

# DIVERSIDAD GENOTIPICA EN LA EXPRESION DEL POTENCIAL DE FIJACION SIMBIOTICA DEL NITROGENO EN LINEAS RECOMBINANTES DE FRIJOL COMUN (*Phaseolus vulgaris* L.) COMPARADAS CON SUS PARENTALES

AUTORES.

***Germán Hernández<sup>1</sup>, Miguel Mulling<sup>1</sup>, Aurelio García, Nancy Méndez<sup>1</sup> y Vidalina Toscano.<sup>1</sup>***

**(1) Dirección Provincial de Suelos de La Habana “ La Renée”.Telefono (066) 82112 y 81792. E. Mail [larenee@ceniai.inf.cu](mailto:larenee@ceniai.inf.cu)**

RESUMEN.

El objetivo del presente trabajo es mostrar la diversidad genotípica en la expresión del potencial de Fijación Simbiótica del Nitrógeno (FSN), de líneas recombinantes, de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), seleccionadas, como resultado del cruce de las variedades, DOR 364 y BAT 477, contrastantes, en términos de su baja y alta expresión del potencial de FSN, de absorción y utilización del fósforo en condiciones de bajo fósforo en el suelo. Cuarenta y nueve RILs, en F8, de una población de 314, fueron previamente seleccionadas en un ensayo agronómico. La diversidad de expresión del potencial de FSN de ellas comparadas con sus progenitores, se realizó en invernadero, en el dispositivo de cultivo hidroaeropónico. Las plantas crecieron en solución nutritiva con 50 y 250  $\mu\text{M}$  P semana<sup>-1</sup>, subóptimo y óptimo, respectivamente. Las variables respuestas cuantificadas fueron, Masa seca aérea (MSA, g pl<sup>-1</sup>), Masa seca radical (MSr, g pl<sup>-1</sup>), número de nódulos (no nod) y eficiencia de utilización de los sistemas rhizobiano (EUSR). Cinco RILs fueron seleccionadas para evaluar la consistencia de la expresión de los potenciales agronómicos y de FSN en condiciones de fósforo subóptimo y óptimo (15 y 90Kgh<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>). Se obtuvieron valores entre 9 y 14 y 4 y 8 gPL<sup>-1</sup> de MSA y MSR respectivamente. Entre 215-440 nódulos Pl<sup>-1</sup> y 0.45-0.79 EUSR Se

recomienda considerar este comportamiento para explotar comercialmente el potencial de FSN ambientes agroecológico donde se cultive el frijol con bajos niveles de fósforo..

## INTRODUCCIÓN.

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) constituye la principal fuente de proteína, de origen vegetal, para más de 5.3 billones de persona en América Latina, Africa, el Caribe y Asia. (Vance et al., 1995), Si asumimos un consumo promedio diario per capita, equivalente a 70 g de proteína, cada año el consumo equivale a 23 millones de toneladas de nitrógeno (Vance et al., 1995).

Para los próximos 40 años se espera un crecimiento de la población actual del doble (Vance et al.,1995), para satisfacer esta demanda, debe duplicarse o triplicarse la producción actual de frijol, para ello, se expandirán las fronteras agrícolas, usando áreas consideradas hoy marginales agrónomicamente.

Una alternativa viable para obtener rendimientos de granos económicamente rentables, en estas áreas, puede ser el manejo juicioso del nitrógeno y el fósforo, limitantes mayores, en los suelos tropicales para la producción de frijol común, mediante la selección de plantas de frijol y cepas de rizobias con alta expresión del potencial agronómico, de FSN, el uso eficiente del fósforo proveniente de una fuente alternativa de fósforo local, roca fosfórica parcialmente acidulada (FPA-50), (García et al 2000), así como, un mejor conocimiento de la diversidad en los cambios estructurales y funcionales de la rizosfera, de las plantas de frijol común cultivadas en suelos donde el nitrógeno y el fósforo sean limitantes de la expresión agronómica de la planta y del funcionamiento de la bacteria en la planta.

## MATERIALES Y MÉTODOS.

Se utilizaron líneas recombinantes seleccionadas (LRS), del cruce de las variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) DOR 364 y BAT 477, realizado en Centro

Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali Colombia (Beebe et al., 1997)., ambas de raza Mesoamericana (Sing et al., 1991) . DOR 364 es alto rendidor en condiciones de fósforo óptimo en el suelo y BAT 477, adaptado a condiciones de fósforo limitante, sequía con alta expresión del potencial agronómico y de fijación simbiótica del nitrógeno. (Beebe et al., 1997).

