

EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A LA BACTERIOSIS COMÚN CAUSADA POR *XANTHOMONAS PHASEOLI* EN PLANTAS F₃ DE CARAOTA (*PHASEOLUS VULGARIS*)

Perling Lagarde¹, Ada Medina¹, Catalina Ramis¹ y Anna Maselli²

¹Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Instituto de Genética, Apdo. 4579, Maracay 2101A; ²Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Laboratorio de Bacteriología, Apdo. 4653, Maracay 2101A. Venezuela.

Recibido: 25 de octubre de 2010

Acceptado: 01 de diciembre de 2010

RESUMEN

Lagarde, P., Medina, A., Ramis, C. y Maselli, A. 2010. Evaluación de la resistencia a la bacteriosis común causada por *Xanthomonas phaseoli* en plantas F₃ de caraota (*Phaseolus vulgaris*). Fitopatol. Venez. 23:35-39.

La caraota constituye la leguminosa de grano de mayor consumo en Venezuela. Sus rendimientos han sido afectados por *Xanthomonas phaseoli* y el uso de variedades resistentes permitiría superar eficientemente esta limitante. Para ello, es necesario incorporar genes de resistencia a través de programas de mejoramiento. Con el fin de evaluar el modo de herencia a la resistencia de la enfermedad, se estudió una población segregante F₃ de caraota producto del cruce entre un padre resistente (Línea 8) y un padre susceptible (MEM-0103014). Se usó una escala de valores de uno (completamente resistente) a nueve (susceptibilidad severa). Las plantas F₃, los padres y testigos (XAN 154, XAN 149) fueron inoculados con la cepa Tucutunemo, mediante el uso de un cojín de alfileres sobre las protofilas a los 21 días de edad. Debido a la ausencia de daños visibles por parte del inóculo, fueron reinoculadas 8 días después en hojas trifolioladas. Las variables evaluadas, tamaño de la mancha en milímetros y porcentaje de área foliar afectada (%AFA), permitieron estudiar el avance de la enfermedad. Los valores de %AFA a los 19 días después de la inoculación presentaron mayor variabilidad en el avance de la enfermedad y máxima intensidad de la sintomatología; por lo tanto, fueron utilizados para realizar la evaluación de la resistencia. El carácter de resistencia viene dado por un gen mayor más un conjunto de poligenes de efecto menor. Se evidenció la presencia de individuos con mayor resistencia que el padre resistente por lo que deberán tomarse en consideración en futuros programas de mejoramiento.

Palabras clave adicionales: herencia, inoculación.

ABSTRACT

Lagarde, P., Medina, A., Ramis, C. and Maselli, A. 2010. Evaluation of resistance to the common bacterial blight caused by *Xanthomonas phaseoli* on F₃ plants of black bean (*Phaseolus vulgaris*). Fitopatol. Venez. 23:35-39.

Black bean is the legume of highest consumption in Venezuela. Their yields have been affected by the common bacterial blight caused by *Xanthomonas phaseoli* and the use of resistance varieties would effectively overcome this limitation. For this, it is necessary to incorporate resistance genes through breeding programs. Genetic control of common bean resistance to common blight was studied using F₃ segregating plants from the cross Línea 8 (resistant) x MEM-0103014 (susceptible). A scale of values from one (completely resistant) to nine (severe susceptibility) was used. F₃ plants, together with the parents and controls (XAN 154, XAN 149) were inoculated with Tucutunemo strain, 21 days after sowing, using the multiple needle method on protophylls. Since the inoculum caused no visible damage to the leaves, a second inoculation was performed on first trifoliolate, repeating the same procedure, 8 days later. The variables spot size in millimeters and the percentage of leaf area affected (%AFA), allowed us to study the plant disease development. Values of %AFA, 19 days after inoculation, showed greater variability in disease development and maximum intensity of symptoms, therefore used for the evaluation of resistance. The results indicate that there is a single dominant gene, also a group of polygenes of smaller effect, for resistance to *X. phaseoli* in the evaluated families. Some genotypes presented leaves of higher resistance than the resistance parent, therefore should be considered in future breeding programs.

