

Estimaciones de heredabilidad del crecimiento, fijación de nitrógeno y rendimiento de frijol común¹

Juan C. Rosas y Eduardo A. Robleto²

Resumen. Dos ensayos de campo fueron conducidos en 1989-90 en El Zamorano, Honduras, para estimar la heredabilidad en sentido amplio (HSA) y en sentido estrecho (HSE) sobre el crecimiento, fijación de N₂ y rendimiento de frijol. Estos ensayos fueron conducidos en un lote fertilizado con sulfato de amonio conteniendo 14.8 % de ¹⁵N. Se utilizaron las poblaciones parentales de la línea RAB 201 (P1) y la variedad criolla Puebla 152 (P2), de alta capacidad de fijación de N₂, y las poblaciones F2, F3, y F4, derivadas del cruzamiento P1 x P2. La HSA fue estimada usando las varianzas de las poblaciones P1, P2 y F2, y la HSE usando la regresión padres- descendientes de las poblaciones F3 y F4, para el peso seco de la parte aérea (PSA), rendimiento de grano (RG), porcentaje y contenido de N total (PNT y CNT), y porcentaje y contenido de N₂ fijado (NFA y NFT). Los estimados de HSA para el PNT fue alto (0.73) e intermedio para las otras variables (0.36 a 0.53). Los estimados de HSE fueron intermedios (0.22 a 0.41), y con coeficientes de regresión significativos ($P \leq 0.01$), para todos los caracteres excepto el PNT (0.05). En general, los resultados indican que una buena proporción (más del 35%) de la variación observada para estos caracteres se debió a factores genéticos, y que los efectos de genes aditivos contribuyeron en gran medida (más del 20%) en la expresión de las diferencias entre genotipos.

Palabras claves: Variabilidad genotípica, fijación de N₂, *Phaseolus vulgaris*.

Abstract. Two field trials were conducted at El Zamorano, Honduras, to estimate broad (BSH) and narrow sense (NSH) heritabilities for plant growth, nitrogen fixation and yield traits of common bean. These trials were carried out in a field plot labeled with ammonium sulphate fertilizer containing 14.8 % of ¹⁵N. The parental populations from line RAB 201 (P1) and the landrace Puebla 152 (P2), with high N₂ fixing ability, and the F2, F3 and F4 populations derived from the cross P1 x P2 were used in these studies. Broad sense heritability was estimated by using the P1, P2 and F2 population variances, and NSH using parent- offspring regression from the F3 and F4 populations, for the traits shoot dry weight (PSA), grain yield (RG), percentage and content of total N (PNT and CNT), and percentage and content of N₂ fixed (NFA and NFT). Broad sense heritability estimates for PNT was high (0.73) and intermediate for other traits (0.36 to 0.53). Narrow sense heritability estimates were intermediate (0.22 to 0.41), with regression coefficients being significant ($P \leq 0.01$), for all traits with the exception of PNT. In general, the results suggested a great proportion of the variation observed (more than 35 %) due to genetic factors, and that additive gene effects contributed significantly (more than 20 %) in the expression of differences among genotypes.

Key words: Genotypic variability, N₂ fixation, *Phaseolus vulgaris*.

¹Departamento de Agronomía de Zamorano (Publicación No. AG-9506), con el apoyo del Board on Science and Technology for International Development (BOSTID), Research Grants Program (Donación No. BNF-HN-87-74).

²Jefe del Departamento de Agronomía, Zamorano, Apartado 93, Tegucigalpa, Honduras; Asistente de Investigación, Departamento de Fitopatología, Universidad de Wisconsin, Madison WI 53706.

