

ESTUDIO ELECTROFORETICO DE GERMOPLASMA DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) EN CENTROS SECUNDARIOS DE DIVERSIDAD GENETICA: EL CASO DE AFRICA SUR - ORIENTAL

Monica Triana E.*

William M. Roca **

COMPENDIO

Se analizaron 238 muestras de *Phaseolus vulgaris* L. de Malawi, Zambia, Tanzania, Uganda, Rhodesia y Zimbabwe por sus tipos de faseolina, utilizando la electroforesis SDS-PAGE. Al ubicar las variedades dentro de los centros de origen en las Américas, se encontró que el 69 o/o eran del tipo "T", indicando un origen en el sur de los Andes. En el estudio se discuten aspectos evolutivos de diversidad genética en un centro secundario.

ABSTRACT

238 samples of *Phaseolus vulgaris* L. from Malawi, Zambia, Tanzania, Uganda, Rhodesia and Zimbabwe of the south-eastern of Africa were analyzed for their phaseolin types using the SDS-PAGE electrophoresis. Tracing them back to their centers of origin in the Americas, a majority of materials (69 o/o) were found to be of "T" type, indicating an origin in the Southern Andes. Evolution aspects of genetic diversity in a secondary center are discussed.

1. INTRODUCCION

Uno de los requisitos del fitomejoramiento es el conocimiento del origen de los cultivos. En el caso del fríjol común, *Phaseolus vulgaris* L., se ha verificado que algunos materiales de ciertos orígenes no se cruzaban con otros de orígenes diferentes (Singh y Gutierrez, 8), aunque ambos presentarían caracteres deseables.

El origen del fríjol común se relaciona con tres zonas primarias de diversidad genética: Mesoamérica, Andes del Norte y Andes del Sur (Kaplan, 5).

En el caso de centros secundarios, los bancos de germoplasma pueden estar interesados en conseguir materiales como recombinantes genéticos, materiales con caracteres recesivos o materiales ya extinguidos en centros primarios.

Como centro secundario de diversidad genética se escogió la parte sur-oriental de Africa porque presenta condiciones ecológico-climáticas favorables y porque la agricultura que allí se practica es tradicional, la cual permite recombinaciones genéticas o mezclas casi al azar y que pueden ser detectadas por medio de técnicas como la electroforesis de proteínas.

En el presente estudio se utilizó como marcador evolutivo la faseolina, por ser una proteína que se caracteriza por su polimorfismo, alta heredabilidad y no influencia del ambiente (Gepts y Bliss, 2).

El objetivo de la investigación fue realizar el estudio de materiales de fríjol común africano, para relacionar los tipos de faseolina presentes con los centros primarios de diversidad

* Estudiante de pre-grado. Universidad Nacional de Colombia. A. A. 237, Palmira.

** Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT. A. A. 6713, Cali, Colombia.

genética establecidos en América y para determinar la ocurrencia de cambios y su naturaleza dentro de los materiales de África.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El trabajo se llevó a cabo en el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), con 238 variedades de frijol común procedentes de 7 países de la parte sur oriental de África: 1 de Zimbabwe (SRD), 8 de Rhodesia (RHO), 28 de Tanzania (TZA), 45 de Kenya (K Y A), 66 de Uganda (UGA), 111 de Zambia (Z B A) y 155 de Malawi (MWI). El material consistió de 5 semillas maduras y secas de cada variedad.

Se obtuvieron extractos de las semillas de acuerdo con el método descrito por Laemmli (6) y modificado por Ma y Bliss (7). Para la identificación de cada variedad se utilizó la técnica de electroforesis con base en la proteína faseolina (Gepts y colaboradores, 3) la cual posee un punto isoeléctrico en NaCl 0.2 M a pH 3.7, evaluado por solubilidad mínima, lo que indica que corre de ánodo a cátodo por estar cargada negativamente. La molécula posee una carga y tamaño únicos (Terrance y Cooper, 9), por tanto migra hacia una posición única dentro del campo eléctrico en un tiempo determinado. La migración a través de geles de poliacrilamida (PAA) se detecta con colorantes muy sensibles, tales como el azul brillante de coomassie, que permite la determinación de cada variedad de acuerdo con su tipo de faseolina, el cual se relaciona con su origen primario (Gepts y colaboradores, 3).

El método de análisis durante el trabajo fue visual. Se compararon las variedades con los patrones electroforéticos característicos de los 3 centros de origen: el S (Sanilac), de Mesoamérica, los Andinos T (Tendergreen) y C (Contender). Si la variedad no se ubicaba dentro de estos, se comparaba con otros 7 patrones: Huanachaco (H), Ayacucho (A), Boyacá (B) de los Andes Norte y Sur y el tipo Mamm-4 CM de México (Mesoamérica).