Additional key words: inheritance, inoculation.

INTRODUCCIÓN

La caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) es la leguminosa de grano de mayor consumo por parte de la población venezolana. Junto con el frijol *Vigna unguiculata* (L.) Walp., su producción se encuentra en manos de pequeños y medianos agricultores, los que en su mayoría carecen de los recursos necesarios para la adquisición de agroquímicos para el combate de enfermedades así como también el uso de nuevas tecnologías. Aunque su potencial de rendimiento es superior a los 3000 kg/ha, los rendimientos promedio en América Latina son bajos, alrededor de 600 kg/ha. En Venezuela, según el Segundo Informe Nacional sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos para la Agricultura y la Alimentación (7), los rendimientos han progresado desde los 600 kg/ha a principios de 1990, hasta los 900 kg/ha en el 2006. Condiciones climatológicas, problemas nutricionales y enfermedades son los factores involucrados en estos bajos rendimientos (11).

La bacteriosis común de la caraota causada por *Xanthomonas phaseoli* (Smith) es la enfermedad bacteriana más importante en el cultivo (9). Es responsable de disminuciones importantes de rendimiento en caraota debido a los daños severos que produce en cualquier estadio de desarrollo de la planta, reduciendo la calidad de las semillas o causando la muerte de las plantas. Se encuentra ampliamente distribuida en las zonas productoras de caraota de todo el mundo y, en Venezuela, su presencia fue señalada por primera vez en 1954 por Pontis Videla (1). Desde entonces, se ha estudiado su sintomatología y el daño económico que causa.

La presencia de *X. phaseoli* en campos del cultivo está relacionada con factores tales como época, densidad y método de siembra, calidad sanitaria de las semillas, condiciones de suelo, rotación de cultivos e insectos vectores, entre otros. El uso de semillas certificadas, rotación de cultivo durante dos años como mínimo y evitar labores de cultivo cuando las plantas están húmedas para impedir la

diseminación de la bacteria, contribuirían con la prevención de la enfermedad (4). Sin embargo, el uso de variedades resistentes permitiría superar eficientemente esta limitante. Por esto, es necesario incorporar genes de resistencia a través de programas de cruzamientos con genotipos portadores de tal resistencia y genotipos de buen comportamiento agronómico, y la posterior selección de descendientes con las características deseables de resistencia y producción (10).

Por lo anterior, en un programa de mejoramiento financiado por el proyecto BID-FONACIT II a través del subproyecto “Búsqueda de Marcadores Moleculares Asociados a la Resistencia a la Bacteriosis Común en Caraota”, se realizaron cruzamientos usando parentales resistentes a la enfermedad, originando nueve poblaciones F_2 . El presente trabajo tuvo como objetivo fundamental evaluar la resistencia a la bacteriosis en una de esas poblaciones obtenidas, específicamente la población de plantas F_3 proveniente del cruce MEM-0301014 x Línea 8.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en el umbráculo de la Unidad de Protección Vegetal y en el Banco de Germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP), Maracay, estado Aragua.

Material Vegetal. Se utilizaron plantas F_3 de caraota, producto del cruce entre la variedad local MEM-030114, proveniente del Banco de Germoplasma (INIA-CENIAP) y una línea avanzada de caraota, conocida como Línea 8, procedente del programa de mejoramiento llevado a cabo por el INIA-CENIAP. Se sembraron 205 plantas provenientes de una población F_3 , a razón de 1 semilla por bolsa negra de polietileno conteniendo 4 Kg de sustrato. Para el ensayo se utilizaron como testigos resistentes a la “Línea 8”, “XAN 154” y “XAN 149” y como testigos susceptibles a “MEM-0301014” y “DOR 470”. Todos los testigos procedían del Banco de Germoplasma del INIA-CENIAP, con excepción de “XAN 154” y “XAN 149”, que son líneas avanzadas del CIAT, procedentes del Banco de Germoplasma del Instituto de Genética, FAGRO-UCV. Por cada testigo se sembraron 3 semillas por bolsa. En todos los casos se utilizó tierra abonada pura previamente esterilizada.

