

8. Rocco, D. M. The use of "activated" DNBP and 2,4-DB for the control of weeds in lucerne. Proc. Afr. Weed Contr. Conf., S. Rhodesia (n. d.): 209-11. 1958.
9. SAND, P. F. and Mc CARTY, M. K. Chemical weed control in seedling alfalfa. II. Control of broad-leaved weeds. Weeds 7: 317-323. 1959.
10. SCHREIBER, MARVIN, M. Pre-emergence herbicides on alfalfa and birdsfoot trefoil. Weeds 8 (2): 291-299. 1960.
11. SMITH, L. W. Chemical weed control in lucerne. Proc. 2nd. Aust. Weeds Conf. 36-38. 1960.
12. —. You can stablish good forage stands without companion crops. Crops & Soil, 12 (5) : 7-9. 1960.

Determinación de la resistencia por hipersensibilidad al mosaico común del frejol *Phaseolus virus 1*

Mario Alvarez A.¹

INTRODUCCION

El mosaico común del frejol (*Phaseolus virus 1*) fue observado por primera vez en Rusia en 1894 por Iwanoski y se encuentra ampliamente difundido en todos aquellos países en que se cultiva el frejol, causando grandes disminuciones de rendimiento en las variedades susceptibles. En nuestro país se encuentra distribuido a lo largo de toda el área de cultivo del frejol, atacando sin excepción a todas nuestras variedades de consumo interno y de exportación. El virus, al igual que la mayoría de las enfermedades virosas, muy rara vez destruye las plantas, pero produce síntomas que van desde el moteado leve a deformaciones foliares de varios tipos, deformación de las vainas, aborto de flores, achaparramiento general, etc., que provocan, en conjunto, una gran disminución de los rendimientos totales del cultivo.

Por esta razón, el Programa Frejoles del Instituto de Investigaciones Agropecuarias está basado, en gran parte, en la obtención de variedades comerciales (Tórtolas, Cristal Bayo, Cristal Blanco, Coscorrón, etc.) que sean resistentes al virus del mosaico común, para lo cual se está llevando a cabo un intenso programa de cruzamientos con variedades extranjeras resistentes.

En la práctica, sin embargo, no siempre es fácil determinar con precisión absoluta la resistencia o susceptibilidad al virus de ciertas variedades establecidas, o de generaciones disociantes de hibridaciones y retrocruzas. Este trabajo tiene como objetivo analizar dos métodos de laboratorio que permitan establecer con cierta precisión las características de resistencia a la enfermedad de una línea en segregación o variedad establecida.

Debido a que la investigación debe considerar necesariamente la herencia de las variedades empleadas, el presente trabajo no puede obviar efectuar un análisis de los factores genéticos que condicionan la efectividad de los métodos empleados.

REVISION DE LITERATURA

RESISTENCIA VARIETAL EN RELACION A LA HERENCIA. Robust, de Michigan, fue la primera variedad de los Estados Unidos, y por mucho tiempo la única, que mostró ser resistente al virus del mosaico común. Posteriormente, se obtuvieron varios tipos de Great Northern que igualaban a Robust en resistencia, y la variedad Corbett Refugee, producto de una selección de Stringless Green Refugee del cual se han obtenido derivados igualmente resistentes, como el Idaho Refugee, Wisconsin Refugee, Tendercrop, Topcrop, etc. (8), (12).

La determinación de los factores que regulan la herencia de la resistencia al mosaico común ha sido estudiada por numerosos autores y sólo en los últimos años se ha logrado establecer en forma más o menos definitiva el comportamiento de los genes en relación a la resistencia de la enfermedad.

Pierce (6) demostró que en el F₂ de un cruzamiento entre Robust y Corbett Refugee, ambos resistentes al mosaico común, aparecen individuos susceptibles, lo que indica que ambas variedades poseen genes diferentes para resistencia.