Si la muestra seguía siendo dudosa se sometió al análisis del densitómetro Ultrascan de rayo láser, el cual proporciona las curvas descriptivas de cada patrón a través del paso de luz por los geles.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

Para realizar el proceso de electroforesis se escogió el 13.5 o/o en base a PAA (peso/volumen).

Para la obtención del extracto puro de proteína a partir de la semilla de frijol, se escogió el T₂ (Cuadro 2), por presentar resultados reproducibles al comparar con los comunicados por Gepts y Bliss (3).

El tipo Tendergreen (T), característico de la región de los Andes del sur, fue la faseolina que predominó en toda la región de África Sur-Oriental (Fig. 1 y 2). Este dato confirma lo establecido por Gepts y Bliss (4) para algunos materiales de la región de Malawi.

Dos hipótesis pueden explicar la mayor manifestación del tipo T. Primera: los materiales Mesoamericanos (tipo S = 24 o/o) y Andinos (tipo T = 69 o/o y tipo C = 4.0 o/o) llegaron al África en igual proporción, pero después de algunos ciclos del cultivo se prefirieron los frijoles con semilla grande. Segunda: los materiales de los Andes se adaptaron mejor a las temperaturas bajas características de las regiones de Uganda, Kenya, Zambia, Malawi y Rhodesia.

La manifestación del tipo S (Mesoamericano) en regiones bajas como Tanzania cerca al pie de monte y hacia la parte sur de Botswana, con posibilidad se debe a la mejor adaptación de estos materiales a zonas secas. Otra explicación de la expresión de este tipo no se puede dar con base en el color puesto que se presenta toda la gama existente y en frecuencias bajas para un total de sólo 28 muestras, lo mismo para hábitos de crecimiento. Sin embargo, permanece constante el tamaño pequeño de la semilla, característico del tipo S.

Cuadro 1

Cantidades óptimas de reactivos para elaborar los geles de poliacrilamida (PAA)

Gel de corrida (para 90 ml de volúmen final).

Reactivos	Concentraciones (o/o) dadas por la cantidad de PAA 1/ y las respectivas dosis en ml				
	10 o/o	15 o/o	14 o/o	13.5 o/o	13 o/o
Acrilamida	40.90	59.65	57.20	55.16	53.15
Agua destilada	27.60	7.85	10.30	12.34	14.35
Buffer 3.5 M ^{2/} (pH: 8.8)	22.50	22.50	22.50	22.50	22.50
Total en ml	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0

La concentración óptima fue 13.5 o/o para la mejor resolución o separación de bandas, se desgasa esta solución con bomba al vacío y se agrega 0.4 ml de SDS (dodecil sulfato sódico), 0.2 ml de Persulfato de amonio y 15 μ l de Temed.

Gel de apilamiento (para 30 ml de volúmen final):

Reactivos	Concentración (o/o) en base a PAA y la dosis en ml
Acrilamida	4.5 ml
Agua destilada	18.3 ml
Buffer 2.5 M (pH: 6.8)	7.5 ml
Total en ml	30.3 ml

Se desgasa la solución y se agregan 0.3 ml de SDS, 0.2 ml de Persulfato de amonio: 15 micro-litros de Temed. En este gel va la peineta que forma los depósitos de las muestras.

1/ La cantidad de Acrilamida (peso/volúmen) dada para cierta concentración es la que determinará el tamaño del poro del gel y por lo tanto la mejor resolución final que pueda brindar.

2/ Se trabaja para un total de 90 mililitros, aunque esta cantidad puede variar según lo que se necesite para los diferentes tamaños de gel.