Preparación de inóculo. Se utilizó una colonia bacteriana de *X. phaseoli* cepa Tucutunemo proveniente de la localidad de Tucutunemo, cerca de Villa de Cura, estado Aragua. Para la preparación del inóculo se tomaron 0,5 mg aprox. de la bacteria liofilizada, se colocaron en agua destilada estéril durante 5–6 min hasta que se formó la suspensión. Luego, con un ansa de platino se procedió a sembrar 5 veces en forma de zig-zag en agar nutritivo específico para bacterias, constituido por extracto de carne, peptona y agar (13), en 5 placas a ca 28 °C. Se incubó por varios días hasta que se evidenció crecimiento de las colonias, seleccionándose una representativa de *X. phaseoli*, la cual fue colocada a crecer en un medio de cultivo compuesto por agar nutritivo (AN) por 24 h. A partir de ésta se realizó la preparación de la suspensión definitiva, agregándole una gota de Tween 80, como adherente. Para el cálculo de la

concentración de la bacteria se utilizó el tubo n° 3 de McFarland hasta obtener 10^8 unidades formadoras de colonias (ufc)/ml (3,15).

Método de inoculación. Al obtener el inóculo, se procedió a realizar una leve presión sobre las hojas protófilas de las plantas de 21 d de edad con la ayuda de un cojín de alfileres para permitir la entrada de la bacteria al tejido celular y dos aspersiones del inóculo con un aspersor DeVilbiss sobre las heridas causadas. Las 205 plantas F_3 y los testigos estuvieron bajo condiciones de cámara húmeda a 32 °C y 95 % de HR durante 6 d. Debido a que el inóculo no causó daños visibles en dichas hojas, se realizó una segunda inoculación en las primeras hojas trifoliadas 8 d después, esta vez con una sola aspersión del inóculo bajo condiciones ambientales naturales de humedad (32–34 °C y 80% de HR promedio).

Evaluación. Se evaluaron las variables tamaño de la mancha foliar en milímetros (mm) y porcentaje del área foliar afectada (%AFA). Ambas evaluaciones se midieron desde el momento de la aparición de los síntomas, cada tres días durante 15 d. Para el tamaño de la mancha se midió el diámetro mayor de la mancha en el punto de inoculación. El %AFA se estimó visualmente según la escala del 1 al 9 (8) hasta 25 d después de la inoculación (Cuadro 1). Las mediciones se registraron en una planilla diseñada para llevar el control de ambas variables en cada planta, a partir de las cuales se pudo establecer gráficamente la dinámica de avance de la enfermedad.

Modo de herencia de la enfermedad. Se realizó un Polígono de Frecuencia y una prueba de normalidad de Shapiro & Wilks (modificado), para saber si los datos observados seguían una distribución normal.

Para el estudio de la herencia monogénica se siguió el procedimiento de Castañeda (2). La frecuencia observada para los fenotipos resistentes y susceptibles se comparó con la frecuencia esperada para una segregación de un gen mayor en F_3 , correspondiente a la segregación 5/8 resistentes: 3/8 susceptibles. Se realizó la prueba de bondad de ajuste (χ^2), donde se compararon las frecuencias observadas y esperadas para las categorías resistente y susceptible.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inicialmente se sembraron 205 plantas F_3 ; sin embargo, algunas murieron y otras no germinaron, por lo que finalmente quedó una población de 153 plantas F_3 , para la evaluación. Los testigos presentaron fallas de germinación y para el ensayo sólo se contó con una planta de los testigos siguientes: “Línea 8”, “XAN 154”, “XAN 149” y “MEM-0301014”.

Descripción de los síntomas. Los síntomas observados coincidieron con los reportados en la literatura para la quemazón bacteriana de la caraota (2,10,12,14); éstos empezaron a evidenciarse 10 d después de la inoculación. En la lámina foliar se observó una mancha que aumentaba de forma irregular con la presencia de un halo amarillo creciendo hacia los márgenes de la hoja misma que posteriormente se tornó de color café hasta ocupar toda el área foliar, ocasionando en algunos casos la caída de las hojas, presentándose o no la translocación de los síntomas al resto de la planta.

