

# Métodos de control de begomovirus del frijol

Francisco J. Morales

Virólogo, CIAT

## Control genético

El control del mosaico dorado y mosaico dorado amarillo del frijol (*Phaseolus vulgaris*) ha sido difícil, debido a las altas poblaciones de la mosca blanca *Bemisia tabaci* en las regiones frijoleras afectadas; al abuso indiscriminado de pesticidas para el control de la mosca blanca vectora (lo que genera poblaciones de *B. tabaci* resistentes a los insecticidas); y a la patogenicidad extrema de los virus causales (BGMV y BGYMV).

Desde el inicio de las primeras epidemias de estos virus, se observó que no había variedades de frijol inmunes. Gámez (1971) reportó sobre la susceptibilidad de 4,000 variedades de frijol evaluadas por su resistencia al mosaico dorado amarillo en El Salvador. Costa (1975) evaluó más de 350 variedades de frijol por su reacción al BGMV en Brasil, las cuales resultaron susceptibles. Pierre (1974) evaluó 100 variedades por su resistencia al BGYMV de Jamaica, encontrando todas estas variedades susceptibles.

En contraste al mosaico dorado, la búsqueda de resistencia al *Virus del mosaico enano del frijol* (BDMV) ha arrojado mejores resultados. A pesar de que Costa (1975) no encontró variedades de frijol resistentes en Brasil, la identificación de fuentes de resistencia al BGYMV (Morales y Niessen, 1988), facilitó la búsqueda de materiales resistentes al BDMV. En un ensayo de evaluación realizado con el BDMV mediante inoculación mecánica y con la mosca blanca *Bemisia tabaci*, se identificaron los genotipos Pinto 114, ICA-Pijao, Black Turtle Soup, y Red Mexican 35, como altamente resistentes en ambas modalidades de inoculación. Porrilo Sintético y Red Mexican 34 se comportaron como resistentes a la inoculación mecánica, y moderadamente resistentes al BDMV inoculado por mosca blanca. Las variedades Sanilac, Monroe, Michelite, Jubila, y Great Northern 31, fueron resistentes a la inoculación mecánica pero susceptibles a la inoculación por medio del vector. La variedad ICTA-Quetzal (DOR-41), se comportó como moderadamente resistente al BDMV inoculado por *B. tabaci*. Esta variedad

se comportó como altamente resistente al BDMV en condiciones de campo, en el noroeste de la República Argentina (Morales *et al.*, 1990).

La identificación de fuentes de resistencia al *Virus del mosaico cálico del frijol* (BCaMV), partió igualmente de la búsqueda de resistencia al mosaico dorado amarillo en Mesoamérica. Dentro de los genotipos evaluados en el nor-occidente de México, no se encontró ningún material altamente resistente. Sin embargo, se observó que algunos genotipos de frijol, de la raza Nueva Granada, presentaban un nivel alto de tolerancia al BCaMV. Estos materiales mostraban la tendencia a resistir el aborto de flores y a producir vainas, a pesar de exhibir síntomas característicos de mosaico cálico. Los primeros materiales seleccionados como tolerantes al BCaMV fueron el Canario 72, el Azufrado 200, Sataya 425 y Mochis 440, de origen predominantemente andino. El Azufrado Higuera es una nueva variedad tolerante al BCaMV, desarrollada a partir de fuentes de resistencia de la raza Nueva Granada (Salinas, 2000).

### **La búsqueda de resistencia genética**

Los primeros intentos por iniciar un proceso de mejoramiento genético, se realizaron en Brasil. Pompeu y Krantz (1977) hicieron selecciones individuales dentro de tres variedades de frijol: Rosinha G2, Aetê 1, y Carioca 99. Costa (1987) evaluó estas selecciones, y concluyó que algunas líneas, como Rosinha G2/69 y otra selección de Carioca 99, tenían un nivel bajo (7-10%) de incidencia de mosaico dorado. Sin, embargo, el resto de las selecciones evaluadas, resultaron ser moderada a altamente susceptibles al virus. Este resultado ilustra el fracaso de las selecciones individuales en una variedad de frijol o en poblaciones de materiales avanzados susceptibles, debido al número variable de plantas que generalmente escapan la infección del virus en condiciones de campo, sin que esto represente una característica genética de resistencia heredable.

La siguiente estrategia, seguida también por científicos brasileños, fué la de crear mutantes mediante un proceso de irradiación (Tulmann Neto, 1979). El material seleccionado mediante este tratamiento, recibió el nombre de TMD<sup>1</sup> pero, desafortunadamente, era de bajo rendimiento y su cruzamiento con Rosinha G2/69, no dio buenos resultados.

En 1974 se inició un proyecto para solucionar el problema del mosaico dorado amarillo del frijol en la América Central, financiado por la

Fundación Rockefeller, la Agencia para el Desarrollo Internacional (USAID), el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD), y posteriormente, la Agencia de Cooperación Suiza para el Desarrollo (COSUDE). La sede del proyecto fue Guatemala, y las instituciones coordinadoras, el Programa Nacional Guatemalteco (ICTA) y el CIAT.

Dentro de los materiales evaluados (ca. 7,000 accesiones del Banco de Germoplasma del CIAT) en condiciones de campo, en el suroriente de Guatemala, se destacaron los materiales de grano negro de origen mesoamericano, especialmente Turrialba 1, Porrillo 70, ICA-Tuí, y Porrillo 1. Otras variedades como Guate 417, Venezuela 18, Porrillo Sintético e ICA-Pijao, mostraron resistencia en siembras con riego, pero fueron susceptibles en la siembra de segunda (Yoshii *et al.*, 1979). A pesar de tener una mayor calificación para dorado, la variedad colombiana ICA-Pijao rindió más que Turrialba 1 e ICA-Tuí. Un fenómeno similar ocurrió con la variedad Porrillo Sintético, por lo que estas variedades terminaron siendo seleccionadas en los programas de hibridación, junto con la variedad costarricense Turrialba 1 y la colombiana ICA-Tuí. De diversos cruzamientos realizados entre estas variedades de grano negro, salieron las primeras líneas DOR: DOR 41 (Porrillo Sintético X ICA-Pijao), DOR 42 (ICA-Pijao X Turrialba 1) y DOR 44 (línea hermana de ICA-Pijao X Turrialba 1), las cuales fueron lanzadas en Guatemala como ICTA-Quetzal, ICTA-Jutiapán e ICTA-Tamazulapa, respectivamente. Estas variedades exhibían un nivel de resistencia al BGYMV notable, por lo que tuvieron una buena aceptación dentro de los productores de este tipo de frijol negro. La línea DOR 41 se destacó entre estas variedades, llegando a ser adoptada en la República Argentina, para controlar las enfermedades del “achaparramiento” y “mosaico dorado”. Esta variedad aún se encuentra en producción en el noroeste argentino.

