro pool de genes. Es así como, el mejoramiento de material andino necesita la incorporación de características tales como alto índice de cosecha, hábito de crecimiento erecto y alto potencial de rendimiento desde el pool de genes Mesoamericano.

Estos marcadores también han contribuido a determinar el escaso nivel de polimorfismo existente en algunas clases comerciales de fréjol (Paredes, 1993; Sonnante *et al.*, 1994; Becerra y Gepts, 1994) y los niveles de introgresión de diferentes pool de genes (Paredes y Gepts, 1994).

En resumen, el nivel de polimorfismo detectado en la especie podría ayudar directamente a seleccionar padres mejorantes para ampliar la base genética de los nuevos cultivares e indirectamente para aumentar la probabilidad de encontrar recombinantes favorables, que podrían incrementar la ganancia genética y reducir la vulnerabilidad de los nuevos cultivares.

Incompatibilidad Genética

Diferentes autores (Singh y Gutiérrez, 1984; Gepts y Bliss, 1985; Sprecher, 1988; Kelly, 1989; Kolnange y Gepts, 1992) han informado la presencia de diversos niveles de incompatibilidad al realizar cierto tipo de cruzamientos. Estudios realizados a nivel molecular indicaron que este fenómeno podría estar relacionado con la posible separación de la especie en dos subespecies (Gepts y Bliss, 1985; Kolnange y Gepts, 1992).

MAPA DE LIGAMIENTO GENÉTICO

En la actualidad existen varios mapas de ligamiento genético en fréjol (Vallejos *et al.*, 1992; Nodari *et al.*, 1993a). Estos mapas incluyen marcadores moleculares (RFLPs, RAPDs), bioquímicos (isoenzimas y proteínas de almacenaje) y algunos genes que, confieren resistencia a enfermedades (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoll*, virus del mosaico común), controlan fijación de nitrógeno (Nodari *et al.*, 1993b) y controlan algunos factores agronómicos, tales como: reducida dormancia, largo y ancho de las vainas y peso de las semillas (Kolnange, 1992). El enfoque actual es relacionar la información existente y saturar ciertas regiones del genoma del fréjol con el objetivo de encontrar marcadores moleculares que estén estrechamente ligados con genes que controlan algunas características agronómicas, tales como resistencia a enfermedades (Johnson y Gepts, 1994, Jung *et al.*, 1994).

La construcción de estos mapas genéticos ha contribuido además al estudio de aspectos relacionados con la segregación (Kolnange 1992; Vallejos *et al.*, 1992; Nodari, *et al.*, 1993a;) y recombinación de algunos marcadores moleculares (Paredes y Gepts, 1993). Estos estudios han determinado que algunos marcadores moleculares permiten una segregación distorsionada (Koenig y Gepts, 1989a, Nodari *et al.*, 1993, Paredes, 1993) y en muchos casos estos marcadores se presentan en grupos o en regiones específicas del genoma de la especie (Nodari *et al.*, 1993). También ha sido posible de-

terminar en forma preliminar que existe variación en los valores de recombinación en algunos de los marcadores moleculares estudiados, dependiendo el cruzamiento, lo cual podría servir como criterios de selección de progenitores en los programas de mejoramiento genético de la especie.

Selección Asistida de Plantas

La utilidad de un determinado germoplasma depende del grado de conocimiento y del uso que se le pueda dar a este material. Desde el punto de vista productivo, la evaluación del germoplasma a factores agronómicos y a diversos tipos de estrés que sufre la planta durante su proceso productivo, es de suma importancia en la producción de nuevos cultivares.

Resistencia a Enfermedades

El uso de marcadores moleculares ligados a genes que confieren resistencia a enfermedades podría constituir una herramienta eficiente y útil para ser utilizada en la caracterización de razas, incorporación de una o más fuentes de resistencia, facilitar y agilizar los procesos de evaluación y selección de plantas resistentes.

En este sentido, se han realizado varios esfuerzos tendientes a: i) caracterizar y evaluar la diversidad genética presente en diferentes patógenos que atacan el fréjol. Por ejemplo, *P. griseola* (Guzmán *et al.*, 1993), virus del mosaico común del fréjol (Gilbertson *et al.*, 1992), virus del mosaico dorado (Gilbertson *et al.*, 1989) y *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoll* (Gilbertson *et al.*, 1990), y ii) seleccionar marcadores moleculares que puedan ayudar en la selección de genotipos resistentes. Por ejemplo, virus del enanismo del fréjol (Hidayat *et al.*, 1991); virus del mosaico común fréjol (Haley *et al.*, 1994; Johnson y Gepts, 1994), antracnosis (Young y Kelly, 1994), roya (Haley *et al.*, 1993; Miklas *et al.*, 1993; Jung *et al.*, 1994) y *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoll* (Jung *et al.*, 1994).