Cuadro 1. Escala arbitraria de evaluación para porcentaje de área foliar afectada (% AFA) de las plantas inoculadas con *X. phaseoli*.

| Escala | Porcentaje de área foliar afectada | Interpretación |
|--------|------------------------------------|--------------------------|
| 1 | Sin lesión (0) | Completamente Resistente |
| 2 | 1-12,5 | Resistencia Alta |
| 3 | 13-25,5 | Resistencia Moderada |
| 4 | 26-38,5 | Resistencia Baja |
| 5 | 39-51,5 | Baja Susceptibilidad |
| 6 | 52-64,5 | Moderada Susceptibilidad |
| 7 | 65-77,5 | Alta Susceptibilidad |
| 8 | 78-90,5 | Muy Alta Susceptibilidad |
| 9 | 91 | Susceptibilidad Severa |

Desarrollo de la enfermedad. El desarrollo de la enfermedad medida en tamaño de la mancha en milímetros se presenta en la Fig. 1. En general se observaron plantas que presentaron un aumento del tamaño de la mancha desde la aparición de los síntomas hasta 19 d después de la inoculación (ddi); posterior a esa fecha, los valores se mantuvieron constantes en el tiempo. Se observó gran variabilidad en el avance de la enfermedad medido en tamaño de la mancha entre los individuos de la población F_3 . Algunas plantas presentaron tamaños de mancha superiores a 80 mm, superando el valor de la mancha para el padre portador de la susceptibilidad (MEM 0103014). También se observaron plantas con un avance de la enfermedad similar e inferior al padre portador de la resistencia (Línea 8), y otros se mostraron con tamaños intermedios entre ambos padres.

Porcentaje de área foliar afectada (% AFA). En la Fig. 2 se observan las tendencias de las curvas para el desarrollo de la enfermedad medidas en porcentaje de área foliar afectada y evaluadas varios días después de la inoculación. Se pueden apreciar diferentes respuestas de las plantas F_3 en comparación con los padres. Algunas pudieran ser catalogadas como resistentes por presentar valores de AFA no mayores a 20% AFA; otras presentaron comportamiento similar a uno de los padres (Línea 8), con valores de AFA de 60%, lo que indica susceptibilidad moderada. En otros casos sobrepasaron valores de 60% coincidiendo con el padre susceptible (MEM-0301014). Resultados similares fueron obtenidos por Castañeda (2), donde una población $F_{2,4}$ de caraota, también mostró respuestas variables con genotipos similares a los padres y a los testigos.

Cuadro 2. Clasificación de las plantas F_3 de caraota, testigos y padres, de acuerdo a los distintos grados de reacción a *X. phaseoli*.

| Escala | Plantas F_3 | Testigos | Frecuencia de la población | Categoría |
|-------------|---------------|---------------|----------------------------|--------------|
| 1 | 0 | | 0 | Resistentes |
| 2 | 6 | | 392,156,863 | |
| 3 | 11 | XAN 154 | 718,954,248 | |
| 4 | 8 | Línea 8 | 522,875,817 | |
| 5 | 64 | | 418,300,654 | |
| Sub - Total | 89 | | | |
| 6 | 2 | XAN 149 | 130,718,954 | Susceptibles |
| 7 | 32 | MEM - 0103014 | 209,150,327 | |
| 8 | 25 | | 163,398,693 | |
| 9 | 5 | | 326,797,386 | |
| Sub - Total | 64 | | | |
| Total | 153 | | 100 | |