INTRODUCCION

El frijol es uno de los granos básicos más importantes en la dieta de la población centroamericana; junto con el maíz constituyen la fuente principal de proteínas y calorías de los sectores rural y urbano. El cultivo de esta

leguminosa es principalmente en fincas de pequeños agricultores, quienes utilizando una tecnología de bajos insumos, generan la mayor parte de la producción en esta región. Bajo estas condiciones, el cultivo confronta una serie de factores adversos, bióticos y abióticos, que limitan su producción. El bajo contenido de materia orgánica y nitrógeno en los suelos dedicados a la producción de frijol en Centroamérica explican, en parte, los bajos rendimientos observados. El incremento en la práctica de la incorporación de materia orgánica proveniente de residuos de cosecha, cultivo de abonos verdes y/o abonos orgánicos, y el uso de variedades de mayor capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico (N_2), son alternativas para corregir la deficiencia de nitrógeno en la producción de frijol.

La disponibilidad de la variabilidad genética necesaria para mejorar la capacidad de fijación de N_2 en el frijol común ha sido indicada, sugiriéndose además que es factible desarrollar cultivares comerciales con alta capacidad de nodulación y fijación de N_2 (Graham y Rosas, 1977; Chaverra y Graham, 1992; Hardarson *et al.*, 1993; Bliss, 1993). Sin embargo, no se ha explotado adecuadamente esta posibilidad, porque la mayoría de los programas de mejoramiento están dirigidos hacia el incremento de la resistencia a factores bióticos que limitan la producción, mayormente enfermedades.

Se han realizado algunos intentos para incorporar alta capacidad de fijación de N_2 en frijol común a través de cruzamiento y selección (McFerson *et al.*, 1982; Miranda y Bliss, 1991; StClair y Bliss, 1991; Bliss, 1993). En la mayoría de estos casos se han desarrollado líneas recombinantes con buena habilidad para fijar N_2 y que poseen características comerciales deseables. En ciertos casos, se detallan diferencias en acumulación de N total, N_2 fijado y rendimiento de grano, entre líneas derivadas de cruces entre padres donantes de alta capacidad de fijación de N_2 y tipos comerciales, indicando que es posible seleccionar recombinantes superiores para los caracteres mencionados (McFerson *et al.*, 1982; Miranda y

Bliss, 1991; StClair y Bliss, 1991). Más aún, la recombinación entre líneas hermanas superiores, derivadas del cruzamiento entre una variedad comercial y una alta fijadora de N_2 , sugiere la acumulación adicional de genes favorables de alta fijación dentro de un mismo tipo comercial (StClair y Bliss, 1991). Miranda y Bliss (1991) indican que a la madurez la mayor proporción del N_2 fijado por plantas de frijol crecidas en suelos con bajo contenido de N se encuentra en las semillas, y que existen correlaciones positivas altas entre el N_2 fijado con el contenido de N total en las semillas y el rendimiento, por lo que la selección basada en el contenido de N en las semillas debería reflejar mayor fijación de N_2 e incremento en rendimiento de grano. A pesar de haberse demostrado la posibilidad de mejorar las características asociadas a la nodulación y fijación de N_2 en el frijol a través de cruzamiento y selección, la información sobre la herencia y control genético, necesaria para orientar más eficazmente las actividades de mejoramiento para estos caracteres, es muy escasa. De los pocos trabajos conducidos, uno de ellos indica rangos de heredabilidad en el sentido estrecho (HSE) desde 0.57 para contenido de N total en las semillas hasta 0.39 para biomasa de la parte aérea en familias F3 resultado de los cruzamientos de seis líneas con un progenitor masculino común (probador), -en ensayos de campo en un suelo areno-limoso de bajo contenido de N (Miranda y Bliss, 1991). En otro ensayo, Miranda *et al.* (1987) obtuvieron un coeficiente de 0.30 para la heredabilidad realizada con base en la respuesta a selección por número de nódulos en plantas F1, después de un ciclo de selección iniciado en 45 cruces generados al cruzar 10 líneas parentales usando un diseño de apareo dialélico:

Según Fehr (1987), los métodos escogidos para mejorar un carácter son influenciados por la heredabilidad de ese carácter, ya que la efectividad de selección depende de la importancia relativa de los factores genéticos y no-genéticos en la expresión de las diferencias fenotípicas entre genotipos de una población.