Resistencia a Insectos

En resistencia a insectos existen escasos ejemplos del uso de marcadores bioquímicos y/o moleculares en fréjol (Osborn *et al.*, 1986). El mejor ejemplo está en la correlación positiva existente entre la presencia del marcador arcelina y la resistencia a un tipo de bruco del fréjol (*Zabrotes subfasciatus*).

Procesos Fisiológicos

Un ejemplo del uso de los marcadores moleculares en el estudio de los procesos fisiológicos en fréjol está en la detección de RFLPs ligados a genes que controlan el fotoperíodo (Gu *et al.*, 1993; Gu *et al.*, 1994). El fotoperíodo, además de controlar la floración, tiene una gran influencia en otros procesos fisiológicos que pueden mejorar la eficiencia en la partición de fotosintatos; rendimiento biológico, índice de cosecha y precocidad. La presencia y manipulación de estos marcadores moleculares podrían ayudar a mejorar la productividad de la especie.

Factores Abióticos

El uso de marcadores moleculares en esta área de trabajo es reciente por lo cual existen muy pocas experiencias al respecto (Covarrubias y Garcíarrubio, 1994). Algunos proyectos, están empezando a cuantificar el comportamiento del germoplasma de fréjol a condiciones de estrés abiótico usando parámetros fisiológicos y/o morfológicos (Abebe *et al.*, 1994; Beebe *et al.*, 1994).

Calidad Proteica e Industrial

En estos aspectos el uso de los marcadores moleculares es bastante escaso y de reciente exploración (Bliss y Brown, 1983; Bliss, 1990; Delaney *et al.*, 1990 a,b). Al igual que en los factores abióticos la información disponible se refiere a la caracterización de germoplasma del fréjol por diferentes componentes de calidad sin mayor participación de los marcadores moleculares.

FINGERPRINTING

La caracterización de cultivares está adquiriendo una gran importancia cada día, debido al aumento en las restricciones en el uso del germoplasma. En fréjol, el uso de los marcadores moleculares se ha usado escasamente en este aspecto (Bassiri y Adams, 1978a, b; Weeden, 1984) pero se prevé un gran auge en este aspecto en el futuro.

CONCLUSIÓN

El uso de los marcadores moleculares es un medio eficiente y efectivo que podría ser usado en diferentes estudios tendientes a mejorar la productividad del fréjol. Hasta ahora el uso de esta técnica ha estado restringida a un escaso número de usuarios y al estudio y/o solución de aspectos limitantes

de la producción del fréjol controlados por genes mayores. Es imprescindible propender a un mayor uso de estas técnicas por un mayor número de mejoradores y dar un mayor énfasis a características poligénicas.