El impacto de estas variedades puede ilustrarse en un ensayo realizado sin uso de pesticidas, con la variedad ICTA-Jutiapán; uno de sus padres: ICA-Pijao; y la variedad local susceptible, Rabia de Gato. Las pérdidas de rendimiento para estos tres genotipos de frijol fueron: 38%, 53% y 86%, respectivamente, bajo presión de mosaico dorado amarillo (Yoshii *et al.*, 1980).

A pesar del éxito de estas primeras variedades, aun quedaba el problema del mosaico dorado en las variedades de grano no negro. Adicionalmente, el nivel de expresión de resistencia al BGYMV en las líneas DOR, dependía

del nivel poblacional de moscas blancas virulíferas. En condiciones de alta presión de *B. tabaci*, el rendimiento de las líneas DOR se veía notablemente afectado. A pesar de continuados esfuerzos por identificar otras fuentes de resistencia en aquellos años, fué difícil mejorar otros colores de grano o elevar el nivel de resistencia de las líneas DOR. Lo que si se logró mejorar en las líneas DOR fué su precocidad, como ocurrió con la variedad ICTA-Ostúa, un ejemplo de una segunda generación de estos primeros materiales, dentro de los cuales también se encontraba Negro-Huasteco-81, una línea posteriormente lanzada en la región del Golfo de México.

Un golpe de suerte vendría a cambiar esta situación. Un genotipo con un color de semilla diferente al negro, la línea A 429, un tipo Pinto seleccionado por su arquitectura superior, demostró poseer un alto nivel de resistencia al BGYMV en condiciones de campo. Al realizar una evaluación por su reacción al BGYMV en condiciones controladas, ninguno de los materiales parentales de A 429 mostró un nivel de resistencia superior o igual al de esta línea. Sin embargo, uno de los padres, "Garrapato", perteneciente a la raza Durango proveniente de México (Singh *et al.*, 1991), no presentaba los síntomas de amarillamiento característicos del mosaico dorado a pesar de ser sistémicamente infectado por el BGYMV, reaccionando con malformación del follaje, reducción del crecimiento (enanismo), y un marcado aborto de flores (Morales y Niessen, 1988). Este genotipo, que probablemente hubiera sido descartado por cualquier mejorador con sentido común al verlo tan afectado por el virus en condiciones de campo, continúa siendo la mejor fuente de resistencia al BGYMV descubierta hasta el presente. En investigaciones posteriores, se describió el gen *bgm-1* como responsable de la resistencia al amarillamiento en A 429 (Blair y Beaver, 1993).

Posteriormente se identificó otra línea tipo de grano no negro (tipo kidney), la DOR 303, que presentaba un alto nivel de resistencia al mosaico dorado amarillo en condiciones de campo. Al evaluar los padres de esta línea por su reacción al BGYMV en condiciones controladas, tampoco se encontró un genotipo parental con un nivel de resistencia similar o superior al de DOR 303. Sin embargo, uno de los padres evaluados fue Porrillo Sintético, la fuente de resistencia al BGYMV más ampliamente utilizada hasta esa fecha. Como se explicó anteriormente, este material mesoamericano de grano negro, no es resistente al virus si se infecta tempranamente. Sin embargo, Porrillo Sintético tiene una característica interesante relacionada posiblemente al vigor de este genotipo, lo que le permite escapar la infección

temprana del BGYMV en condiciones de presión baja o moderada de mosca blanca virulífera. En condiciones controladas, la probabilidad de infectar Porrillo Sintético a los 10 días de emergido, se reduce al 60%, en relación a la primera semana de vida de la planta. A las dos semanas de edad, Porrillo Sintético, por lo general escapa una inoculación tardía (Morales y Niessen, 1988) y posiblemente una presión moderada de mosca blanca virulífera en el campo. Los otros padres de la línea DOR 303, son genotipos de la raza Nueva Granada, incluyendo Red Kloud. Una característica de este genotipo andino en evaluaciones controladas por su reacción con el BGYMV, es la de resistir el efecto abortivo del virus sobre las flores y vainas (Morales y Niessen, 1988). Era evidente, entonces, que la combinación de genes mesoamericanos y andinos tenía el potencial de incrementar los niveles de resistencia al BGYMV en *P. vulgaris*. El gen responsable por la resistencia al mosaico en DOR 303, fue identificado como *bgm-2* (Velez *et al.*, 1998).

En el caso del DOR 303 se presentaba también una reacción interesante, tanto en condiciones de campo como en invernadero: algunas plantas sufrían un enanismo severo, lo que se atribuyó originalmente a otros factores, como hongos que atacan la raíz. Sin embargo, después se comprobó que el virus era el causante de detener el crecimiento de las plantas infectadas sistémicamente. Esta es una reacción controlada por genes provenientes de algunos genotipos en la raza Nueva Granada. Posteriormente se identificó un gen recesivo (*dwf*) que condiciona este tipo de enanismo en frijol (Velez *et al.*, 1998).