Este trabajo fue conducido con el objetivo de estimar coeficientes de heredabilidad de

caracteres del crecimiento, fijación de N_2 y rendimiento de grano en poblaciones segregantes provenientes del cruzamiento entre una línea comercial y una variedad criolla de alta fijación de N_2 .

MATERIALES Y METODOS

Dos ensayos de campo fueron conducidos en 1989-90 en la Terraza 3 del Departamento de Agronomía, en El Zamorano, Honduras, para determinar coeficientes de heredabilidad en sentido amplio (HSA) y HSE en caracteres de crecimiento, fijación de nitrógeno y rendimiento de grano. Se utilizaron poblaciones segregantes derivadas del cruzamiento entre la línea "RAB 201", de grano rojo-pequeño tipo centroamericano, y "Puebla 152", una variedad criolla mexicana de grano negro-pequeño, identificada por su alta fijación de N_2 (McFerson *et al.*, 1982; Bliss, 1985; 1993).

Manejo experimental

La siembra se efectuó en un lote marcado en agosto de 1989 con un fertilizante sulfato de amonio conteniendo 14.8 % de ^{15}N aplicado a un cultivo de maíz; a los 70 días después de la siembra (DDS), las plantas de maíz fueron incorporadas con un pase de rastra a una profundidad aproximada de 20 cm.

El suelo era un típico ustifluvent de textura areno-limosa, pH 5.9, 1.05 % de materia orgánica, 0.13 % de N total, 24 ppm de P y 304 ppm de K. La siembra del ensayo para estimar la HSA se efectuó el 16 noviembre de 1989. La siembra para estimar la HSE se efectuó el 11 octubre de 1990. La fertilización fue de 250 kg/ha de superfosfato triple (0-46-0) y 0.5 kg/ha de molibdato de sodio, aplicados en banda a la siembra. Las plantas fueron inoculadas con un inoculante granular de una mezcla de tres cepas, dos de *Rhizobium etli* (Tal 182 y Kim 5) y una de *R. tropici* (CIAT 899), aplicado al suelo a la siembra. Se aplicó al suelo el herbicida metolaclor, 0.96 kg i.a./ha; y el insecticida nematicida carbofuran, 1.0 kg i.a./ha, antes de la siembra. Los insectos y enfermedades foliares fueron controlados con aplicaciones de los

insecticidas metamidofos, 0.9 kg i.a./ha, y cipermetrina, 0.029 kg i.a./ha, para el control de crisomélidos (*Diabrotica* spp.) y mosca blanca (*Bemisia tabaci*), y el bactericida sulfato de estreptomycin, oxitetraciclina y sulfato de cobre tribásico, 0.33 kg i.a./ha, para el control de bacteriosis común (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*), a partir de la etapa de desarrollo V2 (primera hoja trifoliada) hasta la etapa R6 (floración). Se aplicaron seis riegos por aspersión de 20 mm para proveer humedad adecuada a las plantas durante los ensayos, complementándose la precipitación para un total aproximado de 260 mm de agua en el ensayo de HSA y 275 mm en el de HSE.

Material vegetal

El material utilizado para estimar la HSA fueron las líneas parentales RAB 201 (P1) y Puebla 152 (P2), y la población F2 del cruce de P1 x P2. La línea RAB 201, de buena adaptación, representó al padre de baja fijación de N_2 , y la variedad Puebla 152, genotipo inadaptado, representó el padre de alta fijación. Para estimar la HSE se utilizaron las poblaciones F3 y F4, provenientes del mismo cruce P1 x P2.

En ambos ensayos se tomaron muestras de plantas durante la etapa del llenado de vainas (R8), las cuales fueron divididas en parte aérea y semillas, y secadas en un horno a 70°C por 48 horas. Las muestras secas fueron pesadas, molidas, y enviadas a Isotec Lab, Miamisburg, Ohio, para las determinaciones de porcentaje de N total (PNT) y átomos de ^{15}N . La línea de frijol común no-noduladora "NOD 125" (Davis *et al.*, 1988), fue utilizada como cultivo de referencia.