LITERATURA CITADA

- ABEBE, A., BICK, M.A., GEORGIS, K. 1994. Evaluation of common bean entries for drought tolerance in Ethiopia. In: W.M. Rocca, J.E. Mayer, Pastor-Corrales, J.Thome (eds). Proc. Phaseolus Bean Advanced Biotechnology Research Network. CIAT, Cali, Colombia. pp. 351-357.
- BASSIRI, A., ADAMS, M.W. 1978a. An electrophoretic survey of seedling isozymes in several Phaseolus species. Euphytica 27: 447-459.
- BASSIRI, A., ADAMS, M.W. 1978b. Evaluation of bean cultivar relationships by means of isozymes electrophoretic patterns. Euphytica 27:707-720.
- BEEBE, S., YAN, X.L., OCHOA, J., LYNCH, J. 1994. (*Phaseolus vulgaris*) germplasm resources and tolerance to phosphorus deficiency. In: W.M. Rocca, J.E. Mayer, M.A. Pastor-Corrales, J. Thome (eds). Proc. Phaseolus Bean Advanced Biotechnology Research Network. CIAT, Cali, Colombia. pp. 358-361.
- BECERRA, V.L. GEPTS, P. 1994. RFLP diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in its centre of origin. Genome 37: 256-263.
- BLISS, F.A. 1990. Utilization of genetic resources for crop improvement. In: Brown, A.H.D.; Clegg, M.T.; Kahler, A.L.; Weir, B.S. (eds) Plant population genetics, breeding, and genetic resources. Sinauer Associates, Sunderland Massachusetts. pp. 317-333.
- BLISS, F.A.; BROWN, J.W.S. 1983. Breeding common bean for improved quantity and quality of seed protein. Plant Breed Rev 1: 59-102.
- BOUTIN, S., OLSON, T., YU, Z.H., YOUNG, N., SHOEMAKER, R., VALLEJOS, E. 1994. Genomic conservation between Phaseolus and legumes relatives detected with DNA markers. Beanimprov. Coop. 37: 117-118.
- CHASE, C.D., ORTEGA, V.M.; VALLEJOS, C.E. 1991. DNA restriction fragment length polymorphism correlates with isozyme diversity in *Phaseolus vulgaris*. Theor. Appl. Genet. 81: 806-811.
- COVARRUBIAS, A.A., GARCÍARRUBIO, A. 1994. Molecular characterization of the response to water deficit in *P. vulgaris*. In: W.M. Rocca, J.E. Mayer, M.A. Pastor-Corrales, J.Thome (eds). Proc Phaseolus Bean Advanced Biotechnology Research Network. CIAT, Cali, Colombia. pp. 341-350.