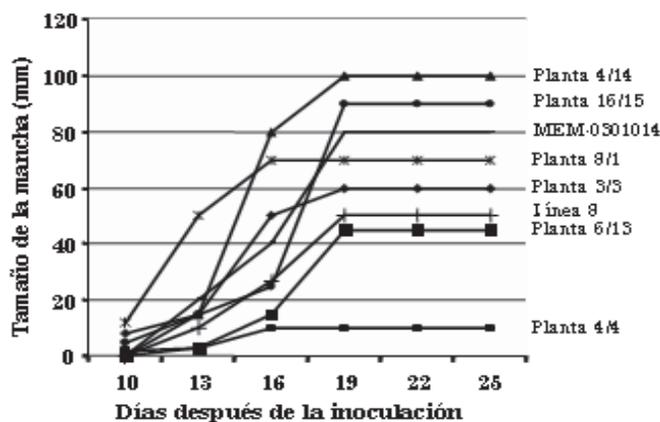


Fig. 1. Desarrollo del tamaño de la mancha (mm) en plantas F_3 inoculadas con *X. phaseoli* a diferentes días después de la inoculación (ddi).

Comparación de las variables. En la mayoría de los casos, para ambas variables (tamaño de la mancha y % AFA), se observó un aumento de la mancha desde la aparición de los síntomas 10 ddi hasta los 19 ddi. Posterior a esa fecha, debido a la defoliación que se produjo como consecuencia de la enfermedad y en otros casos por la marchitez de las hojas inoculadas, ambas variables se mantuvieron estables. Podemos decir que los 19 ddi es la mejor fecha de evaluación por presentar la mayor variabilidad en el avance de la enfermedad y es el momento de máxima intensidad de la sintomatología, por ende, fue la fecha seleccionada para realizar el estudio del modo de herencia. Adicionalmente, se consideran de mayor importancia los valores de avance de la enfermedad expresados en porcentaje de área foliar afectada. Dada la irregularidad en la forma de la mancha, un valor medido en porcentaje de área afectada, refleja más eficientemente el daño ocasionado por la mancha.

Herencia de la resistencia. Para determinar si la herencia de la resistencia era un carácter de tipo cualitativo o cuantitativo, se realizó un polígono de frecuencia con las plantas F_3 , usando datos agrupados con los valores de porcentaje de AFA a los 19 ddi (Fig. 3). En la curva, se aprecia que los datos no presentaron una distribución normal. Para corroborar la información se realizó una prueba de normalidad de Wilks-Shapiro, utilizando el programa estadístico Infostat, obteniéndose que para un número total de 153 plantas evaluadas, los valores de la media y la mediana

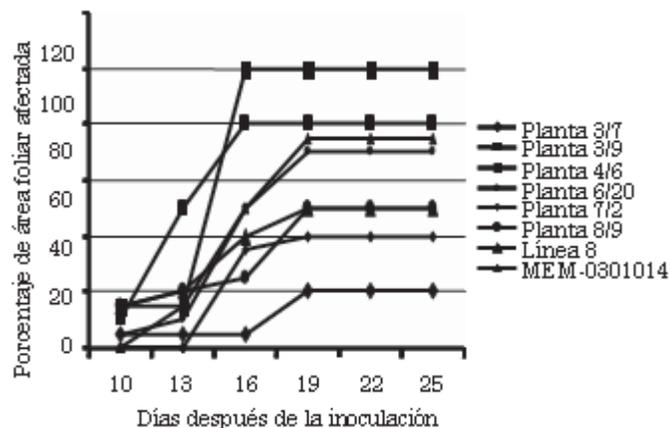


Fig. 2. Desarrollo del porcentaje del área foliar afectada en plantas F_3 inoculadas con *X. phaseoli* a diferentes días después de la inoculación.

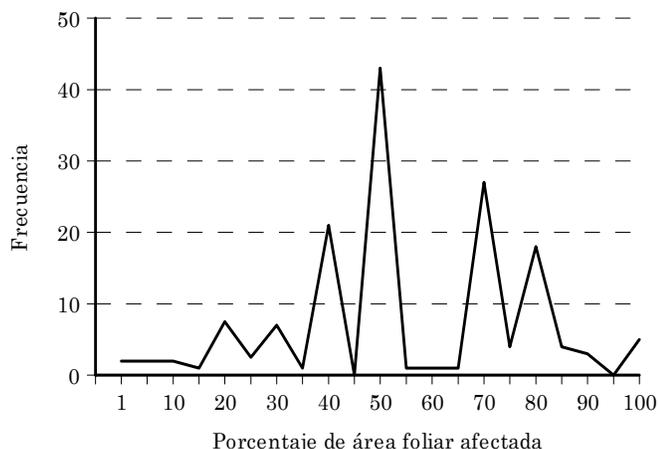


Fig. 3. Polígono de frecuencia para porcentaje de área foliar afectada a los 19 ddi en plantas F_3 de caraota inoculadas con *X. phaseoli*.