Estimación de la heredabilidad

Se usaron las poblaciones P1, P2 y F2 para estimar la HSA. Las unidades experimentales consistieron de 60 plantas individuales por población; se calcularon los promedios y varianzas de cada una de estas poblaciones. Los estimados de HSA para el porcentaje y contenido de N total y N_2 fijado de la atmósfera, peso seco de la parte aérea y de rendimiento de grano, fueron calculados de acuerdo con Mamuh y Kramer (1951) como sigue:

$$HSA = VF_2 - (VP_1 * VP_2)^{1/2} / VF_2$$

donde VP_1 , VP_2 y VF_2 son las varianzas de las poblaciones P_1 , P_2 , y F_2 , respectivamente.

Los estimados de HSE, para las mismas variables que en la HSA, fueron calculados mediante el método de regresión padres-descendientes descrito por Smith y Kinman (1965) y Luciano *et al.* (1965), que toma en cuenta un ajuste por el grado de consanguinidad en cultivos de autopolinización. De acuerdo con estos autores, la HSE fue estimada por $4/7b$ (F_4 , F_3), donde b es el coeficiente de regresión padres-descendientes. Las unidades experimentales para estimar HSE consistieron en surcos individuales de 10 plantas por cada familia F_3 y F_4 ; evaluándose un total de 91 familias de cada población.

RESULTADOS Y DISCUSION

Con excepción de los valores de PNT y CNT, los promedios y las varianzas de la línea parental Puebla 152 (P_2) fueron mayores que los de la línea parental RAB 201 (P_1) para las variables medidas (Cuadro 1). Los promedios de PSA, RG, CNT y CNF de la población F_2 fueron superiores a los promedios de ambos padres, sugiriendo la presencia de segregación transgresiva para estos caracteres. Las varianzas de PSA, RG, PNT, PNF, y CNF de la población F_2 fueron superiores a la de ambos padres, no así la varianza de CNT que fue inferior a la del padre P_2 (Cuadro 1).

Los promedios de las poblaciones F_3 y F_4 de la cruce entre las líneas parentales $P_1 \times P_2$ para los caracteres medidos fueron muy similares entre ellos (Cuadro 2). Los coeficientes de regresión entre las 91 familias F_3 y F_4 fueron significativos ($P \leq 0.01$) para el PSA, RG, PNF, CNT y CNF, pero no para el PNT. Por ello, los valores de b fueron más altos para esos caracteres y casi cero para el PNT.

El estimado de HSA para el PNT fue relativamente alto (0.73), e intermedio (0.36-0.53) para las otras variables (Cuadro 1). En general, esto indica que una buena proporción (más del 35 %) de la variación de estos caracteres