El inoculante se preparó a base la cepa de bacteria d el genero Rhizobium CF-1 autóctona (Hernández et al., 1980). La manipulación de la bacteria y la preparación del inoculante se realizó según (Vincent, 1970)

La desinfección de las semillas, la pregerminación y el crecimiento de las plantas en invernadero, en el cultivo hidroaerónico se realizo según (Dunis y Hernández 2000).

La cosecha se efectuó en la etapa de desarrollo (R6-7 ), de la planta de frijol cuando al menos 50% de las plantas tenían una vaina de 2mm de longitud.

Después de cosechadas las plantas se separaron en, parte aérea y en sistema radical, los nódulos después de secos, 65°C durante 48 horas, fueron extraídos del sistema radical.

Eficiencia de utilización de la simbiosis rhizobiana (EUSR), Se realizó según (Dunis y Hernández, 2000)

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

La formación de Msa tabla 1, en valores absolutos fue mayor en las líneas crecidas en óptima concentración de fósforo (OP), respecto a las que crecieron en condiciones de fósforo sub óptimo (SOP), los valores medios generales de formación de Msa en los tratamientos OP y SOP, fueron de 5.78 y 2.7 g Msa  $PI^{-1}$ . La formación de Msa en las LRS, 19 y 46 en relación con la variedad BAT 477, fue de 97 y 98 % respectivamente.

En las dos líneas, los valores medios de de Msa, no fueron significativamente diferente al valor de Msa, acumulado por la variedad BAT 477.

En el tratamiento con el fósforo subóptimo, las LRS,19 y 27, la Msa formada fue significativamente superior, respecto a la variedad BAT 477. Las líneas 23, 39 y 40, respecto a la variedad BAT 477, la formación de Msa fue significativamente inferior. En el resto de las LRS la producción de Msa, no fue diferente a la variedad testigo.

La formación de MSr, Tabla1 en las LRS crecidas en las dos concentraciones de fósforo, se dividió en dos grupos homogéneos y significativamente diferentes, respecto a la variedad testigo. Lo que demuestra que en las condiciones de cultivo hidroaerónico la planta no tiene otra limitación física, sólo la concentración de fósforo.

La formación de MSn, Tabla 1 en las LRS crecidas en las dos concentraciones de fósforo fue diferente, en relación con el testigo, la MSn formada en óptimo suministro de fósforo en todas las LRS fue significativamente inferior en relación con los parentales, la MSn, formada por la variedad BAT 477, demuestra que las condiciones de crecimiento en cultivo hidroaerónico, permiten que la planta de frijol común exprese su potencial de formación de masa radical y por tanto, el suministro de nutrimentos a la planta en estas condiciones para la formación de MSn, no está limitada; resulta así, la formación de 1.04 g de MSn por la variedad de frijol BAT 477. Debe considerarse que en estas condiciones de crecimiento de la planta no hay perdidas de masa nodular al hacer la extracción y por tanto, se trata de un valor potencial de formación de MSn.

El número de nódulos formados en valores absolutos por las plantas crecidas en concentraciones subóptima, fue inferior en relación con las plantas crecidas en concentraciones óptimas de fósforo.Tabla 1

En efecto, las respuestas de las LRS, confirman la diversidad de expresión de las LRS, términos de su diversidad de expresión de su potencial de FSN, en condiciones de fósforo óptimo y sub óptimo

La eficiencia de utilización de la simbiosis rhizobiana en valores absolutos fue diferente, cuando las LRS crecieron en condiciones de fósforo subóptimo u óptimo. Entre las líneas crecidas en una u otra condición de suministro de fósforo, hubo diversidad en la expresión de la eficiencia.

La ecuación de regresión entre la NSn y la Msa, datos no mostrados, el valor de la pendiente de la ecuación de regresión, considerada como indicador de la eficiencia de la nodulación para sostener el crecimiento aéreo de la planta. En este caso proponemos denominar eficiencia de utilización de la simbiosis rhizobiana (EUSR). Ella expresa el aumento de la formación de la Msa, resultado del aumento de la MSn. Ta

## CONCLUSIONES.

La carencia de fósforo, provocó en las LRS disminución de la MSn por planta, aumento de la contribución nodular a la nutrición nitrogenada de la planta, disminución de la eficacia de utilización de la Simbiosis Rhizobiana (EUSR) y un aumento de la MSn, a consecuencia de una disminución de la Msa.

