

USO DE Phaseolus vulgaris SILVESTRE PARA MEJORAR
FRIJOL POR RESISTENCIA A LOS BRUCHIDOS

Cesar Cardona y Julia Komegay*

Introducción

Los bruchidos Zabrotes subfasciatus (Boheman) y Acanthoscelides obtectus (Say) son las más importantes plagas de almacenamiento del frijol en el mundo. Las pérdidas en almacenamiento se han calculado en 13%. Entre los diferentes métodos utilizados para el control de los bruchidos, CIAT ha enfatizado la búsqueda y desarrollo de materiales de frijol con resistencia al ataque de estas plagas. En este trabajo, intentamos resumir el conocimiento actual sobre la utilización de materiales silvestres para conferir resistencia a bruchidos en variedades cultivadas.

Fuentes de Resistencia

La búsqueda de fuentes de resistencia a bruchidos se inició en 1978. Se examinaron más de 8000 cultivares, pero no se hallaron niveles adecuados de resistencia (Schoonhoven y Cardona, 1982). En 1981 y 1982, una pequeña colección de materiales silvestres se sometió a evaluación rutinaria. Un puñado de estos materiales mostró niveles muy altos de resistencia a las dos especies de bruchidos (Schoonhoven et al., 1983). De un total de 380 materiales evaluados, 12 fueron calificados como muy resistentes a Z. subfasciatus y se ha reconfirmado que 14 son resistentes a A. obtectus.

* Entomólogo y Fitomejorador de Frijol, respectivamente, CIAT, A.A. 6713, Cali, Colombia.

Hasta el momento, no se han detectado fuentes de resistencia en frijoles silvestres originarios de otros sitios de América Latina. Todos los materiales con resistencia a los brúchidos son volubles y generalmente poseen hábitos enredaderas. Muestran tendencia a la dehiscencia y tienen semilla pequeña (6-7 g por 100 semillas). La dureza de la testa es característica de estos materiales. También se pueden cruzar fácilmente con las variedades cultivadas.

Mecanismos de Resistencia

Se ha demostrado que la antibiosis es el mecanismo responsable de la resistencia a las dos especies de brúchidos ya mencionadas (Schoonhoven et al., 1983; Cardona et al., 1989). Los datos presentados en el Cuadro 1 muestran que hay un significativo efecto deletéreo en la biología de los insectos y en su supervivencia: se reduce notoriamente la emergencia de los adultos en los materiales resistentes; el ciclo de vida de los insectos sobrevivientes se prolonga y se reduce el peso de la progenie. Algunos estudios más recientes han revelado que la antibiosis produce tasas negativas de crecimiento de las poblaciones de brúchidos, ciclos de vida prolongados y disparejos, alta mortalidad de los primeros instares tardíos y de los segundos instares tempranos, reducida fecundidad de las hembras, y relaciones de sexos inclinadas a favor de los primeros.

Aún cuando las testa de la semilla pueden ocasionalmente actuar como una barrera física, Cardona et al. (1989) demostraron que los factores responsables de la resistencia son de naturaleza química y se hallan en los cotiledones de la semilla. Cuando se eliminan las testas y los insectos se crían en semillas "artificiales", se pueden distinguir fácilmente las respuestas de resistencia y de susceptibilidad (Cuadro 2).

Factores de Resistencia

1. Zabrotes subfasciatus

La investigación sobre los factores responsables de la resistencia se inició en 1983. Una nueva proteína, presente sólo en variedades silvestres con resistencia a Z. subfasciatus, fue identificada en la Universidad de Wisconsin (Osborn et al., 1986). Esta proteína se llamó arcelina (por Arcelia, la ciudad de México donde se ha colectado la mayor parte de los frijoles resistentes) y se consideró como el factor responsable de la resistencia a los brúchidos. Existen cuatro variantes de la arcelina, las cuales se pueden detectar fácilmente por electroforesis de SDS-Page (Figura 1). La proteína también se puede detectar serológicamente.