se debió a factores genéticos. Los estimados de HSE fueron muy bajo para el PNT (0.05), bajo para el RG (0.22), e intermedios para PSA, PNF, CNT y CNF (0.31-0.41) (Cuadro 2), indicando que la contribución de los genes con efectos aditivos fue importante en la mayoría de estos caracteres, incluyendo al RG. En el PNT, la mayor proporción de los efectos genéticos en la expresión de las diferencias entre genotipos para este carácter se debió a genes dominantes. Las implicaciones de estos estimados de HSA y HSE para los caracteres evaluados, y en un cultivo de autopolinización como el frijol común, sugieren un mayor énfasis en métodos que permitan la selección de estos caracteres en generaciones avanzadas, a fin de aprovechar la contribución de los genes de acción aditiva; así como reducir los efectos de factores no-genéticos mediante la determinación de diferencias entre genotipos con base en promedios de familias, en lugar de plantas individuales, y pruebas con repeticiones (Wynne *et al.*, 1987). Los métodos de pedigrí modificado (Brimm, 1966) y retrocruza/autofecundación (Bliss, 1985; 1993), serían los más apropiados para transferir los caracteres relacionados a la fijación de N_2 de fuentes de germoplasma de alta fijación como Puebla 152 y otros genotipos donantes, para ampliar la base genética de estos caracteres en genotipos de diversas clases comerciales. Para el PNT y CNT, los resultados sugieren efectuar la selección en generaciones tempranas como la F_3 , siempre que las condiciones de selección consideren el manejo de las poblaciones en suelos con bajo N ; y que se pueda tomar muestras de plantas para determinar las diferencias entre familias F_3 para PNT y CNT, y conservar otras plantas de las mismas con el fin de obtener semillas para la siguiente generación. En las siguientes generaciones se continuarían las evaluaciones de PNT y CNT en un suelo bajo en N , para determinar las diferencias entre familias debidas a la fijación de N_2 , asumiendo que la mayor proporción del N utilizado por las plantas bajo condiciones limitantes de este nutrimento en el suelo, sería el N_2 derivado de fijación. De acuerdo a los estimados de heredabilidad, se sugiere la evaluación simultánea de CNT y RG en generaciones más avanzadas, donde los genotipos con mayor

Cuadro 1. Valores promedios (\bar{X}), varianzas (S^2) y heredabilidad en el sentido amplio (HSA) del peso seco de la parte aérea (PSA), rendimiento de grano (RG), porcentajes de N total (PNT) y N₂ fijado (PNF), y contenidos de N total (CNT) y N₂ fijado (CNF) de las líneas parentales RAB 201 (P1) y Puebla 152 (P2), y la población F2 de la cruce P1 x P2. Zamorano, Honduras, 1990.

Carácter	RAB 201 (P1)		Puebla 152 (P2)		F2 (P1 x P2)		HSA
	\bar{X}	S^2	\bar{X}	S^2	\bar{X}	S^2	
PSA (g/pl)	15.5	78.2	16.8	101.2	27.0	171.8	0.48
RG (g/pl)	5.2	13.1	7.6	28.1	10.6	29.9	0.36
PNT (%)	2.6	0.26	2.3	0.43	2.4	1.25	0.73
PNF (%)	27.7	7.9	40.4	12.5	34.5	18.4	0.46
CNT (mg/pl)	403.0	97.0	386.0	462.0	648.0	381.0	0.44
CNF (mg/pl)	112.0	4503.0	156.0	17020.0	224.0	18609.0	0.53

Cuadro 2. Valores promedios, coeficientes de correlación (r) y regresión (b), y heredabilidad en el sentido estrecho (HSE) del peso seco de la parte aérea (PSA), rendimiento de grano (RG), porcentajes de N total (PNT) y fijado (PNF), y contenidos de N total (CNT) y fijado (CNF) del análisis de regresión padres descendientes de las poblaciones F3 y F4 derivadas de la cruce entre las líneas de frijol RAB 201 y Puebla 152. Zamorano, Honduras, 1990.

Carácter	Promedio (n= 91)		Coeficientes		HSE
	F3	F4	r	b	
PSA (g/pl)	18.3	18.2	0.548**	0.608	0.35
RG (g/pl)	2.6	2.5	0.382**	0.385	0.22
PNT (%)	2.6	2.6	0.114ns	0.096	0.05
PNF (%)	19.9	19.3	0.869**	0.719	0.41
CNT (mg/pl)	471.1	472.7	0.518**	0.538	0.31
CNF (mg/pl)	93.8	91.2	0.734**	0.696	0.40

** , ns = Significativo al $P \leq 0.01$ y no significativo, respectivamente.

acumulación de N y RG, en suelos con bajo N, serían los seleccionados. Como lo manifiestan Miranda y Bliss (1991), el CNT en las semillas y el RG, están positivamente correlacionados con la fijación de N₂ en plantas de frijol crecidas en suelos con bajo contenido de N.