presentaron valores distintos: 54,98 y 50,00, respectivamente; el valor de la kurtosis fue de -0,39 (distinto de 3) y, finalmente, la probabilidad (p) obtenida fue de $<0,0001$ lo que indicó un valor inferior a 0,05 (6). De esta manera, se confirma que los datos de porcentaje de AFA no presentaron una distribución normal, y por lo tanto, el carácter de resistencia no corresponde a una herencia de tipo cuantitativa.

Antes de evaluar si el carácter es de tipo cualitativo, se determinó la distribución de la frecuencia de los distintos grados de la escala de reacción a *X. phaseoli* de las plantas F_3 , así como los parentales y testigos (Cuadro 2 y Fig. 4). El mayor grupo de plantas (64) que presentó una baja susceptibilidad a la bacteriosis común se ubicó en la escala 5, incluyendo al padre portador de la resistencia (Línea 8). De la misma manera, se obtuvo la presencia de un grupo de 32 plantas con escala 7, considerándose altamente susceptibles. En esta misma escala se incluye el padre portador de la susceptibilidad (MEM-0103014), lo que indica que la mayoría de las plantas se comportaron muy similares a los padres. Asimismo, los testigos "XAN 154" y "XAN 149", se ubicaron en la escala 4 y 6, respectivamente; con pocos individuos de la población de comportamiento similar. Por otra parte, no se observaron plantas con escala 1 (completamente resistentes) y muy pocas plantas en escala 6 y 11, con resistencia alta y moderada, respectivamente. Hubo también otro grupo de plantas con niveles de susceptibilidad superiores al padre susceptible.

En la Fig. 4 y Cuadro 2 también se observa la presencia de dos categorías: una conformada por las plantas resistentes (escala 1 a 5) y otra por las plantas susceptibles (escala 6 a 9). Es de hacer notar que ambas categorías incluyen los grupos de plantas que se presentan con mayor frecuencia, lo que denota que la población F_3 presenta características de resistencia y susceptibilidad muy similares a los padres que dieron origen a esa población. En trabajos similares, Ramis (14) y Castañeda (2), consideraron como resistentes a las plantas con una escala de reacción de 1 a 4 y de susceptibles de 5 a 9. En ambos casos, "XAN 154" presentó una resistencia alta correspondiente al nivel 2; lo que difiere del presente trabajo donde su nivel de resistencia correspondió al nivel 4, equivalente a resistencia baja. Esto posiblemente se deba a la fuerte presión de inóculo a la que fue sometida bajo las condiciones de este ensayo.

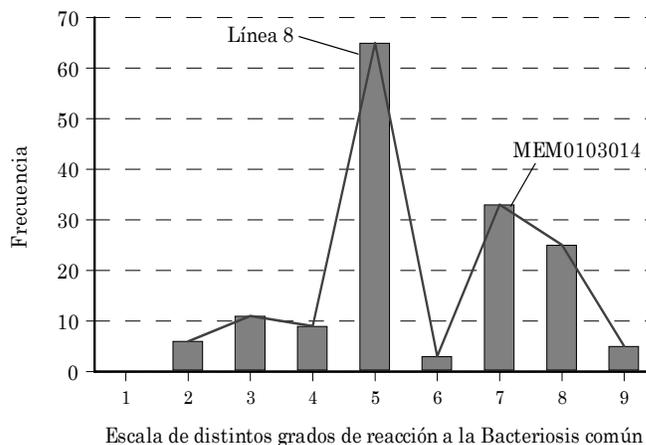


Fig. 4. Número de familias F_3 en cada categoría de la escala de evolución de resistencia a *X. phaseoli*.