- DEBOUCK D., TORO, O., PAREDES, O.M., JOHNSON, W., GEPTS, P. 1993. Genetic diversity and ecological distribution of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) in northwestern South America. *Econ. Bot.* 47: 408-423.
- DELANEY, D.E.; BLISS, F.A. 1991a. Selection for increased percentage phaseolin in common bean 1. comparison of selection for seed protein alleles and S1 family recurrent selection. *Theor. Appl. Genet.* 81: 301-305.
- DELANEY, D.E.; BLISS, F.A. 1991b. Selection for increased percentage phaseolin in common bean 2. changes in frequency of seed protein alleles with S1 family recurrent selection. *Theor. Appl. Genet.* 81: 306-311.
- GEPTS, P. 1988. Phaseolin as an evolutionary marker. In: Gepts P. (ed). *Genetic resources of Phaseolus beans*. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands. pp. 215-241.
- GEPTS, P. 1989. Genetic diversity of seed storage proteins in plants. In: Brown, A.H.D.; Clegg, M.T.; Kahler, A.L.; Weir, B.S. (eds) *Plant population genetics, breeding, and genetic resources*. Sinauer Associates, Sunderland Massachusetts. pp. 64-82.
- GEPTS, P. 1990. Biochemical evidence bearing on the domestication of *Phaseolus* beans. *Econ. Bot.* 44 (3 Suppl): 28-38.
- GEPTS, P.; BLISS, F.A. 1985. F₁ hybrid weakness in the common bean: Differential geographic origin suggests two gene pools in cultivated bean germplasm. *J. Hered.* 76: 447-450.
- GEPTS, P.; BLISS, F.A. 1986. Phaseolin variability among wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris*): Evidence for multiple centers of domestication. *Econ. Bot.* 40: 451-468.
- GILBERTSON, R.L., FARIA, J.C., LEONG, S.A., AHLQUIST, P.G., MAXWELL, D.P. 1989. Molecular characterization of Brazilian isolate of Golden Mosaic virus. *Bean Improv. Coop.* 32: 92-93.
- GILBERTSON, R.L., OTOYA, M.M., PASTOR-CORRALES, M.A., MAXWELL, D.P. 1990. Genetic diversity in common blight bacteria is revealed by cloned repetitive DNA sequences. *Bean Improve sequence of the NL-3 strain of BCMV*. *Bean Improv. Coop.* 35: 42-43.
- GU, W.K., WEEDEN, N.F., WALLACE, D.H., SINGH, S.P. 1993. A DNA marker for ppd, a gene conferring insensitivity to photoperiod in common bean. *Bean Improv. Coop.* 36: 1-2.
- GU, W.K., WEEDEN, N.F., ZHU, J.Q., WALLACE, D.H. 1994. Identification of a DNA marker for Hr, a gene that interact with Ppd to confer extreme photoperiod sensitivity in common bean. *Bean Improv. Coop.* 37: 125-126.
- GUO, M., LIGHTFOOT, D.A., MOK, M.C., MOK, D.W.S. Analyses of *Phaseolus vulgaris* L. and *P. Coccineus* Lam hybrids by RFLP.: Preferential transmission of *P. vulgaris* allele. *Theor. Appl. Genet* 81: 703-709.
- GUZMÁN, P., MANDOLA, D., GEPTS, P., NODARI, R., JOHNSON, B., TEMPLE, S., MSUKU, W.A.B., MKANDAWIRE, A.B.C., GILBERTSON, R.L. 1993. Genetic diversity among isolates of the angular leafspot fungus (*Phaeoisariopsis griseola*) revealed by random amplified polymorphism DNA (RAPD) analysis. *Bean Improv. Coop.* 36: 158-159.
- HALEY, S.D., AFANADOR, L.K., KELLY, J.D. 1994. Identification and application of RAPD marker for the I gene (*Potyvirus resistance*) in common bean. *Phytopathology (en prensa)*.
- HALEY, S.D., MIKLAS, P.N., STAVELY, J.R., BYRUM, J., KELLY, J.D. 1993. Identification of RAPD markers linked to a major rust resistance gene block in common bean. *Theor. Appl. Genet.* 86: 505-512.
- HAMANN, A., ZINK, D., NAGL, W. 1994. Non radioactive DNA probes for the detection of Bean Dwarf Mosaic Gemini Virus. *Bean Improv. Coop.* 34: 15-16.
- JACOB, M., SINK, D., NAGL, W. 1994. RFLPs of the rDNA genes in the genus *Phaseolus*. *Bean Improv. Coop.* 37: 121-122.
- JOHNSON, B., GEPTS, P. 1994. Two new molecular markers linked to bc-3. *Bean Improv. Coop.* 37: 206-207.
- JUNG, G., COYNE, D.P., SKROCH, P.W., NEENHUIS, J., ARNAUD-SANTANA, E., BOKOSI, J., KAPPLER, S.M., STAADMAN, J.R.S. 1994. Construction of a genetic linkage map and locations of the common blight, rust resistance and pubescence loci in *Phaseolus vulgaris* L. using RAPD markers. *Bean Improv. Coop* 37: 37-38.
- KELLY, J.D. 1989. The presence of dwarf lethals D1 genes in *Phaseolus* germplasm, lines and cultivars. *Bean Improv. Coop.* 32: 73-74.
- KHAIRALLAH, M.M., ADAMS, M.W., SEARS, B. 1990. Mitochondrial polymorphism of Malawian bean lines: Further evidence for two major gene pools. *Theor. Appl. Genet.* 80: 753-761.
- KOENIG, R.; GEPTS, P. 1989a. Segregation and linkage of genes for seed proteins, isozymes and morphological traits in common bean (*Phaseolus vulgaris*). *J. Hered.* 80: 455-459.
- KOENIG, R.; GEPTS, P. 1989b. Allozyme diversity in wild *Phaseolus vulgaris*. Further evidence for two major centers for genetic diversity. *Theor. Appl. Genet.* 78: 809-817.
- KOENIG, R.; SINGH, S.P., GEPTS, P. 1990. Novel phaseolin types in wild and cultivated common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Econ. Bot.* 44: 50-60.
- KOINANGE, E.M.K. 1992. Genetic differentiation between wild and cultivated bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Ph. D. Dissertation, Univ California, Davis. 134 p.
- KOINANGE, E.M.K.; GEPTS, P. 1992. Hybrid weakness in wild *Phaseolus vulgaris* L. *J. Hered* 83: 135-139.
- MIKLAS, P.N., STAVELY, J.R., KELLY, J.D. 1993. Identification and potential use of a molecular marker for rust resistance in common bean. *Theor. Appl. Genet.* 85: 745-749.