Mc. Rostic (4) encontró que la susceptibilidad de Robust es dominante (o parcialmente dominante) sobre resistencia, en tanto que Parker (5) encontró que en cruzamientos de una variedad susceptible con Robust, el F₁ dependía, en cierta proporción, de la variedad usada como madre, es decir, que los cruzamientos recíprocos hacían variar los resultados; por esta razón los resultados no pueden

¹Ingeniero Agrónomo, Proyecto Fitopatología, Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias.

Profesor Auxiliar Cátedra de Fitopatología General, Facultad de Agronomía, Universidad Católica de Chile, y Cátedra de Fitopatología, Universidad Católica de Valparaíso.

adaptarse a una explicación mendeliana simple, sino que es necesario presumir una influencia citoplasmática o extranuclear. Sin embargo, en cruzamientos de la variedad susceptible con Corbett Refugee, el F_1 era resistente, de lo cual nuevamente se desprende que las variedades resistentes difieren en su base de resistencia.

Pierce (6) estudió la herencia de 3 variedades resistentes: Corbett Refugee, Great Northern 1 y Robust, las cuales se cruzaron con la variedad susceptible Stringless Green Refugee, y determinó que la herencia en Robust y Great Northern era igual (resistencia recesiva) y que difería con respecto a Corbett Refugee (resistencia dominante)

Wade y Andrus (11), en cambio, determinaron en un cruzamiento entre Stringless Black Valentine (susceptible) y U.S. 5 Refugee (derivado de Corbett Refugee), que la resistencia de este último es dominante y que depende de un factor simple; a su vez no encontraron diferencias significativas entre los cruzamientos recíprocos.

Finalmente, la resistencia genética de algunas variedades o sus respectivos derivados fue, en parte, aclarada por Ali (1) quien encontró que la resistencia de Idaho Refugee y U.S. 5 Refugee, ambos descendientes de Corbett Refugee, es dominante con respecto a Stringless Green Refugee, en tanto que la de Robust es recesiva en relación a esta variedad. Según esto, la resistencia y susceptibilidad de estas tres variedades depende de la interacción de dos factores Aa e Ii , en donde A sería el alelo dominante para susceptibilidad, I el alelo dominante, inhibidor de susceptibilidad y a alelo recesivo para resistencia. De acuerdo a esto, $AAii$ sería el genotipo para susceptibilidad (Stringless Green Refugee); $AIII$ el genotipo de Corbett Refugee y sus derivados, en donde la expresión fenotípica de resistencia se debe al inhibidor dominante, y $aaii$ que sería el genotipo de Great Northern, Robust, Michelite, etc., cuya expresión fenotípica de resistencia se debe a un alelo recesivo.

HIPERSENSIBILIDAD EN RELACION A LA HERENCIA. En 1940, Jenkins (3) describió lo que parecía ser un nuevo virus del frejol, que denominó "black-root". En condiciones de campo, los síntomas consistían en una marchitez de las hojas apicales, seguida de las hojas basales, terminando con la muerte de la planta; estos síntomas se acompañaban de necrosis vascular de raíces, tallos, hojas y vainas.

En condiciones de invernadero, las plántulas manifestaban síntomas que comenzaban con lesiones locales en las hojas trifoliadas y necrosis del extremo apical hasta provocar la muerte de ellas (Figura 1).