Por otra parte, el parental Línea 8 había mostrado resistencia bajo condiciones de campo y por eso se utilizó como el progenitor que aportaba la resistencia. Es la primera vez que se evalúa bajo condiciones de umbráculo y posiblemente la fuerte presión de inóculo lo clasificó en un nivel de baja susceptibilidad. Sería conveniente incluirlo como testigo en futuros trabajos de investigación para comparar su nivel de resistencia.

A fin de verificar la herencia de la resistencia a *X. phaseoli*, se consideró como resistentes las plantas con una escala del 1 al 5, y susceptibles de 6 a 9 tomando en cuenta las categorías formadas. Se planteó como hipótesis nula que la herencia de la resistencia está controlada por un gen mayor. La frecuencia observada para estos dos fenotipos se comparó con la frecuencia esperada para una segregación 5/8 resistentes: 3/8 susceptibles, correspondiente a un gen mayor dominante en F_3 . El Cuadro 3 presenta la prueba de bondad de ajuste (X^2), donde se comparan las frecuencias observadas y esperadas para las categorías resistente y susceptible.

El valor de X^2 total obtenido es menor al valor tabulado X^2 para un grado de libertad (3,84), por lo que se acepta la hipótesis nula de que el carácter de resistencia a la bacteriosis común viene dada por un gen mayor. Sin embargo, como ya se mencionó hubo un pequeño grupo de plantas que presentaron valores de resistencia superiores al padre resistente; así como, valores de susceptibilidad superiores al padre susceptible. La presencia de esta variabilidad en las plantas F_3 evaluadas parece indicar la presencia de poligenes de efecto menor, lo que pudiera sugerir que estamos en presencia de una herencia transgresiva (5).

Los resultados obtenidos nos permiten inferir que el carácter de la resistencia a la bacteriosis común, viene dado

Cuadro 3. Prueba de bondad de ajuste X^2 para la evaluación la segregación de un gen mayor dominante de resistencia a la bacteriosis común en plantas F_3 de caraota.

| Clases | O | E | (O-E) ² /E |
|--------------|-----|---------|-----------------------|
| Resistentes | 89 | 95,625 | 0,45898693 |
| Susceptibles | 64 | 57,375 | 0,76497821 |
| TOTAL | 153 | 153,000 | 1,22396514 |

por la presencia de un gen mayor de resistencia más un conjunto de poligenes de efecto menor. Resultados similares fueron obtenidos por Castañeda (2).

Aquellas plantas que presentaron niveles superiores al padre resistente deberán tomarse en consideración en futuros programas de mejoramiento donde se desee incorporar genes de resistencia a la bacteriosis común de la caraota.

Se recomienda sembrar mayor número de padres y testigos, para garantizar la presencia de suficientes individuos para el ensayo, en caso de fallas en la germinación o muerte de las plántulas. En cuanto a la evaluación de resistencia en umbráculo, es necesario colocar los testigos y padres en cada uno de los mesones donde se encuentren las plantas a evaluar, así se podrá evidenciar la presencia de un escape o la resistencia a la enfermedad. En general, se considera importante incluir las herramientas moleculares en ensayos donde se evalúa el modo de herencia de una enfermedad, debido a la precisión de éstos estudios. En programas de mejoramiento donde se desee incorporar genes de resistencia a la bacteriosis común en caraota se deben continuar evaluando las plantas F_3 que presentaron un valor de resistencia superior al padre resistente y, finalmente, incorporar estudios de translocación de los síntomas en las plantas al evaluar la resistencia a la bacteriosis común en caraota.

