

NOTAS

EL METODO DE INSERCIÓN: UNA NUEVA TECNICA DE POLINIZACIÓN EN FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.)

José Alfredo Andrade Aguilar¹

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Hibridación intraespecífica, Hibridación inter-específica, Eficiencia de hibridación, *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus acutifolius*.

RESUMEN

En este trabajo se describe una nueva técnica de polinización en frijol (*Phaseolus* spp.) denominada "El Método de Inserción". La técnica consiste básicamente en colocar la quilla (que contiene el estilo-estigma y los estambres) de la flor masculina en antesis, sobre el estigma-estilo de la flor femenina previamente emasculada. La ventaja con este método de polinización, es que las anteras y el estigma (cubierto de polen) de la flor masculina permanece en contacto continuo con el estigma de la flor femenina durante un periodo suficientemente prolongado que asegura la fertilización, tal como ocurre en una flor con autopolinización natural, donde las anteras liberan el polen gradualmente hasta que el estigma alcanza su máxima receptividad. Asimismo, se mejora la protección contra la deshidratación de ambos órganos reproductivos. Este método presenta las ventajas de ser fácil, rápido y más eficiente que otros en cruza intra- e interespecíficas de frijol, y puede ser practicado a cualquier hora del día en invernadero y/o en campo, mientras existan flores femeninas y masculinas en el estado de desarrollo adecuado para su utilización.

SUMMARY

The present work describes a new pollination technique for the crossing of bean plants (*Phaseolus* spp.), namely "The Insertion Method". Essentially, this pollination technique consists in placing the keel containing the style-stigma and stamens from the male flower at anthesis over the stigma-style of the female flower after emasculation. The advantage with this method of pollination is that it keeps the anthers and the pollen bearing style-stigma of the male flower in close contact with the stigma of the female flower, over a period long enough to ensure fertilization as it occurs in natural selfed flowers, where anthers gradually shed their pollen until the stigma reaches its maximum receptivity. It also improves the protection against desiccation of the female and male reproductive organs. This method is easy, quick and more efficient than others for intra- and interespecific hybridization in beans and can be practiced at any time of the day under greenhouse or field conditions, provided that female flower buds at the right stage for emasculation and pollination are available, as well as male flowers at anthesis.

ADDITIONAL INDEX WORDS

Intraespecific * hybridization, Interespecific hybridization, Hybridization efficiency, *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus acutifolius*.

¹ Investigador Docente. Centro Regional para Estudios de Zonas Áridas y Semiáridas del Colegio de Postgraduados (CREZAS-CP). Iturbide 73, 78600 Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí.

INTRODUCCION

La utilización de la diversidad genética de las principales especies cultivadas de frijol (*Phaseolus* spp.) en programas de hibridación intra- e interespecíficos para el mejoramiento genético de dichas especies, depende de la interacción de varios factores. Entre dichos factores destacan: 1) Las técnicas de polinización que se utilicen; 2) Las especies y/o genotipos que se empleen como progenitores femeninos y masculinos en las cruza recíprocas; 3) La etapa fenológica al momento de las polinizaciones, principalmente en los progenitores femeninos; y 4) Las condiciones ambientales que afectan a dichas plantas, principalmente, la temperatura, la humedad relativa y los vientos, debido a que estas condiciones promueven la deshidratación del estigma y del polen.

El conocimiento y la manipulación adecuada del sistema reproductivo de las especies involucradas en los programas de cruzamientos, es también un factor importante para obtener éxito en la hibridación.

Cualquiera que sea la técnica de polinización que se utilice, ésta debe ser fácil, rápida y eficiente. La eficiencia depende en alto grado de que el estigma de la flor femenina y el polen de la flor masculina permanezcan en contacto continuo por un periodo suficiente para asegurar la fertilización, tal como ocurre en una flor con autopolinización natural, donde las anteras liberan el polen gradualmente mientras el estigma alcanza su máxima receptividad.

Varias técnicas de polinización en frijol han sido descritas por diferentes investigadores (Strand, 1943; Wade, 1943; Wester y Marth, 1949; Wester y Jorgensen, 1950; Buishand,

1956; Lorz, 1957; Wigton, 1959; Lépiz-Ildefonso, 1976; Bliss, 1980; Núñez-González, 1981; CIAT, 1982; Okonkwo y Clayberg, 1984). Sin embargo, estas técnicas son algo complicadas, requieren mucho tiempo o son poco eficientes.