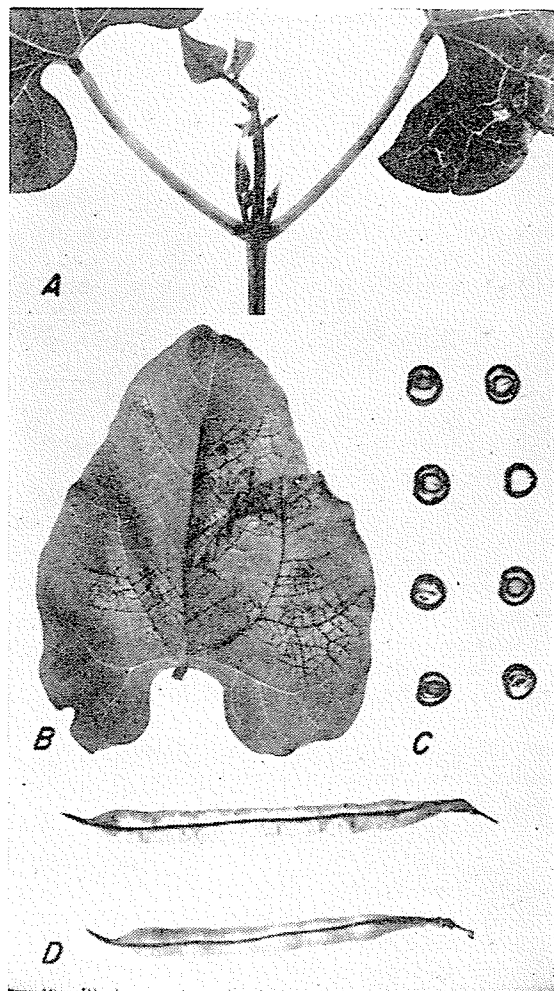


Figura 1 — A) Necrosis vascular del tallo; B) Necrosis de las venas en una hoja primaria; C) Corte transversal de una vaina con necrosis vascular, y D) Necrosis en la sutura dorsal de las vainas (según Zaumeyer).

Posteriormente, se estableció que esta necrosis sistémica se debía a un tipo de expresión sintomatológica del mosaico común que se producía solamente en aquellas variedades cuya resistencia al virus se derivaba del Corbett Refugee, y por lo tanto de constitución genotípica $AIII$ (13, 14).

Grogan y Walker (3) demostraron que en aquellas variedades derivadas de Corbett Refugee, al ser inoculadas mediante injertos de aproximación, el virus provocaba la muerte del extremo apical de las plantas, es decir ocurría un fenómeno de hipersensibilidad; por otra parte, las variedades derivadas de Robust y Great Northern, de genotipo $aaii$, permanecían sanas. Estos mismos autores sugirieron que este fenómeno representaría un tipo de resistencia de campo, por hipersensibili-

dad, que se manifestaría en aquellas variedades de fórmula genotípica *AIII*, solamente al ser inoculadas siguiendo una metodología especial.

Thomas (9) y Thomas y Fischer (10) estudiaron la influencia de los factores ambientales necesarios para que se produzca artificialmente la necrosis sistémica o hipersensibilidad, inoculando mecánicamente las plántulas cuando aparecían las hojas primarias; las plantas, colocadas a 32° C. mostraron necrosis de las venas a los 3-4 días, pero sólo en aquellas variedades con el tipo de resistencia Corbett Refugee. Es decir, que tanto en aquellas variedades con resistencia de tipo recesivo, como en las variedades susceptibles, no se desarrollaba necrosis.

Quantz (7) describió un método de laboratorio para determinar la hipersensibilidad en hojas amputadas de las variedades derivadas del Corbett Refugee. Estas hojas fueron inoculadas con el virus y colocadas en condiciones de humedad y luminosidad, a temperaturas de 28°-35° C.; las variedades con genes de resistencia para hipersensibilidad (*AII*), reaccionaban a los 2-3 días con necrosis de las venas, en tanto que las hojas de las variedades susceptibles permanecían normales.

MATERIAL Y METODO

Los dos métodos estudiados para inducir artificialmente la presencia de síntomas de hipersensibilidad o resistencia de campo en algunas variedades de frejol, fueron el indicado por Thomas y Fisher sobre plántulas y el de Quantz sobre hojas amputadas. Se descartó de la experiencia el método de Grogan y Walker, de la injertación, por haber resultado complicada su aplicación en las pruebas preliminares.

Las variedades usadas se escogieron en base a su distinta reacción al virus del mosaico común, de acuerdo a los antecedentes proporcionados por la literatura: Robust, Michelite y Great Northern 123, como representantes del grupo resistente (*aaii*); Topcrop, Idaho Refugee, Wisconsin Refugee, Tendercrop y U.S. 5 Refugee, como representantes de las variedades resistentes por hipersensibilidad (*AII*); y Coscorrón, Cristal Bayo, Cristal Blanco y Tórtolas, como representantes de las variedades susceptibles.