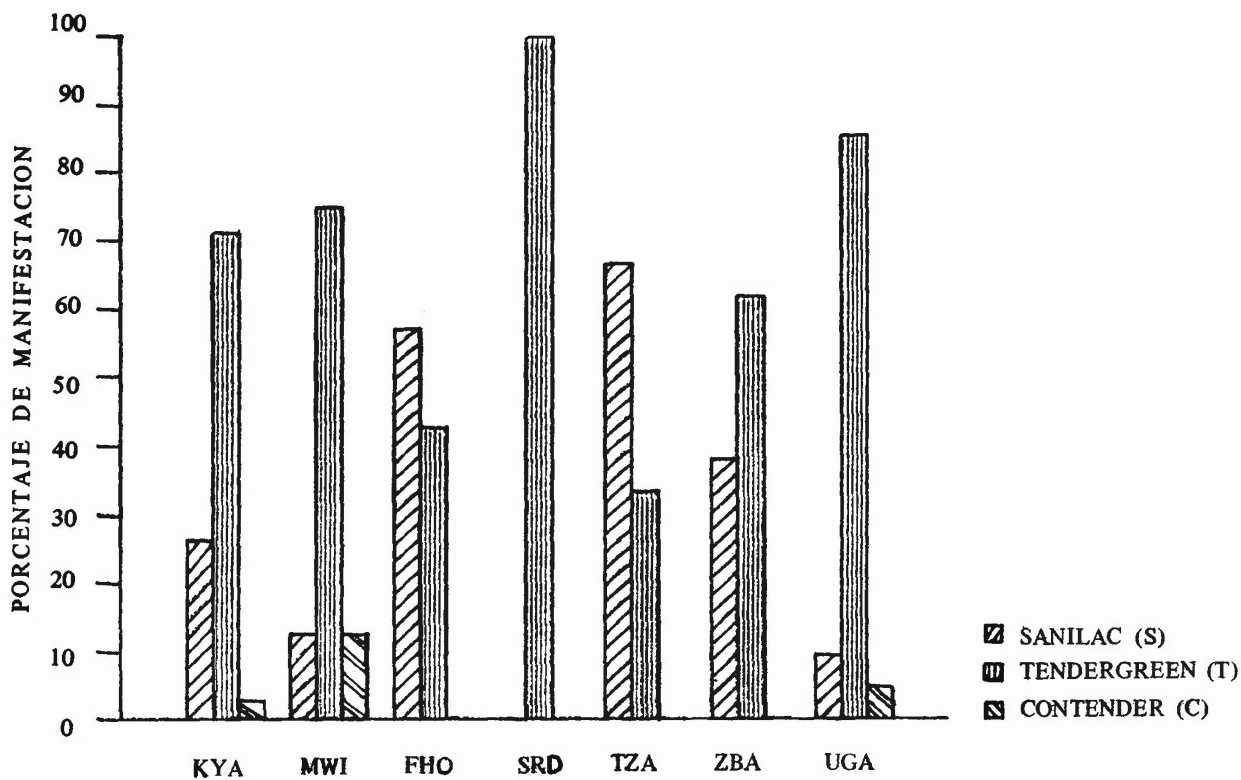


Fig. 1. Porcentaje de faseolina presente en cada país de Africa Sur Oriental.