Aunque los coeficientes de HSE resultaron ser significativos e intermedios para las variables PNF y CNF, lo cual sugiere la factibilidad de incrementar la fijación de N₂ en frijol mediante selección en poblaciones segregantes basada en métodos de isótopos de ¹⁵N; las restricciones debidas al costo del fertilizante conteniendo estos isótopos, y los análisis de laboratorio respectivos, hacen esta tecnología poco accesible para programas modesto de mejoramiento. El uso de métodos indirectos basados en la medición de caracteres relacionados a la fijación de N₂, como CNT en la parte aérea y en las semillas, y el RG, en plantas crecidas en suelos con bajo contenido de N, podrían ser factibles de ser usados como criterios de selección en programas con recursos limitados.

LITERATURA CITADA

- Bliss, F. A. 1985. Breeding for enhanced nitrogen fixation potential of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) pp 303-310. In: P. W. Ludden and J.E. Burris (eds.), Nitrogen fixation and CO₂ metabolism. Elsevier Publishers, New York.
- Bliss, F.A. 1993. Breeding common bean for improved biological nitrogen fixation. Plant and Soil 152: 71-79.
- Brimm, C. A. 1966. A modified pedigree method of selection in soybeans. Crop Science 6: 220.
- Chaverra, M. H. and P.H. Graham. 1992. Cultivar variation in traits affecting early nodulation of common bean. Crop Science 32: 1432-1436.
- Davis, J.H.C., K. E. Giller, J. Kipe-Nolt and M. Awah. 1988. Non-nodulating mutants in common bean. Crop Science 28: 859-860.
- Fehr, W. R. 1987. Principles of cultivar development: Theory and Technique. McMillan Publishing Company.
- Graham, P.H. and J.C. Rosas. 1977. Growth and development of indeterminate bush and climbing cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. inoculated with *Rhizobium*. J. Agric. Sci. Cambridge 88: 503-508.
- Hardarson, G., F. A. Bliss, M. R. Cigales, R. A. Henson, J. A. Kipe-Nolt, L. Longeri, A. Manrique, J.J. Peña-Cabrales, P.A.A. Pereira, C.A. Sanabria and S. M. Tsai. 1993. Genotypic variation in biological nitrogen fixation by common bean. Plant and Soil 152: 59-70.
- Luciano, A., M.L. Kinman and J.D. Smith. 1965. Heritability of self-incompatibility in the sunflower (*Helianthus annuus*). Crop Science 5: 529-532.
- Mamuh, I., and H.H. Kramer. 1951. Segregation for yield, height, and maturity following a soybean cross. Agronomy J. 43: 605-609.
- McFerson, J.R., F.A. Bliss and J. C. Rosas. 1982. Selection for enhanced nitrogen fixation in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). pp 39-44. In: P.H. Graham and S. Harris (eds.), BNF technology for tropical agriculture. CIAT, Cali, Colombia.
- Miranda, B. D. and F. A. Bliss. 1991. Selection for enhanced seed nitrogen accumulation in common bean: Implications for improving dinitrogen fixation and seed yield. Plant Breeding 106: 301-311.
- Miranda, B. D., P. A. A. Pereira and F. A. Bliss. 1987. Recurrent selection for increased nodule number in black bean. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative Group 30: 5-6.
- Smith, J.D. and M. L. Kinman. 1965. A note on the use of parent-offspring regression as an estimator of heritability. Crop Science 5: 595-596.
- StClair, D.A. and F.A. Bliss. 1991. Intrapopulation recombination for ¹⁵N-determined dinitrogen fixation ability in common bean. Plant Breeding 106: 215-225.
- Wynne, J.C., F.A. Bliss and J.C. Rosas. 1987. Principles and practice of field designs to evaluate symbiotic nitrogen fixation. pp 371-389. In: G. E. Elkan (ed.), Symbiotic nitrogen fixation technology. Marcel Dekker, Inc., New York.