INOCULACIÓN. Se sembraron en maceteros granos individuales de cada variedad. Posteriormente, a cada plántula se le amputó una de sus hojas primarias.

Para inocular las plántulas y hojas amputadas se usó savia diluida al 1/10, procedente

de plantas de la variedad Cristal Bayo con evidentes síntomas de mosaico común.

Las plántulas fueron espolvoreadas con corborundum (320 mesh) e inoculadas posteriormente por simple frotación sobre la única hoja cotiledónea que les quedaba, la que luego se lavó con abundante agua para quitar el exceso de abrasivo.

Cada una de las hojas primarias amputadas de las diferentes variedades fue inoculada con la misma savia, siguiendo una metodología igual a la empleada en la inoculación de las plántulas. Las hojas inoculadas fueron colocadas en discos Petri con papel filtro humedecido que se colocaron posteriormente bajo condiciones de luz artificial y mantenidos a una temperatura de aproximadamente 27-30° C.

Testigos de plántulas y de hojas amputadas fueron tratados en agua destilada, previo tratamiento con corborundum, y sometidos a las mismas condiciones.

SINTOMATOLOGÍA. Los primeros síntomas se manifestaron en las plántulas inoculadas de las variedades U.S. 5 Refugee, Wisconsin Refugee, Idaho Refugee, Tendercrop y Topcrop, los que se evidenciaron a los 5 ó 6 días después de la inoculación, por necrosis de las venas de las hojas inoculadas, que, en ciertos casos, se hacía presente en la parte inferior de las mismas. A los 2-3 días subsiguientes comenzó una necrosis visible en las primeras hojas trifoliadas, consistentes en pequeños puntos necróticos en un comienzo, que luego conducían a una marchitez total de las hojas. Finalmente, esta necrosis se hizo presente a lo largo de todo el tallo, localizada, generalmente, a un solo lado del mismo, y que provocó la marchitez total de las plantas a los pocos días de la inoculación (Figura 2).

Cabe señalar que las variedades resistentes Michelite, Great Northern 123 y Robust permanecieron totalmente normales a lo largo de toda la experiencia, es decir no mostraron síntomas de ataque de virus ni de hipersensibilidad. Las variedades locales, en cambio, contrajeron la enfermedad, presentando síntomas visibles de mosaico común entre los 7 y 15 días siguientes a la inoculación.

Los primeros síntomas sobre las hojas amputadas aparecieron a los dos días de la inoculación, en forma de necrosis de las venas, en aquellas variedades derivadas del Corbett Refugee (*AII*): U.S. 5 Refugee, Topcrop, Tendercrop, Wisconsin Refugee e Idaho Refugee (Figura 3). Las variedades con el tipo de resistencia recesiva (*aaii*), Robust, Michelite y Great Northern 123, y las variedades locales permanecieron sin síntomas. Sin embar-

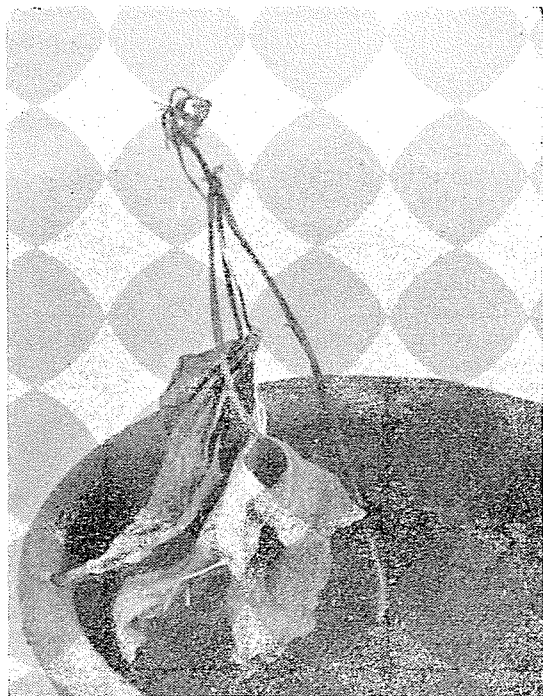


Figura 2 — Marchitez total de una variedad derivada de Corbett Refugee, como consecuencia de una reacción por hipersensibilidad (Foto E. Russi).