Buishand (1956) describió varios métodos de polinización en frijol, con y sin emasculación, encontrando una eficiencia del 30 y 70% con sus técnicas de "frotación" y "enganchado", respectivamente. Estas técnicas o modificaciones de ellas, son las más ampliamente utilizadas en los programas de mejoramiento genético de frijol, donde se han obtenido una gran variación en la eficiencia de hibridación. El Centro Internacional de Agricultura Tropical señala un 50% de eficiencia con una combinación de los dos métodos anteriores bajo condiciones controladas en invernadero (CIAT, 1982).

Al estudiar algunos factores que influyen en la eficiencia de hibridación en frijol, Hernández y Tay, citados por Núñez-González (1981), obtuvieron 74 y 64% de eficiencia al polinizar por la mañana y por la tarde, respectivamente, bajo una cubierta de malla; con polinización sencilla lograron una eficiencia de 63%, y con repolinización apenas subió a 67%.

Aplicando ácido p-4-clorofenoxiacético a las flores polinizadas, alcanzaron la máxima eficiencia (81%).

Para lograr mayor eficiencia en los cruzamientos, Lépiz-Ildefonso (1976) recomienda: 1) Evitar daños en el estigma de la flor femenina al emasculación; 2) Polinizar unas 10 flores por planta, de preferencia los primeros botones florales que la planta produce; y 3) Eliminar las flores y vainas remanentes del progenitor fe-

menino, para canalizar los fotosintetizados hacia las flores polinizadas.

Núñez-González (1981) obtuvo promedios de 51 y 26% de eficiencia de cruzamiento bajo condiciones de invernadero y de campo, respectivamente; estos valores variaron dependiendo de los progenitores utilizados, de la remoción o no de las flores remanentes en el progenitor femenino, y de la hora en que se efectuó la polinización.

En el presente trabajo se describe una nueva técnica de polinización en frijol, denominada "El Método de Inserción", desarrollada por Andrade-Aguilar (1987) en el transcurso de otro estudio de cruzamientos interespecíficos, y que cumple con los requerimientos de ser fácil, rápida y eficiente. Para ello se emplearon 16 variedades de frijol común (*P. vulgaris*) y 20 de frijol Tepary (*P. acutifolius* A. Gray), proporcionadas por la Unidad de Recursos Genéticos del Centro Internacional de Agricultura Tropical.

Los materiales se sembraron en la Universidad de Birmingham, Inglaterra, bajo diferentes condiciones ambientales y en diferentes fechas de siembra para asegurar buena sincronización en los periodos de floración entre genotipos de la misma especie y entre especies.

Se realizaron cruza intra- e interespecíficas, comparando el nuevo método con diferentes modalidades de algunas técnicas de polinización descritas previamente por otros investigadores.