LITERATURA CITADA

- Albarracin, M. Trujillo, G. Borges, O. 1982. La quemazón bacteriana de la caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) en Venezuela. Rev. Fac. Agron. (Maracay), 12(3-4): 213-225.
- Castañeda, R. 2010. Evaluación molecular de la resistencia a la bacteriosis común (*Xanthomonas phaseoli*) y del rendimiento en familias F2:4 de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). Trabajo de grado. Universidad Central de Venezuela. Maracay. Venezuela. 84 pp.
- Contreras, N. Trujillo, G., Borges, O. y Centeno, F. 2001. Análisis ultraestructural de la interacción de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* con genotipos resistentes, moderadamente resistentes y susceptibles de *Phaseolus vulgaris* L. Interciencia 26:554 – 557.
- García, M. 1978. Patología Vegetal Práctica. 4ta. Ed. Editorial Limusa. México. 156 pp.
- Gardner, E. 1972. Principios de Genética. 2da. Ed. Editorial Limusa – Wiley. S.A. México. 551 pp.
- González, H. 2006. La prueba de Shapiro & Wilk para verificar la normalidad de un conjunto de datos proveniente de muestras pequeñas. Área de Estadística, Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales. Universidad Rafael Landívar. Guatemala C.A. 14 pág. [en línea] http://byrong.50g.com/estadistica/estadap/shapiro_wilks_byrong.pdf
- Gutiérrez, M., Pérez, D., Romero, A. y Rivas, D. 2008. Segundo Informe Nacional sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos para la Agricultura y la Alimentación. Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierra (MPPAT); Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA); Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Venezuela. 171 pp.
- López, R. 2003. Caracterización de patógenos implicados en la bacteriosis de judía grano (*Phaseolus vulgaris* L.) en Castilla y León, puesta a punto de un método de inoculación y búsqueda de fuentes de resistencia en variedades locales. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla de León (ITA) Junta de Castilla de León. Palencia. España. 124 pp.
- Maselli, A., Rosales, L.C. y Guevara, Y. 2006. Uso de extractos vegetales sobre *Xanthomonas phaseoli*, causante de la quemazón en *Phaseolus vulgaris* L. CENIAP HOY, N° 12. [en línea]. http://www.ceniap.gov.ve/pbd/RevistasTecnicas/ceniaphoy/articulos/n12/arti/maselli_a.htm.
- Movil, O., Maselli, A., Ramis, C., Pérez, D., Pérez, M., Medina, A., Maselli, M. y Gutiérrez, M. 2005. Desarrollo de la sintomatología de la bacteriosis común de la caraota en diferentes genotipos de *Phaseolus vulgaris* L. II Congreso Venezolano de Mejoramiento Genético y Biotecnología Agrícola. 19 al 21 de Octubre del 2005. IDEA. Caracas – Venezuela.
- Salih L., Alberto, J., Beg, D., Tesara, J., Sánchez, M., Maselli, A., González, M., Bolívar, A., Subero, L., Garrido, M. y Trujillo, G. 2000. Obtención de variedades de caraota de alto rendimiento y resistentes a problemas fitosanitarios. Proyecto de Investigación, Producción y Servicio [en línea]. <http://www.sian.inia.gob.ve/repositorio/congresos/jornadasCeniap/web/slarca.htm>.
- Salomón, J. 2002. Evaluación y selección de familias F2 en F3 de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) por su reacción a *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. Trabajo de grado. Postgrado en Agronomía. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay. Venezuela. 70 pp.
- Schaad, N., Jones, J. and Chun, W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3era Ed. The American Phytopathological Society St Paul, Minnesota. USA. 371 pp.
- Ramis, C., Medina, A., Maselli, A., Pérez, M., Movil, O., Salazar, L., Jiménez, J., Bedoya, A., Pérez, D. y Gutiérrez, M. 2007. Informe Final del Subprograma : Búsqueda de marcadores moleculares asociados a la resistencia a la bacteriosis común (*Xanthomonas phaseoli*) en caraota. BID – FONACIT II; Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas INIA – CENIAP; Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, CIBA. Maracay, Venezuela. s/p.
- Trujillo, G., Hernández, Y. y Muñoz, C. 2000. Semilleros de tabaco afectados por *Erwinia carotovora* subsp. atroseptica en el Estado Cojedes, Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía (Maracay) 26:27-38.