## Recomendaciones.

Continuar los ensayos agronómicos y en fincas de agricultores con las LRS 5, 9, 11, 23 y 27, en condiciones de fósforo subóptimo y óptimo, en suelos Ferralíticos Rojos y Pardos sin Carbonatos.

## BIBLIOGRAFÍA.

Beebe S.Lynch J P, Galwey N, Thome J and Ochoa I 1997 A geographical approach to identify phosphorus- efficient genotypes among landraees and wild ancestors of common bean. Euphyta 95, 325-336.

Dunis J y G. Hernández 2000. Selection de symbioses Rhizobium-Phaseolus vulgaris tolerantes a la carence en phosphore. Sol Symbioses Environnement 2 Place Viala 34090 Montpellier France. 26 pag.

García. A Hernández G 2000 Acidulación parcial de la roca fosfórica nacional como una alternativa para la producción de un fertilizante fosfórico (FPA- 50). Informe final del Proyecto de cooperación franco-cubano. Manejo del complejo Phosphoro-Phaseolus-Rhizobium para mejorar la producción de frijol y la fertilidad del suelo en Cuba. Policopia. Documento de trabajo. 85 pag.

Hernández G, A González y D. Almaguer. 1980 Resultados de las Extensiones con cepas de Rhizobium en Empresas Agrícolas de las Provincias de Pinar del Río, Matanzas, Y Holguín. En: Informe de archivo de la Estación "La Renée". 8 pag.

Singh S P, Gepts P and Debouck D G 1991 Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, *Fabecea*). Econo. Bot.45, 379-396.

Vance, C.P and Graham, P.H. 1995 Nitrogen fixation in agriculture: Application and perspectives. In: Nitrogen Fixation : Fundamental and Applications . Proc. Of the 10<sup>th</sup> International Congress on Nitrogen Fixation, St. Petersburg, Russia, May 28- June 3 . PP 77- 86

Vincent, J. M 1970 A manual for the Practical Study of Root Nodules Bacteria. IBP Handbooks 15, Blackwell Scientific. Oxford.

Tabla 1. Diversidad genotípica de líneas recombinantes de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), comparadas con sus parentales, variedades DOR 364 y BAT 477, en la formación de masa seca aérea (Msa), radical (MSr), nodular (MSn) número de nódulos (nb nod) (g PI<sup>-1</sup>), y la eficiencia de utilización de la simbiosis rizobiana (EUSR), cultivadas en condiciones de invernadero, cultivo hidroaeropónico.