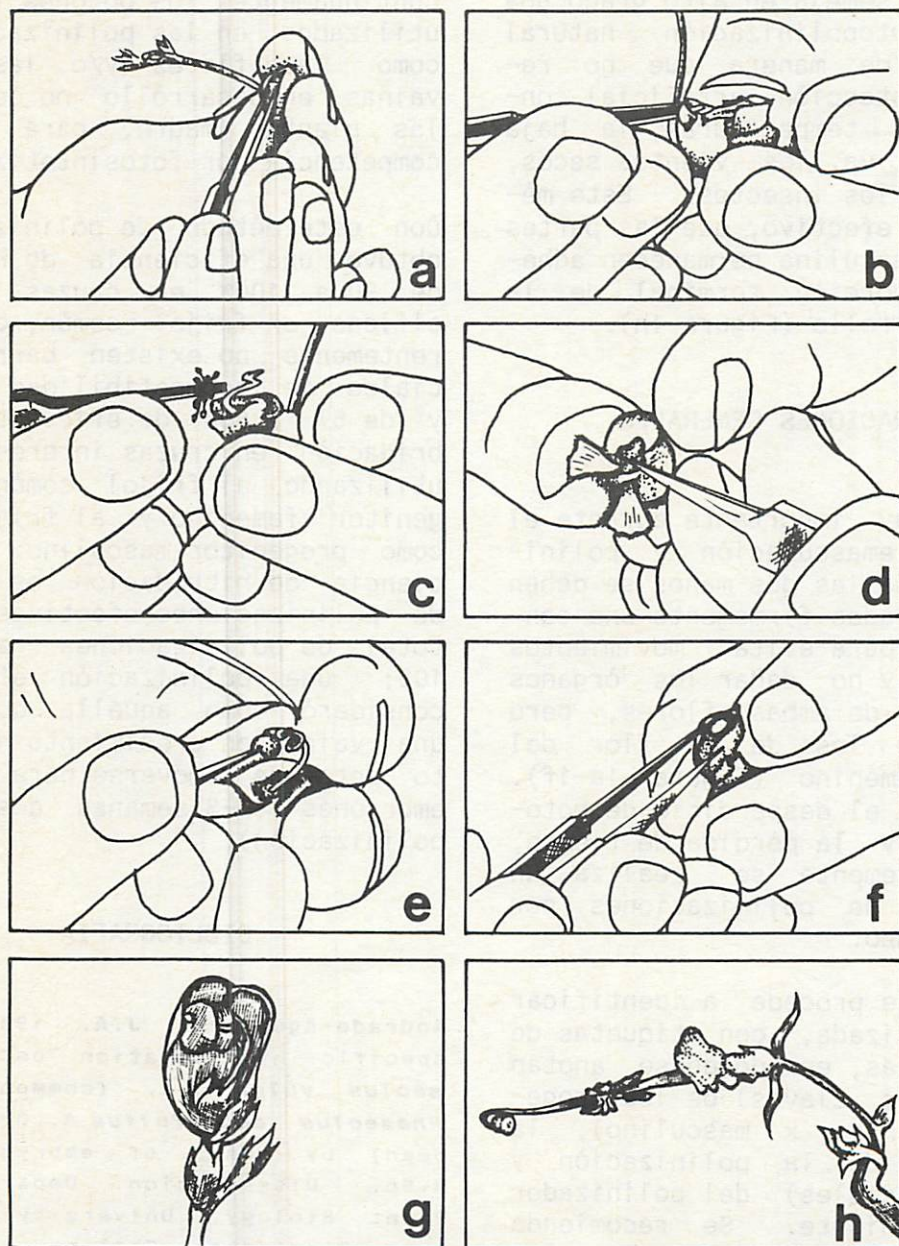
DESCRIPCION DEL METODO DE INSERCIÓN

Emasculación. Se selecciona un botón floral, generalmente un día previo a su antesis. Se toma firme pero su-

vemente entre los dedos pulgar, medio e índice de una mano (Figura 1a). Con el dedo índice, se presiona ligeramente la parte superior del botón para encauzar la apertura del estandarte. Con pinzas pequeñas de disección en la otra mano, se abre completamente el estandarte por la sutura ventral del botón floral y se voltea hacia atrás para exponer las alas y la quilla. Enseguida, se remueven cuidadosamente las dos alas y la quilla del botón, para lo cual, con las puntas de las pinzas, se toma la parte basal de un ala que une a la parte correspondiente de la quilla (izquierda o derecha), y se jala cuidadosamente en espiral, siguiendo la forma del pistilo (Figura 1b). Luego se realiza la misma operación con el ala remanente. De esta manera, quedan completamente expuestos el estilo-estigma y los estambres. Con las puntas de las pinzas se separan los 10 estambres del pistilo y se eliminan fácilmente cortándolos en su base con las puntas de las pinzas, cuidando de no dañar el pistilo (Figura 1c). En este momento es necesario comprobar la no autopolinización del estigma, utilizando una lupa pequeña (10X); de lo contrario se desecha la flor y se esterilizan las pinzas en alcohol etílico al 96%, se selecciona otro botón floral, y se procede a la emasculación. Así la flor femenina queda lista para ser polinizada.

Polinización. Se selecciona una flor en antesis del progenitor masculino y se toma firmemente de su base entre los dedos pulgar, medio e índice de una mano. Con las pinzas en la otra mano, se corta la quilla (que contiene el estilo-estigma y los estambres) en la parte media, justo arriba del ovario (Figura 1d). La polinización se efectúa colocando esta quilla de la flor masculina sobre el estigma-estilo de la flor femenina,

Figura 1. El Método de Inserción: una nueva técnica de polinización en frijol (*Phaseolus* spp.) a-c emasculación: (a) Apertura del estandarte para exponer las alas y la quilla de la flor femenina; (b) Remoción de las alas y la quilla para exponer el pistilo, (c) Eliminación de los estambres por su base para dejar en libertad el estilo-estigma; d-f polinización: (d) Corte de la quilla (que contiene el estilo-estigma y los estambres) de la flor masculina en anthesis; (e) Inserción del estigma-estilo de la flor femenina en la quilla de la flor masculina; (f) Regreso del estandarte de la flor femenina a su posición original; (g) Flor femenina 24 horas después de la polinización, semejando una flor con autopolinización natural; y (h) Vaina en desarrollo tres días después de la polinización, mostrando los restos de la flor masculina adheridos a su porción terminal.



previamente emasculada (Figura 1e). De esta manera, el estigma-estilo del progenitor femenino queda "insertado" en la quilla de la flor del progenitor masculino. Finalmente, el estandarte de la flor femenina ya polinizada, se regresa a su posición original para cubrir nuevamente las partes internas (Figura 1f). En esta posición, la flor polinizada artificialmente, semeja en alto grado una flor con autopolinización natural (Figura 1g), de manera que no requiere de protección artificial contra las altas temperaturas, la baja humedad relativa, los vientos secos, la lluvia y los insectos. Este método es tan efectivo, que las partes de la flor masculina permanecen adheridas a la porción terminal de la vaina en desarrollo (Figura 1h).