Aunque la presencia de la arcelina se correlacionó con la resistencia a Z. subfasciatus, fue necesario probar que la resistencia se relacionaba con la transferencia del gen de la arcelina. Romero Andreas et al. (1986), usando una estrategia de retrocruzamiento y autofecundación, demostraron que la presencia de la arcelina se hereda a través de un solo gen dominante. Estos investigadores introdujeron el alelo arcelina-1 de G 12882 en el cultivar Sanilac. Las semillas de las líneas de retrocruzamiento se sometieron a pruebas de resistencia a Z. subfasciatus (Cuadro 3). Todas las líneas homocigotas para arcelina-1 mostraron altos niveles de resistencia (ciclo de vida prolongado, emergencia reducida). Las líneas que no tenían arcelina-1 fueron completamente susceptibles en comparación con Calima y las líneas heterocigotas mostraron niveles intermedios de resistencia (Osborn et al., 1988). En conjuntos análogos de líneas de retrocruzamiento de diferentes tipos de frijol cultivado se demostró una vez más que la resistencia está asociada a la transferencia del gen de arcelina.

Para demostrar aún más que la arcelina era el factor que confería resistencia a Z. subfasciatus, se prepararon y probaron semillas

"artificiales" que contenían diferentes niveles de arcelina-1 purificada (Osborn et al., 1988). Como se puede observar en el Cuadro 4, hubo una respuesta a la dosificación con crecientes niveles de arcelina-1 en las semillas artificiales. El ID50 en esa prueba, y en otras que le siguieron, fue de aproximadamente 6.5%. Las actividades insecticidas de arc-2 y arc-4 se han demostrado en pruebas más recientes, todavía no publicadas.

Estos hallazgos han facilitado enormemente el mejoramiento por resistencia a Z. subfasciatus. Todas las poblaciones segregantes se prueban rutinariamente para determinar la presencia o ausencia de arcelina mediante una técnica serológica simple y confiable, la placa Ouchterlony. Las semillas que no tienen arcelina se descartan, aquellas que contienen la proteína son seleccionadas y manipuladas como se describe en el Cuadro 5.

2. Acanthoscelides obtectus

Se sabe por pruebas múltiples que la presencia de arcelina no confiere necesariamente resistencia a esta especie. Algunos investigadores de la Universidad de Etorham (Gatehouse et al., 1987) han sugerido que la resistencia a A. obtectus se debe, al menos parcialmente, a la presencia de un heteropolisacárido que posee un contenido inusualmente alto de arabinosa y fucosa. Esta hipótesis no ha sido confirmada en CIAT ni en ningún otro lugar, como tampoco se ha desarrollado ningún método para detectar la presencia del carbohidrato. La falta de una técnica de selección rápida y confiable por resistencia a A. obtectus ha sido una de las principales limitaciones para el desarrollo de materiales resistentes a esta especie.

Mejoramiento por Resistencia

1. Zabrotes subfasciatus

Se está utilizando un esquema de retrocruzamiento para mejorar el frijol por resistencia a esta especie.

Como se muestra en el Cuadro 5, el esquema se basa considerablemente en la selección por presencia de arcelina en las generaciones F_1 y F_2 . Esto facilita la selección en un gran número de poblaciones segregantes y posee la ventaja adicional de que las características comerciales deseables del progenitor recurrente se recuperan rápidamente. Actualmente, se han desarrollado líneas homocigotas F_5 con niveles muy altos de resistencia y con características aceptables de semilla (Cuadro 6.).

2. Acanthoscelides obtectus

Después de un estudio de la herencia que sugirió que la resistencia a A. obtectus podía estar controlada por uno o dos genes recesivos, se adoptó también un esquema de retrocruzamiento para mejorar el frijol por resistencia a esta especie. Como se muestra en el Cuadro 7, la falta de una técnica de selección rápida para seleccionar por resistencia en las primeras poblaciones segregantes constituye una desventaja. Esto nos ha forzado a realizar numerosas pruebas individuales de alimentación con el insecto, un proceso dispendioso. Por ésto, el mejoramiento por resistencia a A. obtectus ha progresado en forma más lenta. Actualmente, se están sembrando los primeros materiales resistentes BC_2F_2 los cuales se someterán a selección y luego a evaluación de resistencia en pruebas replicadas.