Al demostrarse que existían otras fuentes de resistencia diferentes a las variedades de grano negro mesoamericanas, se inició una evaluación de nuevos genotipos de frijol pertenecientes a diferentes razas o acervos genéticos, por su reacción al BGMV y BGYMV en condiciones controladas de invernadero, y de campo en diversos países de la América del Sur (Brasil y Argentina y Colombia), América Central (Guatemala), México, y el Caribe (República Dominicana). Los resultados obtenidos en condiciones controladas de invernadero, demostraron la existencia de diferentes mecanismos de resistencia al BGMV, BGYMV y otros geminivirus del frijol en *P. vulgaris* (Morales y Niessen, 1988).

El primero de estos mecanismos de resistencia al BGMV, es el “**escape a la infección**”. Esta característica es observada en los materiales de grano negro mesoamericanos, donde típicamente se encuentra un porcentaje de plantas infectadas por el virus, y otro porcentaje que ha escapado la infección. La

proporción de estos dos tipos de plantas en una población dada, es determinada por la presión de mosca blanca virulífera. Las plantas infectadas tempranamente sufren pérdidas de rendimiento considerables, las cuales son compensadas por el rendimiento normal de las plantas sanas. El rendimiento promedio es por lo general aceptable, por lo que se consideran estos genotipos como “tolerantes”, cuando en realidad no lo son en el sentido estricto del término.

El segundo mecanismo de resistencia al BGYMV, es el encontrado en Garrapato y otros tipos Pintos de la raza Durango, en el altiplano de México: la “**resistencia al amarillamiento**” o sea, a la pérdida de la capacidad fotosintética. Adicionalmente, estos genotipos provienen de un ambiente adverso desde el punto de vista ambiental, por lo cual tienden a ser rústicos, precoces y capaces de sobrevivir factores bióticos y abióticos adversos. Estos materiales probablemente posean mecanismos de resistencia *sui generis* o “no específicos”, que los protegen aún de microorganismos no presentes en su centro de origen. Por ejemplo, varios genotipos Pinto son resistentes a virus como los cucumovirus y el mosaico amarillo del frijol, que no existen en el lugar de origen.

Un genotipo de la raza Durango, en el cual se encontró otro mecanismo de resistencia al BGYMV, fué el Red Mexican 35. Este genotipo reaccionó con “**lesiones locales necróticas**” a la inoculación mecánica del BGYMV. Esta reacción es única en cuanto no se había reportado para el BGYMV, y abre la posibilidad de que los genes responsables puedan inactivar el virus al ser inoculado por el insecto vector. Adicionalmente, al pertenecer a la raza Durango, el Red Mexican 35 no presenta síntomas típicos de mosaico dorado al ser infectado por el BGYMV. A pesar de no ser una de las mejores fuentes de resistencia, el Red Mexican 35 puede complementar otros genes de resistencia al BGYMV en proyectos de mejoramiento para mosaico dorado/amarillo.

Algunos genotipos de la raza Nueva Granada (andinos), presentan un mecanismo de “**tolerancia**”, definido como la capacidad de producir aceptablemente a pesar de estar sistémicamente infectados por el BGYMV o el BGMV, y manifestar síntomas típicos. Ejemplos de estos materiales son los tipo red kidney, como Royal Red y Red Kloud. Se puede también decir que estos genotipos poseen una “**resistencia al aborto de flores**”, aún cuando esta característica esta influida por otros factores ambientales, tales como la temperatura.

Relacionado al mecanismo anterior, por estar presente también en la raza Nueva Granada, existe otro mecanismo de resistencia que podemos definir como “**resistencia a la deformación de vainas**”. En la mayoría de genotipos de frijol que forman vainas a pesar de la infección del BGMV/BGYMV, estas salen deformadas. En algunos materiales tipo red kidney y habichuela de tipo andino, como el Redlands Greenleaf C, las vainas no se deforman a pesar de manifestar síntomas claros de mosaico dorado en el follaje. Recientemente se ha identificado un gen, *Bgp*, asociado a esta característica (Molina y Beaver, 1998).

Estos diferentes mecanismos de resistencia al BGYMV fueron evaluados en una cruce dialélica completa para estudiar la genética de esta resistencia. Para tal fin, se seleccionaron seis variedades que representaran los diversos mecanismos de resistencia, incluyendo a Porrillo Sintético, Pinto 114, Royal Red, Redlands Greenleaf C, Great Northern 31, PVA 1111, y el control susceptible Alubia Cerrillos. Los 28 híbridos  $F_1$ , sus recíprocos y los ocho progenitores, fueron evaluados por su reacción al BGYMV en condiciones de invernadero. Las diferencias entre los ocho padres fueron significativas, observándose los mayores valores para los componentes de resistencia evaluados en el caso de Alubia Cerrillos (el genotipo más susceptible) y los menores para Porrillo Sintético (el más resistente). Los resultados obtenidos mostraron que los cuadrados medios de la habilidad combinatoria general, fueron altamente significativos ( $P < 0.01$ ) y mayores que los valores de la habilidad combinatoria específica, lo cual indica la existencia de variabilidad genética de tipo aditivo, deseable en una especie autofecundada como el frijol. La habilidad combinatoria general de las fuentes de resistencia fueron positivas, lo cual indica que los mecanismos de resistencia se pueden combinar entre razas diferentes de frijol común. La habilidad combinatoria general del testigo susceptible Alubia, fue negativa, lo que indica que las poblaciones donde esté el Alubia como progenitor, serán más susceptibles. Los efectos recíprocos y maternos, no fueron significativos (Morales y Singh, 1991).

En un segundo estudio, se evaluaron 83 líneas  $F_8$  recombinantes homocigotas, seleccionadas al azar de una población  $F_2$  del cruzamiento de Pinto 114 X ICA Pijao; los dos padres y un control susceptible (Topcrop) por su reacción al BGMV. De estas líneas, 11 no presentaron síntomas, 24 tuvieron una incidencia promedio del BGMV, del 8%; 28 líneas mostraron una incidencia del 26.6%; y 20 líneas fueron más susceptibles que

cualquiera de los progenitores. Estos resultados muestran que los genes de resistencia presentes en los progenitores son complementarios, y que por consiguiente, se pueden aumentar los niveles de resistencia al BGYMV mediante la recombinación de estos genes provenientes de diferentes acervos genéticos. La heredabilidad de caracteres como la capacidad de escapar la infección; la resistencia al mosaico o amarillamiento, y por rendimiento, fluctuaron entre 24 y 49.5%, lo cual permite seleccionar estos caracteres en una proporción relativamente alta de las poblaciones segregantes.