CONSIDERACIONES GENERALES

Un aspecto muy importante durante el proceso de emasculación y polinización, es que las dos manos se deben mantener apoyadas firmemente una contra la otra para evitar movimientos innecesarios y no dañar los órganos reproductivos de ambas flores, pero principalmente los de la flor del progenitor femenino (Figura 1a-1f). Así, se evita el desperdicio de botones florales y la pérdida de tiempo, y consecuentemente se realiza un mayor número de polinizaciones por unidad de tiempo.

Finalmente, se procede a identificar la flor polinizada, con etiquetas de colgar pequeñas, en donde se anotan los nombres (o claves) de los progenitores (femenino x masculino), la fecha y hora de la polinización y nombre (o iniciales) del polinizador en caso conveniente. Se recomienda utilizar etiquetas de colgar de varios colores para diferenciar fácil-

mente entre progenitores (principalmente femeninos), entre fechas de polinización, entre condiciones de polinización, entre las personas polinizadoras y/o entre diferentes tratamientos empleados en los programas de cruzamientos o de investigación.

Para lograr mayor eficiencia de hibridación, se recomienda eliminar continuamente los botones florales no utilizados en las polinizaciones, así como las flores y/o las pequeñas vainas en desarrollo no deseadas de las plantas madre, para evitar la competencia por fotosintetizados.

Con este método de polinización, se obtuvo una eficiencia de hibridación de 90 a 100% en cruza intraespecíficas en frijol común, donde aparentemente no existen barreras iniciales de incompatibilidad genética, y de 67 a 85% de eficiencia de hibridación en cruza interespecíficas, utilizando al frijol común como progenitor femenino y al frijol tepary como progenitor masculino. La eficiencia de hibridación es el número de polinizaciones efectivas/el número total de polinizaciones realizadas x 100; una polinización efectiva se consideró como aquella que produjo una vaina con crecimiento normal justo antes de removerse para cultivo de embriones (2-3 semanas después de la polinización).

BIBLIOGRAFIA

- Andrade-Aguilar, J.A. 1987. Interspecific hybridization between *Phaseolus vulgaris* L. (common bean) and *Phaseolus acutifolius* A. Gray (Tepary bean) by means of embryo culture. M.Sc. Dissertation. Department of Plant Biology. University of Birmingham. Birmingham, England.

Bliss, F.A. 1980. Common bean. In: Fehr, W.R. and H.H. Hadley (eds.). Hybridization of Crop Plants. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin. pp: 273-284.

Buishand, Th.J. 1956. The crossing of beans (*Phaseolus spp.*). Euphytica 5:41-50.

CIAT. 1982. Cruzamiento del frijol. Guía de estudio para ser usada como complemento de la unidad audiotutorial sobre el mismo tema. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia.

Lépiz-Ildefonso, R. 1976. Cruzamiento artificial en frijol. En: Memoria del Sexto Congreso Nacional de Fito-genética. Monterrey, N.L. pp.: 580-582.

Lorz, A.P. 1957. Snap and lima bean crossing technique. Bean Improvement Cooperative Annual Report 1:1-14.

Núñez-González, S. 1981. Estudio de algunos factores que afectan el cruzamiento artificial en frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) de riego. Agric. Téc. Méx. 7(2): 83-96.

Okonkwo, C.A. and C.D. Clayberg. 1984. The wrapping method, a new technique for effective crossing of common bean. Bean Improvement Cooperative Annual Report 27:156.

Strand, A.B. 1943. Species crosses in the genus *Phaseolus*. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 42:569-573.

Wade, B.L. 1943. An improvement in bean crossing technique. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 43:187-188.

Wester, R.E. and H. Jorgensen. 1950. Emasculation unnecessary in hybridizing lima beans. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 55:384-390.

Wester, R.E. and P.C. Marth. 1949. Some effects of a growth regulator mixture in controlled cross-pollination of lima bean. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 53:315-318.

Wigton, R.J. 1959. Snap bean crossing technique. Bean Improvement Cooperative Annual Report 2:19-20.