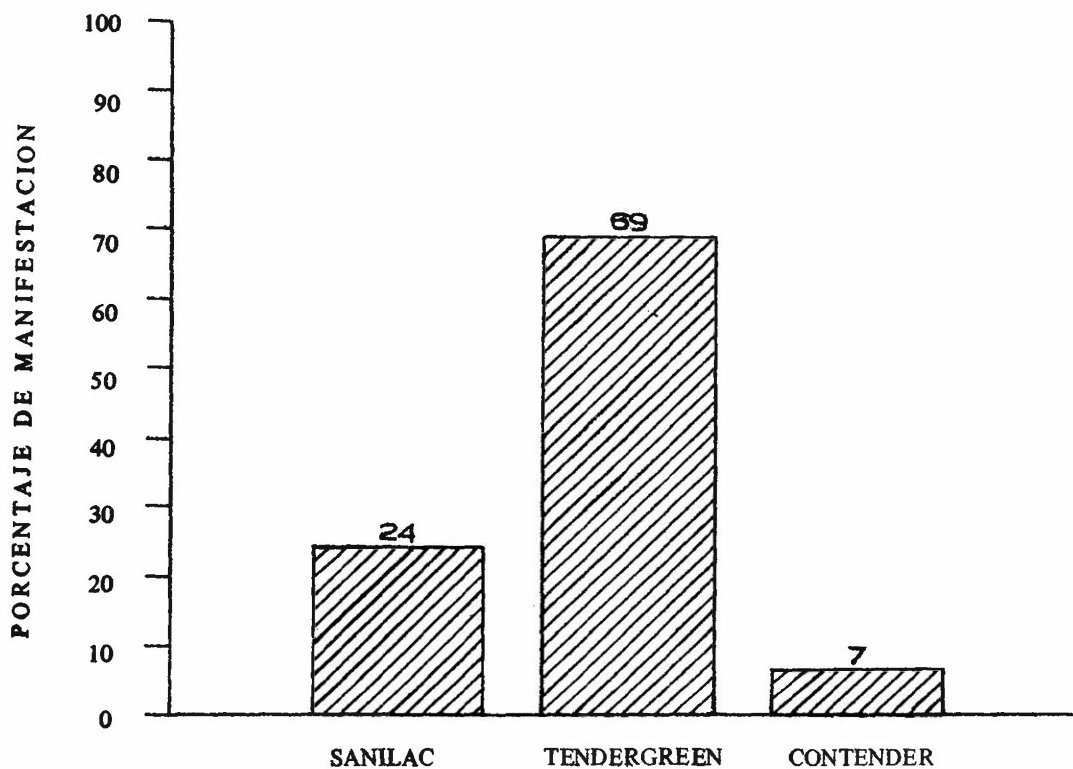


Fig. 2. Promedio de los patrones electroforeticos de faseolina en el área total de Africa Sur Oriental.

El frijol común entró al continente africano a través de los esclavos brasileros, (Evans, 1). Esto no quiere decir que en el Brasil el tipo T sea el característico, sino que el tipo de semilla de cultivares brasileros en la parte sur con faseolina T, se parece a algunos de los tipos de semilla observados en Africa. Por eso es posible, que la introducción de los cultivares africanos desde el sur de los Andes se hiciera por vía Brasil.

También se plantea la introducción directa desde la península Ibérica (España, Portugal) de los cultivares tipo T y C característicos de regiones con temperaturas bajas adaptables al occidente europeo. Además, ingleses y franceses eligieron cultivares de semilla grande y hábito de crecimiento arbustivo o determinado, buscando precocidad para aprovechar las cortas estaciones de verano.

El tamaño de la semilla en todos los tipos siempre fue grande. El peso promedio de 100 g de semilla fue: S = 22.91 (tipo S), 39.59 (tipo T) y 53.89 (tipo C).

La gama de colores, desde blanco uniforme hasta negro, pasando por granos crema, amarillo, rosado y morados fueron característicos de los 3 tipos.

Los hábitos de crecimiento identificados para algunos materiales, siempre fueron hábitos 1 y 3 correspondientes a arbustivo determinado y el indeterminado postrado característicos del tipo T de faseolina. Estos presentan generalmente semilla grande y algo de precocidad.

4. CONCLUSIONES

- 4.1. En los 238 materiales estudiados de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) del Africa Sur-Oriental, el patrón de faseolina que se manifestó en mayor proporción (69 o/o) fue el tipo Tendergreen (T), patrón característico de la región de los Andes del Sur.
- 4.2. Las 2 rutas posibles de diseminación del

cultivo desde su centro primario de origen pudieron ser: Los Andes del Sur, vía Brasil, o directamente desde la península Ibérica (España y Portugal) hasta el continente Africano.

- 4.3. No se encontraron evidencias de materiales recombinantes o híbridos entre los tipos de la proteína faseolina.

5. BIBLIOGRAFIA

1. EVANS, A. M. Beans. In: SIMMONDS, N. W. (ed.). Evolution of crop plants. London, Longman, 1976. p. 168-172.
2. GEPTS, P.; BLISS, F. A. Usefulness of phaseoline as an evolutionary marker. Bean Improvement Cooperative. Annual Report 28: 60-61. 1985.
3. GEPTS, P.; OSBORN, T. C.; RASHKA, K.; BLISS, F. A. Phaseolin protein variability in wild forms and landrace of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): Evidence for multiple centers of domestication. Econ. Bot. v. 40, n. 4. p. 451-468. Oct. -dec. 1986.
4. GEPTS, P.; BLISS, F. A. Dissemination pathways of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae) deduced from phaseolin electrophoretic variability. II. Europe and Africa. Econ. Bot., v. 42, n. 1, p. 86 - 104. 1988.
5. KAPLAN, L. What is the origin of the common bean. Econ. Bot., v. 35, n. 2. p. 240-254. 1981.
6. LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. Nature, 227. p. 680-685. 1970.
7. MA, Y.; BLISS, F. A. Seed proteins of common bean. Crop Sci. v. 18, n. 3, p. 431-437. May-june, 1978.
8. SINGH, S. P.; GUTIERREZ, J. A. Geographical distribution of the DL₁ and DL₂ genes causing hybrid dwarfism in *Phaseolus vulgaris* L., their association with seed size, and their significance to breeding. Euphytica, v. 33, n. 2, p. 337-345. June 1984.
9. TERRANCE y COOPER. Instrumentos y técnica de bioquímica. Barcelona, Reverté, 1984. p. 201-243.