Es a partir de estos genotipos pertenecientes a diferentes razas de *Phaseolus vulgaris*, como la Durango y la Nueva Granada, que se han seleccionado líneas de frijol altamente resistentes al BGYMV, tales como las líneas DOR 390 y DOR 500.

En una investigación realizada en el CIAT (F.J. Morales, *información no publicada*), se determinó que el principal mecanismo de resistencia que poseen estas fuentes de resistencia y los materiales mejorados a partir de estos padres, es el de evitar o restringir la multiplicación de los geminivirus en los genotipos resistentes (Figura 1 A-C). Este tipo de resistencia ha sido también asociado a caracteres cuantitativos (QTLs) que reducen la iniciación y el grado de síntomas foliares en líneas resistentes al BGMV, como DOR 364 (Miklas *et al.*, 1994). La DOR 364 combina la resistencia de Porrillo Sintético con otro tipo de resistencia (aparentemente) proveniente de Honduras 46, un material centroamericano de grano de color rojo.

La hibridación interespecífica ha sido una estrategia de mejoramiento seguida por varios mejoradores, cuando no se ha podido encontrar fuentes de resistencia dentro de la especie susceptible a geminivirus transmitidos por *Bemisia tabaci* (el caso de la yuca en Africa y el tomate en el Medio Oriente). En el caso del frijol, se siguió una estrategia diferente con el fin de explorar todos los mecanismos de resistencia a geminivirus, existentes dentro de la especie *Phaseolus vulgaris* (Morales y Niessen, 1988).





La hibridación interespecífica presenta inconvenientes inherentes a las diferencias genéticas e incompatibilidad entre ciertas especies del mismo género, así como a las características diferentes del grano o producto comercial que se busca mejorar. Sin embargo, el avance en las técnicas de biología molecular y cultivo de tejidos, ha hecho posible la hibridación entre especies problemáticas, mediante técnicas como el rescate de embriones.

En el caso del frijol y el mosaico dorado amarillo, se conocía desde 1971 que el virus era también capaz de infectar otras especies de *Phaseolus*, tales como el *P. lunatus*, *P. acutifolius* y *P. coccineus* (Gámez, 1971). En Guatemala, Yoshii y colegas (1979) informaron sobre la existencia de accesiones de *P. coccineus* aún más tolerantes que las mejores variedades de *P. vulgaris* de grano negro. Sin embargo, la hibridación entre estas especies es difícil, variando entre 0 y 6%. Diversos grados de resistencia al BGYMV han sido también observados en *P. acutifolius* var. *latifolius* (Miklas y Santiago, 1996), la cual puede producir moderadamente a pesar de la infección manifiesta del virus.

### **Evaluación de genotipos de frijol por su resistencia a geminivirus**

Cuando se habla de “resistencia” a los geminivirus que afectan el frijol en la América Latina, se hace en el sentido amplio de la palabra, e incluye un rango de *niveles* de resistencia. La ausencia completa de síntomas y del virus en la planta inoculada, correspondería a la “inmunidad”, la cual no se ha observado hasta ahora sino en el caso del BDMV.

Inicialmente se evaluó la reacción de las variedades y genotipos mejorados de frijol, según la intensidad del amarillamiento (mosaico dorado) causado por el virus. A pesar de que este método parece lógico, la realidad es que presenta ciertas limitaciones. La primera, es que no siempre hay una relación directa entre la intensidad de los síntomas de mosaico y la reducción en rendimiento. La segunda es que este método no permite evaluar la “tolerancia” de un genotipo a un geminivirus; es decir, la capacidad que tiene un genotipo de rendir aceptablemente a pesar de estar infectado sistémicamente. La tercera limitación sería la dificultad de detectar otros mecanismos de resistencia, al guiarse exclusivamente por los síntomas de mosaico.

El método seguido en el CIAT toma en consideración los principales síntomas causados por los geminivirus en *Phaseolus vulgaris*, con el propósito de relacionarlos a los diferentes mecanismos de resistencia descritos anteriormente. Así, para evaluar la capacidad de un genotipo de frijol de escapar la enfermedad, se determina la **incidencia**, o sea, el número de plantas que presentan síntomas de infección, del total de plantas inoculadas para el genotipo evaluado. El segundo parámetro evaluado es el **mosaico**, según la intensidad y área del amarillamiento. Este factor puede dar información sobre el acervo genético del material y su grado de tolerancia al virus. El tercer factor evaluado es la reducción en crecimiento de la planta causado por el virus, a lo cual se conoce como **enanismo**. Esta es una característica negativa del efecto de los virus transmitidos por mosca blanca, y en casos extremos de enanismo, se puede sospechar de la presencia de un gen indeseable presente en el genotipo afectado. Tal es el caso de la línea DOR 303 y otros genotipos de la raza Nueva Granada (andinos). Un cuarto parámetro, sería el grado de **deformación de la planta**. Este es otro de los efectos de los geminivirus en frijol, y está generalmente asociado directamente a la pérdida de rendimiento. Se puede separar la evaluación de **deformación de la planta en general**, de la **deformación foliar**, la cual es más fácil de determinar que la anterior. Un parámetro importante a evaluar, es el **aborto de flores**, aún cuando este factor puede estar influenciado significativamente por el medio ambiente. Cuando no hay aborto de flores, los geminivirus generalmente causan una **deformación de vainas**, lo que constituye un parámetro de evaluación importante, ya que la semilla producida por las vainas deformadas son de pésima calidad. Por último, el parámetro más importante, el **rendimiento**, con el cual se determina la “tolerancia” de un genotipo a los geminivirus. Todos estos parámetros se estiman mediante el uso de una escala de 1 a 9, donde las notas inferiores indican un nivel de resistencia mayor o un mejor comportamiento del genotipo evaluado.