Bibliografía

Cardona, C., C.E. Posso, J. Komegay, J. Valor and M. Serrano. 1989.

Antibiosis effects of wild dry bean accessions on the Mexican bean weevil and the bean weevil (Coleóptera: Bruchidae). J. Econ. Entomol. 82:310-315.

Gatehouse, A.M.R., P. Dobie, R.J. Hodges, J. Meik, A. Pusztai and D.

Boulter. 1987. Role of carbohydrates in insect resistance in Phaseolus vulgaris. J. Insect Physiol. 33:843-850.

- Osborn, T.C., T. Blake, P. Gepts and F.A. Bliss. 1986. Bean arcelin. 2.
Genetic variation, inheritance and linkage relationships of a novel
seed protein of Phaseolus vulgaris L. Theor. Appl. Genet. 71:847-855.
- Osborn, T.C., D.C. Alexander, S.S. Sun, C. Cardona and F. A. Bliss. 1988.
Insecticidal activity and lectin homology of arcelin seed protein.
Science 240:207-210.
- Romero Andreas, J., B.S. Yandell and F.A. Bliss. 1986. Bean arcelin. 1.
Inheritance of a novel seed protein of Phaseolus vulgaris L. and its
effect on seed composition. Theor. Appl. Genet. 72:123-128.
- Schoonhoven, A.van and C. Cardona. 1982. Low levels of resistance to the
Mexican bean weevil in dry beans. J. Econ. Entomol. 75:567-569.
- Schoonhoven, A.van, C. Cardona and J. Valor. 1983. Resistance to the bean
weevil and the Mexican bean weevil (Coleóptera: Bruchidae) in
noncultivated coramon bean accessions. J. Econ. Entomol. 76:1255-1259.

Cuadro 1. Niveles de resistencia a brúchidos en variedades de frijol silvestres en comparación con variedades cultivadas.

Material	Tamaño semilla (g/100 semillas)	Porcentaje emergencia	Días a emergencia de los adultos	Peso por adulto (g x 10 ⁻³)
<u>Zabrotes subíaseiatus</u>				
G 12949	7	16.2	63.0	0.7
G 12952	6	17.4	65.2	0.7
G 12953	6	14.8	67.4	0.6
Calima (susceptible)	50	96.1	33.7	1.6
<u>Acanthosceli des obtectus</u>				
G 12891	8	31.6	52.1	1.8
G 12949	7	4.0	62.5	2.0
G 12954	6	7.2	55.1	1.0
Calima (susceptible)	50	58.4	36.6	2.6

Cuadro 2. Biología de Zabrotes subfasciatus en semillas "artificiales" e intactas de cuatro variedades.

Técnica	Vari edad	Clasificación	Porcentaje de emergencia	Días a emergencia de adultos
Semilla "artificial"	Calima	Susceptible	87.7	37.9
	L 12-56	Susceptible	74.7	38.4
	Sanilac	Susceptible	86.1	37.8
	SARC 1	Resistente	18.4	53.7
Semilla intacta	Calima	Susceptible	93.0	31.5
	L 12-56	Susceptible	100.0	32.1
	Sanilac	Susceptible	95.9	31.3
	SARC 1	Resistente	7.3	50.7

Cuadro 3. Niveles de resistencia a *Z. subfasciantus* en líneas derivadas del retrocruzamiento con Sanilac, con arcelina-1 (Arcl/Arcl), sin arcelina-1 (arc/arc), y segregantes por arcelina-1 (Arcl/arc).

Línea No.	Genotipo Arcel.	Días a emergencia de adultos	Porcentaje de emergencia
3	Arcl/Arcl	53.0	2.5
5	Arcl/Arcl	47.8	2.1
4	Arcl/arc	33.2	20.9
7	Arcl/arc	37.2	38.7
8	Arcl/arc	38.1	34.6
9	Arcl/arc	35.4	30.2
1	arc/arc	34.2	89.5
2	arc/arc	34.7	76.3
6	arc/arc	34.4	93.8
Calima (susceptible)	arc/arc	34.0	92.9

Cuadro 4. Niveles de resistencia a *Z. subfasciatus* en semillas intactas y artificiales, con y sin adición de arcelina-1 purificada.

Tratamiento	Días a emergencia de adultos	Porcentaje de emergencia
Semilla intacta		
Sanilac	31.3	95.9
Semilla "artificial"		
Sanilac	37.8	86.1
Sanilac + 2.5% arcelina-1	38.9	76.1
Sanilac + 5.0% arcelina-1	44.7	76.1
Sanilac + 10.0% arcelina-1	53.4	18.4

Cuadro 5. Esquema de mejoramiento de frijol por resistencia a Zabrotes subfasciatus.

Resistente x Susceptible

- F_1 : retrocruzada con progenitor susceptible.
- BC F_{ri} : pruebas serológicas de 10-20 semillas por cruce. Arc⁺ se retrocruzan con progenitor susceptible.
- BC F_{V1} : pruebas serológicas de 10-20 semillas por cruce. Arc⁺ se siembran y se seleccionan plantas individuales en el campo.
- BC F_{2F2} : pruebas serológicas de 10-20 semillas por planta seleccionada en BC^F. Are homocigotas se siembran en pruebas de progenie en el campo y se seleccionan por sus características agronómicas.
- «³ : las semillas se someten a pruebas replicadas de alimentación con el insecto. Las progenies resistentes se siembran en el campo y se seleccionan por sus características agronómicas.
- *⁴ : las mejores líneas se codifican RAZ.

Cuadro 6. Niveles de resistencia a Zabrotes subfasciatus en algunas de las líneas F._D seleccionadas en 1988.

Lfnea	Porcentaje de emergencia	Di as a emergencia de adultos	Peso por adultos (g x 10)
GG 97-1-2-CM	20.2	A0.8	1.1
GG 98-10-2-CM	10.8	A5.A	1.0
GG 98-22-2-CM	19.8	A1.5	1.1
GG 98-28-2-CM	10.3	A6.0	1.0
GG 98-28-2-CM	5.3	AA.2	1.0
GG 98-33-1-CM	A.3	A8.3	0.9
G 12952 (silvestre, resistente)	9.7	61.3	0.6
Calima (cultivada, susceptible)	97.A	30.5	1.A

Cuadro 7. Esquema de mejoramiento de frijol por resistencia a Acanthoscelides obtectus.

Resistente x Susceptible

- F₁ : aumento de semilla
 - F₂ : pruebas de alimentación con semilla individual (200 semillas por cruce) con el insecto. Las semillas resistentes se siembran y retrocruzan con el progenitor susceptible
 - BC₁F₁ : aumento de semilla
 - ^2 : pruebas de alimentación con semilla individual (200 semillas por cruce) con el insecto. Las semillas resistentes se siembran y retrocruzan con el progenitor susceptible
 - BC₂F₁ : aumento de semilla
 - ^2 : pruebas de alimentación con semilla individual (200 semillas por cruce) con el insecto. Las semillas resistentes se siembran y retrocruzan con el progenitor susceptible
 - *^3 : pruebas replicadas de alimentación con el insecto para cada una de las plantas individuales seleccionadas en BC^F^ Las líneas resistentes se siembran y se seleccionan por sus características agronómicas
 - "A : pruebas repetidas de alimentación con el insecto para cada una de plantas individuales seleccionadas en BC F^. Las líneas resistentes se siembran y se seleccionan por sus características agronómicas
 - BC₂F₅ : las mejores líneas se codifican RAC
-