go, a los 4 o 5 días, todas las variedades comenzaron a mostrar síntomas de putrefacción, lo cual indica que sólo es posible establecer diferencias sintomatológicas durante los primeros tres días a partir de la manifestación inicial de la necrosis.

RESULTADOS

De las doce variedades probadas, sólo cinco tuvieron reacción de hipersensibilidad (Idaho, Refugee, Tendercrop, Topcrop, U.S. 5 Refugee y Wisconsin Refugee). Las restantes, ya sea por sus factores de total susceptibilidad o de resistencia recesiva al mosaico común, no mostraron reacción de tipo hipersensible. De las 41 plantas u hojas inoculadas correspondientes a variedades hipersensibles, 39 reaccionaron con el método de la planta entera y sólo 28 con el método de la hoja amputada. (Cuadro 1).

Con el objeto de determinar estadísticamente si las diferencias entre los dos tratamientos eran o no significativas, se empleó la prueba de "t" para muestras pareadas, transformando los valores del Cuadro 1 de las cinco variedades hipersensibles, en índices resultantes de la división del número de

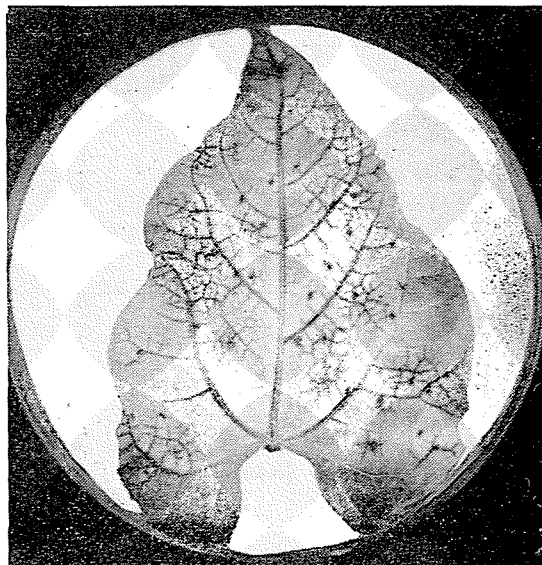


Figura 3 — Necrosis de las venas de las hojas de una variedad derivada de Corbett Refugee, como consecuencia de una reacción por hipersensibilidad (Foto E. Russi).

Cuadro 1 — Reacción de hipersensibilidad de variedades de frejol.

VARIEDAD	Nº TOTAL DE PLANTAS/PLANTAS CON HIPERSENSIBILIDAD	Nº TOTAL DE DE HOJAS/HOJAS CON HIPERSENSIBILIDAD
Coscorrón	10/0	10/0
Cristal Bayo	10/0	10/0
Cristal Blanco	10/0	10/0
Great Northern 123	10/0	10/0
Idaho Refugee	8/8	8/6
Michelite	10/0	10/0
Robust	9/0	9/0
Tendercrop	8/8	8/5
Topcrop	10/9	10/7
Tórtola	10/0	10/0
U. S. 5 Refugee	8/8	8/4
Wisconsin Refugee	7/6	7/6

plantas tratadas por el número de plantas con hipersensibilidad (Cuadro 2).

El valor de "t" observado indica que la diferencia entre los dos métodos probados es significativa al nivel de 0.05, es decir, que el método de prueba con plántulas es más efectivo que el de hojas amputadas para el estudio de este tipo de reacción.