### **Técnicas moleculares utilizadas para el mejoramiento genético del frijol por su resistencia a geminivirus del frijol.**

El proceso de combinar diferentes fuentes de resistencia a los geminivirus que atacan al frijol común, o sea, la “piramidación” de genes, requiere de conocimientos a fondo de la genética del frijol. La identificación y el uso de marcadores genéticos tipo RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA) ligados a los diferentes genes de resistencia a geminivirus, acortaría considerablemente el tiempo requerido para la detección y selección de

genotipos resistentes. Los RAPDs serían especialmente efectivos para caracteres oligogénicos como los responsables por la resistencia encontrada en genotipos tales como A 429 o Garrapato.

En el caso de la resistencia poligénica, como la reportada para el genotipo DOR 364 (Blair *et al.*, 1994), la estrategia es la de identificar QTLs (Quantitative Trait Loci). Estos métodos han sido explorados para el BGYMV por Miklas y colaboradores (1995) con la variedad "Dorado" (DOR 364), encontrando dos RAPDs de efecto cuantitativo, los cuales detectan dos QTLs diferentes pero de efectos aditivos. Urrea y Miklas (1996) identificaron un marcador RAPD estrechamente ligado al gen recesivo *bgm-1* de resistencia al BGYMV. Este marcador codominante fue útil para realizar la introgresión de este gen que condiciona la resistencia parcial al BGYMV en genotipos susceptibles.

Estas técnicas moleculares pueden aún refinarse más mediante el uso de métodos como los SCARs (Sequence Characterized Amplified Regions), y los micro-satélites (Loci polimórficos que contienen secuencias repetidas de 2 a 7 nucleótidos). Los microsatélites se amplifican por PCR, y los productos se analizan por electroforesis para separar los alelos de acuerdo a su tamaño. La aplicación de la técnica de los RAPDs para el mejoramiento genético del frijol por su resistencia al BGYMV y a otros patógenos, ha sido estudiada por Kelly y Miklas (1998).

## Control químico

El control químico de enfermedades causadas por geminivirus, está dirigido al insecto vector: la mosca blanca *Bemisia tabaci*. En este caso, el control químico es posible debido a que el insecto vector transmite los geminivirus de manera persistente, es decir, que requiere de varios minutos para transmitir el virus a una planta susceptible. En este tiempo, un insecticida puede actuar impidiendo la transmisión del virus.

Teóricamente, cualquier insecticida que afecte la mosca blanca, puede ser utilizado. Sin embargo, los insecticidas de contacto son por lo general aplicados a los cultivos afectados por mosca blanca, una vez las plantulas inician su período de crecimiento, o cuando las poblaciones del insecto son

apreciables al ojo del agricultor. En este momento, las aplicaciones pueden ser inefectivas, ya que las moscas blancas se alimentan de las plántulas de frijol tan pronto emergen del suelo, aún antes de que las hojas cotiledonales se hayan expandido, y solo se requieren unos pocos individuos de *B. tabaci* para transmitir el virus a una plántula de frijol sana. Es por estas razones que el control químico con insecticidas de contacto, no ha logrado evitar el mosaico dorado en plantaciones de frijol afectadas. De esta observación se concluye que las plántulas de frijol deben estar protegidas desde el momento de la emergencia, lo cual solo es posible mediante el uso de insecticidas sistémicos aplicados al suelo o a la semilla en el momento de la siembra. Como ejemplo podemos citar un estudio realizado en Brasil (Yuki *et al.*, 1989) para el control del mosaico dorado del frijol, utilizando insecticidas fosforados de contacto (Methamidophos y Monocrotophos) e insecticidas sistémicos (aldicarb y carbofurán), aplicados a los 15 días y a la siembra, respectivamente. En el caso de los fosforados, la incidencia del BGMV a los 45 días de la siembra, fluctuó entre 68 y 84%, y la del Carbofurán del 24 al 35%. La combinación de los insecticidas sistémicos y de contacto, dieron el mayor rendimiento.

Los principales problemas de los insecticidas sistémicos son su alto costo y toxicidad, no solo para los aplicadores sino para el medio ambiente y los consumidores. Adicionalmente, la mosca blanca *B. tabaci* ha desarrollado resistencia a los insecticidas sistémicos más tóxicos, incluyendo el aldicarb. Para reemplazar estos insecticidas, se han desarrollado nuevos productos sistémicos de toxicidad moderada, muy efectivos contra *B. tabaci*, tales como el acetamiprid, imidacloprid, nitenpyran y el tiometoxam. Estos compuestos pertenecen al grupo de los Cloronicotinilos, siendo muy efectivos a bajas dosis y con un gran poder de persistencia en los tejidos de las plantas tratadas (Bethke y Redak, 1997). La principal limitación para su uso es su alto costo. Otros insecticidas incluyen inhibidores como buprofezin, ureas benzofeniladas, como el novalurón, el pyriproxyfen y la pymetrozina.

## Control con productos no-sintéticos

Uno de los productos botánicos más utilizado para el control de insectos, incluyendo, la mosca blanca *B. tabaci*, ha sido el neem, extraído del árbol *Azadirachta indica*. Otra especie de la misma familia Meliaceae, la *Melia*

*azedarach*, también ha mostrado un efecto deletéreo sobre los estados inmaduros de la *B. tabaci* (Nardo *et al.*, 1997).

Los aceites tanto de origen vegetal (e.g. algodón, maní, girasol) como mineral, han sido utilizados en pequeña escala para el control de insectos, incluida la mosca blanca. El principal problema de los aceites vegetales es su alto costo, mientras que los aceites minerales tienen un menor costo y son igualmente efectivos, causando una reducción en los estados inmaduros de *B. tabaci* (Butler *et al.*, 1993).