- MUTSCHLER, M.A.; BLISS, F.A.; HALL, T.C. 1980. Variation in the accumulation of seed storage protein among genotypes of *Phaseolus vulgaris* (L). *Plant Physiol.* 65:627-630.
- NODARI, R.O., KOINANGE, E.M.K., KELLY, J.D., GEPTS, P. 1992. Towards an integrated linkage map of common bean. I. Development of genomic DNA probes and levels of restriction fragment length polymorphism. *Theor. Appl. Genet.* 84: 186-192.
- NODARI, R.O., TSAI, S.M., GILBERTSON, R.L.; GEPTS, P. 1993a. Towards an integrated linkage map of common bean. II. Development of an RFLP-based linkage map. *Theor. Appl. Genet.* 85: 153-520.
- NODARI, R.O., TSAI, S.M., GILBERTSON, R.L.; GEPTS, P. 1993b. Towards an integrated linkage map of common bean. 3. Mapping genetic factors controlling host-bacteria interactions. *Genetics* 134: 341-350.
- OSBORN, T.C., BLAKE, T., GEPTS, P.; BLISS, F.A. 1986. Bean arcelin. 2. Genetic variability, inheritance and linkage relationships of a novel seed protein of *Phaseolus vulgaris* L. *Theor. Appl. Genet* 71: 347-355.
- PAREDES, M. 1993. Genetic diversity, segregation and recombination in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Ph.D. Dissertation. Univ. California, Davis. 133 p.
- PAREDES, M. and GEPTS, P. 1994. Extensive introgression of Middle American germplasm into Chilean bean cultivars. *Genet. Res & Crop. Ev.* (en prensa).
- SINGH, S.P., GEPTS, P.; DEBOUCK, D. 1991a. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). *Econ. Bot.* 45: 379-396.
- SINGH, S.P., GUTIÉRREZ, J.A. 1984. Geographical distribution of the D11 and D12 gene causing hybrid dwarfism in *Phaseolus vulgaris* L., their association with seed size, and their significance to breeding, *Euphytica* 33: 337-345.
- SINGH, S.P., GUTIÉRREZ, J.A., MOLINA, A., URREA, C.; GEPTS, P. 1991b. Genetic diversity in cultivated common bean: Marker-Based analysis of morphological and agronomic traits. *Crop Sci.* 31: 23-29.
- SINGH, S.P., NODARI, R.O., GEPTS, P. 1991b. Genetic diversity in cultivated common bean: Marker-Based analysis of morphological and agronomic traits. *Crop Sci.* 31: 23-29.
- SINGH, S.P., NODARI, R.O., GEPTS, P. 1991c. Genetic diversity in cultivated common bean: Allozymes. *Crop Sci* 31: 19-23.
- SKROCH, P.W., DOS SANTOS, J.B., NIENHUIS, J. 1992. Genetic relationships among *Phaseolus vulgaris* genotypes based on RAPD markers data. *Bean Improv. Coop.* 35: 23-24.
- SMITH, J.S.C.; SMITH, O.S. 1989. The description and assessment of distances between inbred lines of maize: II. The utility of morphological, biochemical and genetic descriptors and a scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines. *Maydica* 34: 151-161.
- SONNANTE, G., STOCKTON, T., NODARI, R.O., BECERRA, V., GEPTS, P. 1994. Evolution of genetic diversity during the domestication of common-bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genet.* (en prensa).
- SPRECHER, S. 1988. Allozyme differentiation between gene pools in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), with special reference to Malawian germplasm. Ph. D. Dissertation, Michigan State University, East Lansing.
- SOLLER, M., BECKMAN, J.S. 1983. Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. *Theor. Appl. Genet.* 67: 25-23.
- TANKSLEY, S.D. 1983. Molecular markers in plant breeding. *Plant Mol. Biol. Rep.* 1: 3-8.
- VALLEJOS, C.E., CHASE, C.D. 1991. A molecular marker-based linkage map of *Phaseolus vulgaris* L. *Genetic* 131: 733-740.
- WALL, J.R. 1968. Leucine aminopeptidase polymorphism in *Phaseolus* in differential elimination of the donor parent genotype in interspecific backcrosses. *Biochem. Genet.* 2: 109-118.
- WALL, J.R.; WALL, W.S. 1975. Isozyme polymorphism in the study of evolution in the *Phaseolus vulgaris-Phaseolus coccineus* complex of México. In: Market, C.L. (ed) *Isozyme* 3: 21-167.
- WEEDEN, N.F. 1984. Distinguishing among white seeded bean cultivars by means of allozyme genotypes. *Euphytica* 33: 199-208.
- YOUNG, R.A., KELLY, J.D. 1994. A RAPD marker for the Are anthracnose resistance gene in beans. *Bean Improv. Coop.* 37: 77-78.
- ZINK, D., SCHUMANN, K., NAGL, W., 1994. Restriction fragment length polymorphisms of the phytohemagglutinin genes in *Phaseolus* and *Vigna*. *Bean Improv. Coop.* 37: 1119-1120.