Línea	Msa		MSr		MSn		nbnod		EUSR	
	OP	SOP	OP	SOP	OP	SOP	OP	SOP	OP	SOP
5	4.08 <sup>b</sup>	3.03 <sup>o</sup>	1.71 <sup>b</sup>	1.39 <sup>b</sup>	0.37 <sup>b</sup>	0.14 <sup>a</sup>	331 <sup>o</sup>	102 <sup>a</sup>	3.91 <sup>o</sup>	0.33 <sup>o</sup>
9	4.98 <sup>b</sup>	3.09 <sup>o</sup>	2.38 <sup>o</sup>	1.81 <sup>b</sup>	0.21 <sup>b</sup>	0.05 <sup>b</sup>	356 <sup>o</sup>	63 <sup>o</sup>	0.21 <sup>b</sup>	0.32 <sup>o</sup>
11	2.43 <sup>b</sup>	2.51 <sup>o</sup>	1.28 <sup>b</sup>	2.04 <sup>o</sup>	0.22 <sup>b</sup>	0.12 <sup>o</sup>	215 <sup>b</sup>	123 <sup>a</sup>	13.48 <sup>a</sup>	0.40 <sup>o</sup>
19	8.41 <sup>o</sup>	4.67 <sup>a</sup>	3.19 <sup>o</sup>	2.32 <sup>o</sup>	0.56 <sup>b</sup>	0.12 <sup>o</sup>	393 <sup>o</sup>	106 <sup>a</sup>	2.94 <sup>b</sup>	0.21 <sup>b</sup>
22	6.32 <sup>b</sup>	2.81 <sup>o</sup>	2.04 <sup>b</sup>	1.42 <sup>b</sup>	0.39 <sup>b</sup>	0.07 <sup>b</sup>	377 <sup>o</sup>	64 <sup>o</sup>	14.14 <sup>a</sup>	0.36 <sup>o</sup>
23	3.10 <sup>b</sup>	1.79 <sup>b</sup>	0.94 <sup>b</sup>	0.89 <sup>b</sup>	0.25 <sup>b</sup>	0.09 <sup>o</sup>	238 <sup>o</sup>	113 <sup>b</sup>	8.66 <sup>o</sup>	0.56 <sup>o</sup>
27	6.15 <sup>b</sup>	4.14 <sup>a</sup>	2.91 <sup>o</sup>	2.26 <sup>o</sup>	0.51 <sup>b</sup>	0.10 <sup>o</sup>	440 <sup>a</sup>	86 <sup>o</sup>	3.99 <sup>o</sup>	0.24 <sup>b</sup>
30	6.15 <sup>b</sup>	2.39 <sup>o</sup>	2.91 <sup>o</sup>	1.23 <sup>b</sup>	0.51 <sup>b</sup>	0.09 <sup>o</sup>	440 <sup>a</sup>	55 <sup>o</sup>	11.56	0.42 <sup>o</sup>
32	5.41 <sup>b</sup>	3.14 <sup>o</sup>	2.06 <sup>b</sup>	1.46 <sup>b</sup>	0.51 <sup>b</sup>	0.05 <sup>b</sup>	286 <sup>o</sup>	40 <sup>b</sup>	6.23 <sup>o</sup>	0.32 <sup>o</sup>
43	5.76 <sup>b</sup>	2.48 <sup>o</sup>	1.64 <sup>b</sup>	1.23 <sup>b</sup>	0.36 <sup>b</sup>	0.06 <sup>b</sup>	250 <sup>b</sup>	68 <sup>o</sup>	3.79 <sup>o</sup>	0.40 <sup>o</sup>
39	5.67 <sup>b</sup>	1.60 <sup>b</sup>	1.42 <sup>b</sup>	0.72 <sup>b</sup>	0.53 <sup>b</sup>	0.07 <sup>b</sup>	319 <sup>o</sup>	52 <sup>o</sup>	7.69 <sup>o</sup>	0.62 <sup>o</sup>
40	4.38 <sup>b</sup>	1.27 <sup>b</sup>	1.23 <sup>b</sup>	0.78 <sup>b</sup>	0.42 <sup>b</sup>	0.07 <sup>b</sup>	281 <sup>b</sup>	61 <sup>o</sup>	6.59 <sup>o</sup>	0.79 <sup>a</sup>
46	8.27 <sup>o</sup>	2.36	2.33 <sup>o</sup>	1.19 <sup>b</sup>	0.28 <sup>b</sup>	0.10 <sup>o</sup>	281 <sup>b</sup>	62 <sup>o</sup>	21.79	0.42 <sup>o</sup>
BAT 477	8.56 <sup>o</sup>	3.15 <sup>o</sup>	2.73 <sup>o</sup>	2.51 <sup>o</sup>	1.04 <sup>o</sup>	0.10 <sup>o</sup>	359 <sup>o</sup>	75 <sup>o</sup>	7.63 <sup>o</sup>	0.36 <sup>o</sup>
DOR 364	5.46 <sup>b</sup>	2.79 <sup>o</sup>	2.42 <sup>o</sup>	2.05 <sup>o</sup>	0.54 <sup>b</sup>	0.09 <sup>o</sup>	314 <sup>o</sup>	59 <sup>o</sup>	1.99 <sup>b</sup>	0.32 <sup>o</sup>
ESx	2.031	1.098	0.723	0.512	0.253	0.03	70.211	26.213	5.081	0.182
CV%	15	12	11	13	13	11	27	22	13	10

Símbolo:(o)Valor de la media no significativamente diferente al valor de la media del testigo.(a)valor de la media significativamente superior a la media del testigo (b) Valor de la media no significativamente inferior a la media del testigo. Prueba de Dunnett. Según (Garaux. 1986)