Los jabones y detergentes son también efectivos para el control de *B. tabaci* y tienen un costo relativamente bajo. Sin embargo, su aplicación en condiciones de campo exige un alto volumen y cubrimiento completo de la superficie inferior de las hojas tratadas, lo cual limita su efectividad en condiciones de campo (Butler *et al.*, 1993).

Uno de los productos botánicos más empleados ha sido los residuos de la cosecha del tabaco, los cuales se preparan como una infusión, en algunos caso adicionando cal. La “tabaquina” ha sido muy empleada en países como Cuba, con éxito.

En general, se puede afirmar que todos estos productos podrían ser útiles como componentes de una estrategia de control integrado.

## Control cultural

**Barreras vivas:** en varios países de la América Latina se ha ensayado el uso de barreras vivas de maíz o sorgo alrededor de los campos de frijol, sin que se haya demostrado una disminución significativa en la incidencia de geminivirus en los campos protegidos de frijol. Adicionalmente, el uso de estas barreras vivas aumenta los costos de producción y obstaculiza las labores agrícolas.

**Policultivos:** las siembras asociadas de maíz y frijol son parte del sistema de producción practicado en varios países de la América Latina. Esta práctica se ha utilizado para tratar de reducir la incidencia del mosaico dorado en frijol, sin que se haya logrado demostrar diferencias significativas en la incidencia de la enfermedad en relación al monocultivo de frijol. Lo que si se ha demostrado es que la densidad de plantas en este tipo de asociación

maíz-frijol, está inversamente relacionada a la incidencia de la enfermedad (Reeves, M. 1990).

**Cultivos trampas:** esta estrategia se basa en el hecho de que la mosca blanca *B. tabaci* exhibe una preferencia marcada por ciertas especies vegetales donde se puede reproducir abundantemente. La preferencia de la *B. tabaci* por una especie en particular, está determinada por muchos factores relacionados al ecosistema donde se encuentra el insecto. Por esta razón, las especies preferidas por la mosca blanca, pueden diferir de una región a otra. Por lo general, los cultivos trampa son seleccionados en base a las observaciones hechas en cada región, por lo que se espera que *B. tabaci* colonice preferentemente el cultivo trampa sembrado alrededor o cerca del cultivo susceptible que se desea proteger. La efectividad de esta medida está dada por el nivel de población de mosca blanca existente durante el período de crecimiento del cultivo protegido. Cuando las poblaciones de mosca blanca son bajas, el cultivo trampa puede demorar la migración del insecto vector al cultivo protegido durante las primeras etapas de crecimiento, cuando las plantas son más susceptibles (Cohen y Berlinger, 1986). Por el contrario, si las poblaciones de mosca blanca son altas, este insecto polígrafo va a procurar encontrar otros hospederos fuera del cultivo trampa, aumentando las posibilidades de daño y transmisión de virus al cultivo protegido. Además, la probabilidad de atrapar un número suficiente de moscas blancas en un cultivo trampa, está directamente relacionado a la superficie cubierta por este cultivo, lo cual disminuye la superficie del cultivo protegido, y encarece los costos de producción. La otra posibilidad, es que el cultivo trampa actúe como una fuente adicional de mosca blanca para los cultivos protegidos, dada la alta tasa reproductiva de *B. tabaci*.

**Cambio en la fecha de siembra:** esta es la práctica cultural que tiene más sentido. Si en cada zona de producción realizáramos un estudio sobre la distribución temporal de *B. tabaci*, veríamos que las poblaciones de este insecto fluctúan significativamente a través del tiempo. Generalmente, las poblaciones más altas de mosca blanca se presentan durante los meses de menor precipitación y/o en los meses más cálidos, especialmente en aquellas latitudes extremas norte y sur, donde existe una estación de invierno (bajas temperaturas) marcada.

Desafortunadamente, las siembras se realizan por lo general al final de los períodos de sequía, una vez se inicia la estación lluviosa, cuando las poblaciones de mosca blanca se encuentran en un nivel relativamente alto.

Al emerger las plantas cultivadas, las moscas blancas encuentran hospederos más atractivos para reproducirse. Esta situación se agrava notablemente cuando existen cultivos irrigados durante la época seca, ya que la mosca blanca puede alcanzar poblaciones más altas en los cultivos irrigados que en las malezas donde se reproducen en las épocas de baja precipitación. En estos casos, los síntomas inducidos por los virus que transmite la mosca blanca *B. tabaci*, vienen a presentarse durante la estación lluviosa, por lo que los agricultores asocian estas enfermedades con la lluvia y no con la sequía previa que originó el problema.

Teóricamente, si se sembraran los cultivos susceptibles después del inicio del periodo de lluvias, las poblaciones de mosca blanca habrían ya disminuido debido a la mortalidad física que causa la lluvia en las poblaciones de *B. tabaci*. En la práctica, las labores de preparación de terrenos y siembra, se dificultan notablemente durante los periodos lluviosos. Además, hay factores de mercado y climáticos (heladas) que impiden que muchos agricultores demoren la siembra de un cultivo. Sin embargo, se nota la tendencia actual de producir cultivos muy susceptibles a la mosca blanca *B. tabaci* y a los virus que este insecto transmite, durante la época lluviosa. Esta medida es efectiva siempre y cuando se proteja el cultivo de otros patógenos que atacan las plantas en la época lluviosa, como son los hongos y las bacterias.

**Densidad de siembra:** la densidad de siembra es un factor importante cuando las poblaciones de *B. tabaci* arriban tardíamente al cultivo, ya que se conoce la mayor atracción de muchos insectos vectores de virus por las plantas aisladas (Reeves, 1990). Sin embargo, el mayor daño a un cultivo ocurre cuando las moscas blancas virulíferas arriban al cultivo durante la etapa de emergencia, lo cual sucede frecuentemente. En este momento, la densidad de siembra no es un factor relevante.