Cuadro 2 — Valor "t" para muestras pareadas.

	INDICE PARA PLANTAS	INDICE PARA HOJAS
Idaho Refugee	1,100	1,333
Tendercrop	1,000	1,600
Topcrop	1,111	1,428
U. S. 5 Refugee	1,167	1,176
Wisconsin Refugee	1,167	1,167
	5,278	7,528

"t" observado: 2,69.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Como se puede observar en los resultados, ambos métodos son bastante satisfactorios y posibles de emplear en la práctica, especialmente para las condiciones actuales de nuestro país, en donde la principal fuente de resistencia que se emplea en las hibridaciones está constituida por variedades derivadas de Corbett Refugee, que son precisamente las únicas sobre las cuales se logró inducir artificialmente la hipersensibilidad.

Es indudable que los resultados demuestran la mayor efectividad del método de la planta entera, en comparación con el de las hojas amputadas, en lo que a las reacciones se refiere. No obstante, el primero no tiene ninguna posibilidad de aplicación cuando se desea probar la resistencia por hipersensibilidad de aquellos productos de las hibridaciones o retrocruzas en sus primeros estados

(F_1 , F_2 , R_1 , R_2 , etc.), pues el resultado final del test asegura la muerte total de las plantas con resistencia, que son precisamente las de mayor valor. Es por ello que el método sólo tendría aplicación en la determinación de la hipersensibilidad de variedades ya establecidas o de líneas en segregación avanzada. En cambio, el método de la hoja amputada sería de mayor utilidad si se pudiera reducir la proporción de hojas que no reaccionan en las variedades reconocidas como hipersensibles, lo que se podría lograr empleándose las dos hojas cotiledóneas de cada planta en lugar de una, aun en desmedro del vigor posterior de la planta madre. En experiencias paralelas a esta investigación, el autor pudo observar que el uso de dos hojas por planta da un mayor margen de seguridad. En efecto, pudo observar muchos casos en los cuales reaccionaba sólo una hoja de cada par, lo que indicaría que la ausencia de reacción al usar hojas individuales no ofrece seguridad total de que la planta no sea hipersensible.

Es posible que el método pudiera alcanzar una mayor perfección aún, al estudiar en el futuro las condiciones exactas de humedad, temperatura e intensidad luminosa que rigen la óptima formación de necrosis en las venas. La ventaja de este método, aparte de proporcionar informaciones rápidas sobre la resistencia de una planta (2 - 3 días), la constituye el hecho que puede ser empleado tanto en variedades establecidas como en hibridaciones y retrocruzas cuyas plantas individuales se desea preservar.

R E S U M E N

Se comparan dos métodos para determinar artificialmente la resistencia por hipersensibilidad de algunas variedades de frejol derivadas del Corbett Refugee, al ser inoculadas con el virus del mosaico común (*Phaseolus virus 1*).

El método de Thomas y Fisher, de la planta entera, demostró ser altamente efectivo, pero recomendándose su uso sólo en variedades establecidas o en líneas de segregación avanzada, pues las plantas finalmente se destruyen.

El método de Quanjer, de las hojas amputadas, demostró ser menos efectivo, pero su uso podría recomendarse, especialmente si se utilizaran las dos hojas cotiledóneas de cada planta en lugar de una, ya que se puede emplear para la determinación de resistencia por hipersensibilidad de plantas individuales de las que se desee obtener progenie en caso de ser seleccionadas.

S U M M A R Y

Two methods are compared for determining resistance artificially through hipersensibility of some bean varieties derived from Corbett Refugee, inoculated with common bean mosaic virus (*Phaseolus virus 1*).

The Thomas and Fisher method, using the entire plant, proved highly effective, but is only recommended in the case of established varieties or advanced segregation lines, inasmuch as the plants are finally destroyed.

The Quanjer method, using detached leaves, proved to be less effective, but could be recommended, especially if the two primary leaves of each plant are used instead of only one, as it allows determination of resistance through hypersensitivity to be made of individual plants which may be selected for progeny.