**Trampas pegajosas:** se han utilizado varios tipos de superficies pegajosas, como tableros de diversos tamaños, y cintas de diferentes longitudes y anchura, colocadas en puntos estratégicos o a lo largo del campo o entre el cultivo. Los materiales pegajosos han sido igualmente diversos, variando desde materiales importados a productos grasos o aceitosos de desecho. En la mayoría de los casos, las superficies sobre las cuales se aplican los pegantes son de color amarillo para atraer la mosca blanca. Desafortunadamente, estas superficies también atraen otros insectos y artrópodos, incluyendo los predadores naturales de *B. tabaci*, lo cual



constituye la principal razón por la cual esta estrategia de control no está siendo recomendada actualmente.

## Control biológico

El control biológico de *Bemisia tabaci* se ha realizado mediante la búsqueda y selección de depredadores y entomopatógenos de esta especie de mosca blanca. Entre las especies de depredadores más utilizadas, podemos mencionar los himenópteros *Eretmocerus mundus*, *E. tejanus*, *E. eremicus*, *Encarsia formosa*, *E. pergandiella* y *Amitus* spp. La especie a utilizar depende en gran medida de las condiciones ecológicas y ambientales que predominen en el área donde se desee controlar la mosca blanca. Otros depredadores de mosca blanca son los coccinélidos, como *Serangium*, *Clitostethus* y *Delphastus* spp.. Los chinches, como *Macrolphus caliginosus*, también han sido registrados como depredadores de *B. tabaci*.

Entre los entomopatógenos más utilizados están los hongos: *Verticillium lecanii*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* y *Aschersonia* spp., así como otros microorganismos, tales como el *Bacillus thuringensis*.

El control biológico por medio de depredadores no ha dado por sí solo los resultados esperados, o logrado el control oportuno de epidemias de geminivirus o de la mosca blanca como plaga. Por consiguiente, su uso se hace conjuntamente con la aplicación de insecticidas bio-racionales, como el Mycotrol ES (*Beauveria bassiana*), e inclusive con los nuevos insecticidas sintéticos. En todos los casos, el control biológico de *B. tabaci* debe formar parte de un programa de control integrado.

## Control legal

Las medidas legislativas han dado un resultado extraordinario en relación al control de las epidemias de mosca blanca y geminivirus en cultivos básicos e industriales. Uno de los países líderes en la implementación de medidas legales para el control de virus transmitidos por *Bemisia tabaci*, ha sido la República Dominicana. Las grandes pérdidas causadas por geminivirus en cultivos como el frijol, tomate, pimentón, berenjena, y melón, en los Valles

de Azua y San Juan de la Maguana, al suroeste de la República Dominicana, obligaron a la expedición e implementación de las siguientes medidas.

Mediante resolución No. 17 de 1989, se adoptaron las siguientes medidas:

- a) Prohibición de siembra de algodón en la provincia de Azua, en cualquier época del año.
- b) Prohibición de cultivos hospederos de mosca blanca, según las familias, especies y fechas que se detallan a continuación:

*Cucurbitáceas*: melón, pepino, ahuyama, cundeamor y calabaza. Prohibido su cultivo del 1ro. de Marzo al 1ro. de Septiembre.

*Solanáceas*: berenjena, ajíes, tomate, papa, y tabaco. Prohibido su cultivo del 1ro. de Febrero al 1ro. de Septiembre.

*Leguminosas*: habichuela (frijol), guandul, caupí y haba. Prohibido su cultivo del 1ro. de Febrero al 1ro. de Septiembre.

- c) Cultivos alternativos para la época de prohibición: maní, ajonjolí, girasol, yuca, cártamo, maíz, sorgo, cebolla y plátano.
- d) Se prohíbe el traslado de material vegetativo hospedero de mosca blanca a cualquier otra región del país.
- e) Restricción de asistencia técnica y crediticia para los cultivos prohibidos, y eliminación de residuos de cosecha.

Posteriormente (1990) se modificaron algunas de estas medidas en base a los acontecimientos posteriores a su implementación y teniendo en cuenta el cultivo del frijol:

Se prohibió el cultivo del frijol en el valle de Azua (donde se encuentran los cultivos hortícolas) y en la principal área de producción: el Valle de San Juan de la Maguana, durante el ciclo de Otoño (20 de Agosto-15 de Noviembre), lo cual representó una reducción en el área de producción de frijol de 6.000 has. Se estableció el período de siembra de invierno (15 de Noviembre al 8 de Enero).

De igual manera se prohibía la siembra de solanáceas y cucurbitáceas hasta el 15 de Noviembre, y se facultaba a la Comisión de Prevención y Control

de la Mosca Blanca a destruir los cultivos hospederos plantados durante la época de prohibición.

Con estas medidas se estableció un período mínimo de 75 días , libres de hospederos de *B. tabaci*, con el fin de romper su ciclo biológico y reducir las fuentes del virus (Ley 4990 de Sanidad Vegetal). Posteriormente, las medidas legales sobre exclusión de cultivos hospederos de mosca blanca, se extendieron a todo el país. Estas medidas fueron exitosas en todos los casos, aun cuando existían agricultores que violaban la veda, causando graves perjuicios para los agricultores que acataban la veda.

La restricción al movimiento de especies y productos vegetales que puedan albergar la mosca blanca *B. tabaci* en sus diferentes biotipos, se ha impuesto también en México. Entre los productos restringidos encontramos: el brócoli, la col, lechuga, plantas de aji, tomate, y ornamentales como la nochebuena.

## Referencias

- Bethke, J.A., y Redak, R.A. 1997. Effect of imidacloprid on the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii* Bellows and Perring (Homoptera: Aleyrodidae), and whitefly parasitism. *Ann. appl. Biol.* 130:397-407.
- Blair, M.W., y Beaver, J.S. 1993. Inheritance of bean golden mosaic resistance from bean genotype A429. *Ann. Rept. Bean Improv. Coop.* 36:143.
- Butler, G.D., Hennenberry, T.J., Stansly, P.A., and Schuster, D.J. 1993. Insecticidal effects of selected soaps, oils, and detergents on the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). *Florida Entomologist* 76:161-167.
- Cárdenas, J.A., Pérez, F., y Nieves, F. 1996. Campaña contra la mosquita blanca en México. Pp. 167-169. En *Memorias V Taller Latinoamericano sobre Moscas Blancas y Geminivirus*, Acapulco, México.
- Ciomperlik, M.A., Goolsby, J.A., Poprawski, T., y Wendel, L.E. 1998. Biological control based-IPM of silverleaf whitefly in annual row crops. P. L-77 En: *Resumenes International Workshop on Bemisia and Geminiviruses*. San Juan, P. Rico.
- Cohen, S., y Berlinger, M.J. 1986. Transmission and cultural control of whitefly-borne viruses. *Agriculture, Ecosystems and the Environment* 17:89-97.

Costa, A.S. 1975. Increase in the populational density of *Bemisia tabaci*, a threat of widespread virus infection of legume crops in Brazil. pp. 27-50 *In* Tropical Diseases of Legumes, J. Bird y K. Maramorosch (Eds.). Academic Press, London.

Costa, A.S. 1987. Fitoviroses do feijoeiro no Brasil. pp. 173-257, *En*: Feijão: Fatores de Produção e Qualidade. Fundação Cargill. Campinas, São Paulo, Brasil.

Gamez, R. 1971. Los virus del frijol en Centroamérica. I. Transmisión por mosca blanca (*Bemisia tabaci* L.) y plantas hospedantes del virus del mosaico dorado. Turrialba 21:22-27.

Gomez, E., y Villar, A. 1999. Diseño e implementación de una veda para el manejo de mosca blanca y geminivirus en Azua, República Dominicana. Programa Nacional MIP, Manuscrito, 9 p.

Heinz, K.M. 1998. Biological control-based IPM in protected culture. P. L-76 *En*: Resúmenes International Workshop on *Bemisia* and Geminiviruses. San Juan, P. Rico.

Horowitz, A.R., Denholm, I., Weintraub, P.G., Cahill, M., y Ishaaya, I. 1998. Exploiting new insecticides to manage *Bemisia*. p. L-71 *En*: Resúmenes International Workshop on *Bemisia* and Geminiviruses. San Juan, P. Rico.

Jones, W.A. y Elzen, G.W. 1998. Insecticides effects on parasitoids (Hymenoptera: Aphelinidae). P. L-74 *En*: Resúmenes International Workshop on *Bemisia* and Geminiviruses. San Juan, P. Rico.

Kelly, J.D., y Miklas, P.N. 1998. The role of RAPD markers in breeding for disease resistance in common bean. *Molecular Breeding* 4:1-11.

Kirk, A., y Hoelmer, K.A. 1998. Exploration and evaluation of exotic natural enemies of *Bemisia*. P. L-73. *En*: Resúmenes International Workshop on *Bemisia* and Geminiviruses. San Juan, P. Rico.

Lenteren, van, J.C. 1998. Biological control of whiteflies: where are the good natural enemies? P. L-78 *En*: Resúmenes International Workshop on *Bemisia* and Geminiviruses. San Juan, P. Rico.

Miklas, P., Johnson, E., y J. Beaver. 1995. RAPD markers for QTLs expressing BGMV resistance in dry bean. *B.I.C.* 38:111-112.

Miklas, P.N., y Santiago, J. 1996. Reaction of selected tepary bean to bean golden mosaic virus. *Hort. Sci.* 31:430-432.

Miklas, P.N., Johnson, E., Stone, V., Beaver, J.S., Montoya, C., y Zapata, M. 1996. Selective mapping of QTL conditioning disease resistance in common bean. *Crop Sci.* 36:1344-1351.

- Morales, F.J., y Singh, S.P. 1991. Genetics of resistance to bean golden mosaic virus in *Phaseolus vulgaris* L. *Euphytica* 52:113-117.
- Morales, F.J., y Niessen, A.I. 1988. Comparative responses of selected *Phaseolus vulgaris* germplasm inoculated artificially and naturally with bean golden mosaic virus. *Plant Dis.* 72:1020-1023.
- Morales, F., Niessen, A., Ramirez, B., y Castaño, M. 1990. Isolation and partial characterization of a geminivirus causing bean dwarf mosaic. *Phytopathology* 80:96-101.
- Munthali, D.C. 1998. Field evaluation of three vegetable oils and dimethoate sprays against whitefly (*Bemisia tabaci*) immature stages and their parasites on cassava leaves. P. L-79 En: Resúmenes International Workshop on *Bemisia* and Geminiviruses. San Juan, P. Rico.
- Nardo, E.A., Costa, A.S., y Lorencão, A.L. 1997. *Melia azedarach* extract as an antifeedant to *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Entomologist* 80:92-94.
- Pierre, R.E. 1974. Observations on the golden mosaic of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Jamaica. Workshop on whitefly-transmitted viruses, University of P. Rico. 12 pp.
- Pompeu, A.S., y Kranz, W.M. 1977. Linhagens de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) resistentes ao vírus do mosaico dourado. *Summa Phytopathologica* 3:162-163.
- Reeves, M. 1990. Efecto de la densidad de siembra de frijol en policultivo con maíz, sobre la incidencia del virus del mosaico dorado. *Agronomía Costarricense* 14:231-236.
- Saladín, F., Nin, J.C., Sanchez, A., Y Figueroa, A. 1990. Alternativa para el manejo integrado en el control del virus del mosaico dorado del frijol en la República Dominicana. SEA. Manuscrito, 14 p.
- Singh, S.P., Gepts, P., and Debouck, D.G. 1991. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Econ. Bot.* 45:379-396.
- Tulmann Neto, A. 1979. Obtenção de resistência ou tolerância ao vírus do mosaico dourado do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) a través de indução de mutação. Tese de livre docência apresentada á E.S.A.L.Q. Piracicaba, S.P.
- Urrea, C.A., y Miklas, P.N. 1996. A codominant randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) marker useful for indirect selection of bean golden mosaic virus resistance in common bean. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121:1035-1039.
- Velez, J.J., Basset, M.J., Beaver, J.S., and Molina, A. 1998. Inheritance of resistance to bean golden mosaic virus in common bean. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 123:628-631.