LITERATURA CITADA

1. ALI, M. A. Genetics of resistance to the Common Bean Mosaic Virus (*Bean virus 1*) in the bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Phytopath.* 40: 69-79. 1950.
2. GROGAN, R. G., and WALKER, I. C. The relation of Common Mosaic to Black Root of bean. *Jour. Agr. Res.* 77: 315-331. 1948.
3. JENKINS, WILBERT, A. A histological study of snap bean tissues affected with black root. *Jour. Agr. Res.* 62: 683-690. 1941.
4. MC ROSTIC, G. P. Inheritance of disease resistance in the common bean. *Jour. Am. Soc. Agr.* 13: 15-32. 1921.
5. PARKER, M. C. Inheritance of resistance to the Common Mosaic virus in the bean. *Jour. Agr. Res.* 52: 895-915. 1936.
6. PIERCE, W. H. The inheritance of resistance to common bean mosaic in field and garden peas. *Phytopath.* 35: 875-883. 1935.
7. QUANTZ, LUDWIG. Ein Schalentest zum Schnellnachweis des Gewöhnlichen Bohnenmosaikvirus (*Phaseolus virus 1*). *Nachrichtenbl. Deutch. Pflanzenschutzd.* Band 9. 5: 71-74. 1957.
8. RICHARDS and BURKHOLDER, H. WALTER. A new Mosaic Disease of Beans. *Phytopath.* 33: 1215-1216. 1943.
9. THOMAS, H. R. Factors affecting the development of necrosis in some bean varieties inoculated with Common Bean Mosaic Virus. *Phytopath.* 44: 508. 1954.
10. THOMAS, H. R. and FISHER, H. H. A rapid method of testing snap beans for resistance to Common Bean Mosaic Virus. *Plant. Dis. Rptr.* 38: 410-411. 1954.
11. WADE, B. L. and ANDRUS, C. F. A genetic study of Common Bean Mosaic under conditions of natural field transmission. *Jour. Agr. Res.* 63: 383-393. 1941.
12. WALKER, J. C. *Plant Pathology.* Mc Graw - Hill Book Co., Inc. 1957.
13. ZAUMEYER, W. J. and THOMAS, H. R. Shiny pod (greasy pod) virus and its identity with black root virus. *Phytopath.* 38: 29. 1948.
14. — A monographic study of Bean Diseases and methods for their control. *Tech. Bul U. S. D. A.* 869: 90-95. 1957.

Adaptabilidad de especies crucíferas oleaginosas en el secano de la costa centro-norte¹

Vital Valdivia B.²

Entre las oleaginosas productoras de materia prima para la elaboración de aceite comestible figuran algunas especies, pertenecientes a la familia de las Crucíferas, que por precocidad y modalidad de cultivo podrían adaptarse a las condiciones de secano de la costa centro-norte.

Existen antecedentes de que en la zona central algunas crucíferas oleaginosas se pueden sembrar en mayo o junio y cosechar en noviembre o en la primera quincena de diciembre (3). Esta característica les permitiría aprovechar el período de lluvia en la zona de la costa, que se extiende de mayo a octubre.

El objetivo principal del trabajo que se describe a continuación, fue el de estudiar el comportamiento de diferentes especies de crucíferas oleaginosas en el secano de la costa de las provincias de Santiago y Valparaíso, considerando que la incorporación de un cultivo oleaginoso en la rotación del secano de esa zona significaría un evidente beneficio desde el punto de vista agrícola y económico.

MATERIAL Y METODO

JARDINES DE VARIEDADES. Para obtener las informaciones preliminares en este estudio de adaptación, se sembraron en 1963 jardines de variedades en 7 diferentes localidades de la zona de la costa de las provincias de Santiago y Valparaíso.

¹Este estudio se realizó con la cooperación de Compradora de Maravilla S. A. (COMARSA).

²Ingeniero Agrónomo M. S., Proyecto Oleaginosas, Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias.