

POTENCIAL DEL FRIJOL HIBRIDO

H. Bannerot*

Resumen

Para desarrollar con éxito frijol híbrido F_1 , es necesario cumplir cuatro condiciones:

1. Evaluar la magnitud de la heterosis.

Una revisión de 23 trabajos muestra que la heterosis de rendimiento superior a la del progenitor alto puede variar entre un 20 y un 170%, lo que depende de las combinaciones y de las condiciones de cultivo. Un trabajo reciente informa sobre xana heterosis de rendimiento superior a la del progenitor alto, con un promedio de 30% y un máximo excediendo el 100%, lo que corresponde a un rendimiento real de 5t/ha.

Todos los componentes de rendimiento muestran heterosis, en particular el número de vainas/m². Las mejores combinaciones involucran progenitores con diferente hábito de crecimiento.

2. Hallar esterilidades masculinas citoplasmáticas eficientes.

Hasta ahora se han hallado cinco citoplasmas que inducen un nivel relativamente bueno de esterilidad masculina en *P. vulgaris*: 1 en CIAT, 4 en Versailles. Estos citoplasmas parecen diferir por sus patrones de restricción mtADN con la enzima Sal I, pero son funcionales con el mismo conjunto de mantenedores.

* Directeur de Recherches, Estación de Génétique et d'Amélioration, des Plantes I.N.R.A., Route de Saint-Cyr, 78026 Versailles Cedex, Francia.

La mayoría de los genotipos de P. vulgaris probados son mantenedores pobres que dan una esterilidad masculina parcial cuando se convierten.

Se hallaron menos de 20 genotipos con buena capacidad de mantenimiento. Estos pertenecen a las diferentes categorías: fríjol arbustivo, voluble, seco, habichuela, fríjol blanco o de color.

Después de la meiosis, los granos de polen de las plantas buenas masculinas estériles permanecen asociados en tetradas y menos de un 10% de ellos se pueden teñir.

3. Transportar polen del progenitor masculino al femenino.

Se evaluó la fertilización cruzada de plantas con esterilidad masculina en el campo, la que se consideró insuficiente en 1987, pero buena en 1988 en la Estación Versailles.

Se inició un programa de selección por capacidad de cruzamiento natural en 1980 en una población derivada de los multicruzamientos de P. vulgaris x P. coccineus. Produjo líneas con una tasa de hibridación natural (sin esterilidad masculina) de 20 a 30% en Versailles, en comparación con una tasa natural de 3% en las variedades de control.

4. Restaurar la producción de polen en los híbridos F¹.

Hallamos 3 líneas de P. vulgaris con capacidad de restauración dominante. Sus F₁ con buenos genotipos estériles masculinos no eran tan fértiles como el control. Tienen de 30 a 70% de granos de polen que se pueden teñir y que son parcialmente coalescentes.

Otra fuente de restauración dominante se derivó de los multicruzamientos P. vulgaris x P. coccineus. Parecen producir F¹ con mayores niveles de tinción y polen más disperso. En 1988, el nivel de fertilidad de las vainas de F₁ experimentales parece ser suficiente

para expresar muy bien el potencial de rendimiento.

Proponemos comenzar un programa de selección recíproca recurrente con dos grupos complementarios. El primer grupo será la fuente de progenitores femeninos. Por lo tanto, incorporará una alta capacidad de mantenimiento (con el fin de que se transforme fácilmente a esterilidad masculina por retrocruzamientos) y un alto número de semillas (es decir, tamaño de semilla pequeño y hábito de crecimiento intermedio).

Por el contrario, el segundo grupo debe ser seleccionado por su alta capacidad de restauración, tamaño de semilla grande, y alta capacidad de combinación con el grupo 1.

El frijol voluble probablemente representa la meta más apropiada para comenzar el mejoramiento híbrido.

Introducción

Uno de los retos más difíciles del fitomejoramiento es el desarrollo exitoso de los híbridos F_1 en especies autóгамas.

El modelo híbrido F_1 (cruzamiento de dos líneas puras) fue casi simultáneamente propuesto a comienzos de este siglo por Shull y East, con el objeto de mejorar el rendimiento de maíz. Se demoró mucho tiempo (cerca de 40 años) para tener éxito. A pesar de un progreso significativo en el rendimiento y la uniformidad, la grave depresión endogámica de las líneas paternas aumentó enormemente el costo de las semillas comerciales y por lo tanto retardó el desarrollo de variedades híbridas. Gracias a la solución hallada por Jones (híbridos dobles), fue finalmente posible liberar híbridos.

Ahora este tipo de variedad se utiliza universalmente para muchas

especies alógamas: cebolla, remolacha azucarera, girasol, espárrago, zanahoria, calabazas, etc..

Con respecto a las especies autógamas, los pocos casos raros de híbridos F^1 se hallan en las hortalizas: tomate, pimienta, y berenjena, donde los híbridos reemplazan progresivamente a las antiguas variedades mejoradas. Sin embargo, en China, se cultiva 1 millón de hectáreas de híbridos F^1 de arroz y en Europa los primeros híbridos de trigo se liberaron hace cuatro años, aunque sin gran éxito.

En verdad es difícil desarrollar híbridos F^1 en especies autógamas, ya que las líneas puras pueden por sí mismas ser productivas, adaptadas a diferentes tipos de agricultura, son muy fáciles de reproducir y por lo tanto se utilizan directamente como variedades comerciales. Este es el caso del frijol cuyas líneas puras son muy satisfactorias. Pero esto no significa que no hay efecto heterótico.

Deben cumplirse cuatro prerequisites antes de embarcarse en un programa de creación híbrida.

En primer lugar, es necesario evaluar la magnitud de heterosis, lo que señala la probabilidad de hallar combinaciones que sean suficientemente mejores que las variedades de control.

La heterosis se medirá como la diferencia entre el híbrido y el mejor progenitor, el cuál, en este caso, no debe ser una línea mala oprimida, sino una línea homocigota productiva. Esto explica por qué el valor de la heterosis en las especies autógamas promedia de 20 a 30% más que la del progenitor alto en vez de 200% como en el maíz.

Veremos que en el caso del frijol común, tenemos la buena fortuna de tener tipos disponibles altamente diversificados capaces de generar efectos de heterosis inesperados.

El segundo prerequisite trata el proceso de hibridación mismo. En especies hermafroditas, es imposible emascular manualmente a gran escala. La mejor solución es depender de la esterilidad masculina citoplasmática o EMC. La EMC se basa en la interacción de un citoplasma inductor (o más precisamente un mitocondrio inductor) y un núcleo mantenedor en el mismo genotipo.

Tercero, el polen del progenitor masculino se debe llevar profusamente a los estigmas del progenitor femenino. En las leguminosas, este transporte será llevado a cabo por insectos, abejas y abejorros polinizadores. En especies estrictamente autóгамas, el transporte de polen podría ser un problema.

Finalmente, tenemos que cancelar el efecto de esterilización del genoma mitocondrial por acción de genes nucleares llevados por el gametofito masculino. Llamamos a esto restauración de la fertilidad del polen o simplemente restauración. Necesitamos lograr la restauración del F_1 mismo, lo que significa que este sistema restaurador genético nuclear debe ser dominante.

1. Magnitud de la Heterosis

En 1986, Florence Lestienne revisó la literatura relevante a la heterosis en frijol común. Se analizaron 23 referencias desde 1932 (Málinovski) hasta 1986 (Nienhuis y Singh). En general, debido a la dificultad de obtención de la semilla híbrida en cantidades grandes, las evaluaciones se realizaron en plantas únicas o en parcelas a densidades muy bajas.

La heterosis expresada como la diferencia entre el híbrido y el mejor progenitor puede variar en un alto grado: de 20 a 170%, dependiendo de los progenitores y del ambiente.

El trabajo más reciente (Nienhuis y Singh, 1986) es probablemente uno de los más interesantes. Los autores usaron un cruzamiento dialélico grande de 9 x 9, con progenitores elegidos en los tres hábitos de crecimiento existentes de frijol arbustivo y de diferentes tamaños de semilla. Los F_1 se F_2 evaluaron en dos localidades (Palmira y Popayán, Colombia) por rendimiento, componentes de rendimiento y caracteres arquitectónicos.

Los principales resultados se pueden resumir como sigue:

- Se observó heterosis superior a la del progenitor medio en todos los caracteres medidos.
- Se hallaron significativas interacciones de heterosis x localidad para rendimiento, componentes del rendimiento y tres caracteres arquitectónicos.
- La heterosis de rendimiento superior a la del progenitor alto fue significativa en 20 cruzamientos en Palmira (36% heterosis media) y sólo en 4 cruzamientos en Popayán (23% promedio).
- Los mejores cruzamientos mostraron heterosis de aproximadamente 100%, lo que corresponde a un rendimiento de cerca de 5 t/ha en Palmira, en comparación con un rendimiento progenitor promedio de 2.7 y con rendimiento progenitor mejor de 3.4.
- Los valores de heterosis tienden a aumentar en los cruzamientos de hábito de crecimiento cada vez más divergente, I x II y I x III son mejores que I x I ó II x II.
- La habilidad combinatoria general es mayor que la habilidad combinatoria específica, lo que sugiere que la acción de gen aditivo es más importante en la herencia del rendimiento.

En Versalles, también hallamos una buena habilidad combinatoria entre los diferentes hábitos de crecimiento. Por ejemplo, el F_1 S102 (tipo II) x Red KCloud (tipo I) mostró heterosis superior a la del progenitor alto (S102) de 30% en el campo y de 60% en el invernadero.

Me permito citar este comentario de Nienhuis y Singh (1986) "La heterosis para todos los caracteres medidos y especialmente la heterosis encima del progenitor alto por rendimiento puede ser suficientemente grande para suscitar interés en la factibilidad de la producción comercial de semilla de frijol híbrido".

2. Esterilidad Masculina Citoplasmática

2.1 Origen de citoplasmas

El primer caso de EMC en frijol se observó en CIAT (Singh et al., 1980). La naturaleza citoplasmática de esta esterilidad masculina se confirmó en los EE.UU. (Basset y Shuh, 1982).

Esta EMC se originó en G 8063, un genotipo típico de P. vulgaris en el cual se observaron 13 plantas con esterilidad masculina en 1977. Sus F₁ con G 3807 fueron estériles o parcialmente estériles, sugiriendo que G 3807 es un mantenedor; posteriormente se halló que las habichuelas americanas Sprite y Triumph eran mantenedores y fueron convertidas en plantas con esterilidad masculina en Gainesville. las plantas con esterilidad masculina produjeron menos de un 10% de polen que se podía teñir y tetradas persistentes de polen no teñido. Desgraciadamente, esta EMC parecía ser erráticamente inestable, y retomaba a la fertilidad.

También presenta el fenómeno paradójico de la "restauración permanente" ya observada en Vicia faba. La progenie F₂ de P. vulgaris derivada de F[^] EMC Sprite x R351, autofecundado y restaurado, segrega como se esperaba 3 mf: 1 ms. Pero las **plantas con esterilidad masculina en la** generación F₃ están ausentes. Recientemente, Sally Mackenzie y Chris Chase demostraron que un fragmento de 6 kb de mtADN se cortó en los revertientes y en el F[^] derivado del F[^] restaurado. Este citoplasma se recibió recientemente, y se codificó (Ci) por haberse originado en CIAT.

En 1978, para estudiar las interacciones núcleo-citoplásmicas en frijol, comenzamos a cruzar varios genotipos de P. vulgaris como hembra con varios genotipos de P. coccineus (programa VUQO) y reciprocamente (programa OOVU) .

El principio del método utilizado consiste en que la progenie de un cruzamiento recibe el citoplasma exclusivamente del progenitor femenino. Por ejemplo, consideremos que el cruzamiento Desiree (hembra) x Maxidor (macho) seguido por nueve retrocruzamientos con Maxidor (macho) dan como resultado la transferencia del núcleo Maxidor en el citoplasma (D) de Desiree. Para describir esta situación de aloplasmia isogénica, usamos la notación (D) Rg Maxidor.

Aquí examinaremos sólo los resultados del programa OOVU (es decir la transferencia de varios núcleos de P. vulgaris en 17 citoplasmas de P. coccineus y 2 de P. polyanthus) el único que ha dado resultados útiles para la aplicación (Cuadro 1).

Los cruzamientos que usan P. vulgaris como progenitor femenino x P. coccineus son muy fáciles de llevar a cabo y no presentan problemas. En contraposición, el cruzamiento de P. coccineus como hembra x P. vulgaris macho se considera muy difícil, en verdad imposible con genotipos mejorados; ésto lo hemos confirmado. Para superar este obstáculo e iniciar la transferencia en los citoplasmas de P. coccineus, hemos empleado un genotipo auxiliar ZBD 1.3 que sirvió como puente. Este era un individuo F₄ derivado del cruzamiento complejo codificado ZBD.

ZBD (Wulma x Colorado) x (P. formosus) x P. coccineus, que mantenemos a través de estacas. Como progenitor masculino, se cruza tan bien con P. vulgaris como con P. coccineus. Existe también la ventaja de la presencia de marcadores dominantes de la plantita (antocianina) y de la flor (color púrpura) que se pueden usar como evidencia de los cruzamientos exitosos. Después de un cruzamiento con ZBD (y un segundo cruzamiento, si fuera

necesario) los retrocruzamientos sistemáticos con progenitores recurrentes pueden empezar.

Las modificaciones fenotípicas importantes observadas eran nocivas y específicas para ciertos citoplasmas: pérdida de vigor, senescencia rápida, variegación de hojas y vainas, pérdida de fertilidad.

El primer caso claro de esterilidad masculina apareció en 1980 con citoplasma de Morelos (Mo) y núcleo de Rugally; fue seguido por tres otros (Hq) (Sp) (Da).

2.2 Resultados

En el Cuadro 1, hemos resumido los últimos resultados:

- Los citoplasmas (Hq), (Mo), (Sp) y (Da) son inductores de ECM, los otros 15 no lo son.
- Rugally y E02 son mantenedores para estos 4 citoplasmas y también para (Ci). Contender y Maxidor son mantenedores muy pobres pero no son restauradores.
- La capacidad de mantenimiento de una serie de genotipos fue evaluada por retrocruzamiento con el primer citoplasma obtenido (Mo).

La mayoría de ellos parecía ser mantenedores pobres ya que dieron esterilidad masculina parcial cuando se convirtieron, caracterizada por una producción errática de vainas parcialmente autofecundadas. Relativamente pocos genotipos poseen una buena capacidad de mantenimiento (Cuadro 2). Pertenecen a diferentes tipos de frijol (arbustivo o voluble, seco o habichuela) con tendencia a ocurrir **más frecuentemente en la habichuela.**

Cuando se convierten en masculino estéril llevan sólo vainas partenocárpicas sin semillas como ya ha sido observado por Singh et al. (1980). Los granos de polen de estas plantas estériles masculinas permanecen asociados después de la meiosis; 90 a un 95% de las tetradas

poseen cuatro granos vacíos, el resto de ellos presentan ocasionalmente 1, rara vez 2, nunca 3 ó 4 granos manchados de polen (Fig. 1). Menos de un 5% de los granos de polen son dispersos, aunque ésto puede ser resultado del procedimiento de tinción (efecto "squash").

Los granos de polen que se pueden teñir, dispersos o asociados representan menos de 10% del polen total. En comparación, el control (el mantenedor mismo con su propio citoplasma) posee 95% a 99% granos de polen disociados que se pueden teñir.

Por lo tanto, necesitamos comprender por qué las denominadas plantas con esterilidad masculina que en efecto producen 5 a 10% granos manchados de polen no son auto fertilizadas. La razón para ésto parece ser la siguiente. Las anteras de estas plantas estériles están casi vacías tal que no pueden estallar. Los raros granos de polen funcional que se liberan se mezclan con los residuos formando un polvo pegajoso. Tienen poca oportunidad de fertilizar.

Hasta donde pudimos observar, la capacidad de mantenimiento (CM) que es eficiente con el citoplasma de Mo parece funcionar en el mismo grado con los 4 otros citoplasmas.

Parece que hay un rango continuo de CM: desde una CM muy buena con Gitana o Rugally hasta una CM muy pobre que produce plantas convertidas casi tan fértiles como los controles con S102 (genotipo de semilla negra brasileña), Maxidor (habichuela europea) o Red Kloud (frijol Light Red Kidney norteamericano). Cuando se cruza como hembra a Gitana, la versión convertida produce F_1 con esterilidad masculina! Esto señala que poseen un sistema de restauración recesivo.

Se realizó un estudio de ADN mitocondrial de las cinco fuentes de EMC. Los patrones electroforéticos obtenidos con la enzima Sal 1 fueron específicos para cada citoplasma; Hq, Mo y Sp difieren algo y se asemejan a

P. coccineus no inductor pero son xny diferentes de P. vulgaris. El citoplasma Da (P. polyanthus) es único, Ci es muy similar a P. vulgaris normal. Un fragmento de 8.4 Kb, presente en citoplasmas no-inductores está ausente en en Hq, Mo, Sp y Ci, pero presente en el patrón Da (Fig. 2).

3. Fertilización Cruzada de Plantas con Esterilidad Masculina

La producción de semillas híbridas en una hembra (planta con esterilidad masculina), implica que el polen producido por el progenitor masculino tiene que llevarse a los estigmas de la planta femenina con esterilidad masculina donde germinará y originará la formación de semillas fertilizadas por cruzamiento.

Esta tarea será llevada a cabo por las abejas y los abejorros que depredan las flores buscando néctar y a veces polen. Los abejorros que recogen néctar en Versailles a menudo perforan la base de la yema floral un día antes de la antesis, lo que es ineficaz para polinización. Observamos plantas con esterilidad masculina en la proximidad de plantas normales en el campo durante las dos estaciones anteriores. La fertilización cruzada se consideró pobre en 1987, pero buena en 1988 aunque menor que en el testigo. No comprendemos las razones para esta diferencia entre años.

En 1978, temiendo una polinización cruzada insuficiente de las plantas con esterilidad masculina, quizás debido a una falta de visitas de polinizadores, comenzamos a seleccionar por capacidad natural de cruzamiento.

Esta selección se basó en la utilización de un marcador que afecta la pigmentación y que es probablemente pleiotrópico; es visible en la semilla, en la plántula y en la flor. Los dos estados posibles de este marcador son los siguientes: recesivo (de semilla blanca, eje y cotiledones verdes, flores de blancas); dominante (semillas negras, eje y cotiledones púrpuras, flores púrpuras).

La selección se llevó a cabo en la población de KH indicada arriba. Esta población mostró rápidamente una tendencia a la alogamia; después de dos generaciones de reproducción natural en el campo, los caracteres vainas púrpuras y amarillas, semillas blancas y rojas estaban presentes en la población. Estos caracteres no estaban presentes en los progenitores de los cruzamientos originales y deben, en consecuencia, haber sido introducidos por cruzamientos naturales con plantas de parcelas vecinas.

Algunas de las plantas tenían flores blancas y dieron semilla blanca. Varias bandejas de progeie de semilla blanca se sembraron en el otoño en el invernadero en platos cuadrados. Se pueden sembrar 200 semillas en un plato de 36 x 36 cm. Entre los grupos de las progenies, la mayor parte de la cuál tenía eje y cotiledones verdes, aparecían plantas con eje y cotiledones violetas con una frecuencia variable: éstas sólo podían haber resultado de la hibridación natural con plantas que poseían los marcadores dominantes. Mientras más frecuentes son las plántulas antociánicas entre las progenies, más tendencia muestra el progenitor femenino a la alogamia. Entre las plantas que presentaban dichas plántulas con mucha frecuencia, varias plántulas híbridas fueron recuperadas, las cuales se cultivaron en el invernadero durante el invierno y se autofecundaron (Fig. 3).

Los marcadores segregaron en la progeie F_2 con razones observadas de 3: 1 ó, más frecuentemente, de 9: 7. Estas progenies se sembraron al año siguiente y aquellas que tenían flores blancas se cosecharon. Se seleccionaron las de semilla blanca y el ciclo comenzó nuevamente (Fig. 4). Una variación más costosa de este método consiste en fijar el carácter de semilla blanca cultivando plantas F_2 con eje verde y flores blancas. Este procedimiento requiere una segunda generación en un invernadero a prueba de insectos.

Mientras la tasa promedio de hibridación natural de P. vulgaris varía en Versailles entre 2 y un 3%, se obtuvieron líneas con 20 a 30% de híbridos naturales después de un solo ciclo de selección (Fig. 2). Esperamos

aumentar esta tasa aún más.

Esta tendencia a la alogamia debe permitir una mejor fertilización de las plantas con esterilidad masculina que de otro modo no producen suficientes semillas. La frecuencia de hibridación indicada arriba es probablemente una subestimación, ya que los polinizadores parecen elegir un color de flor y polinizar otros accidentalmente.

Desgraciadamente, después de probar el citoplasma Mo por retrocruzamiento, las mejores líneas para alogamia mostraron una pobre capacidad de mantenimiento. Sólo la línea Al 24 K es un buen mantenedor pero sólo produce 7% de cruzamientos naturales. Ahora debemos observar líneas con EMC con plantas vecinas masculinas fértiles en diferentes localidades durante varios años para controlar el rendimiento de semillas híbridas.

4. Restauración de la Fertilidad de Polen

Es probablemente una precaución sabia restaurar la producción de polen en las plantas F_1 en una especie autógena ya que el cruzamiento probablemente sería insuficiente. Por lo tanto, cuando hallamos buena EMC, buscamos de inmediato la capacidad de restauración dominante (CRD). El cruzamiento de prueba para CRD es muy simple; los candidatos restauradores se cruzan con uno o preferentemente dos buenos genotipos con esterilidad masculina diferentes. Así hallamos sólo 3 genotipos de P. vulgaris con suficiente CRD entre unos cincuenta candidatos probados: Borlotto gigante (Borgi), Bo 025 y FH 257.

En efecto, como ya ha observado Sally Mackenzie en el citoplasma de Ci la restauración no es completa. Sólo 30 a 70% del polen se puede teñir y los granos todavía son predominantemente coalescentes.

Este año, por primera vez, se observaron F_1 restaurados entre

diferentes EMC (cinco núcleos diferentes en el mismo (Mo) citoplasma), y los restauradores indicados arriba en el invernadero y en el campo. En el campo, la tasa de fertilización parece ser mejor que en el invernadero, quizás por la actividad de los insectos o el efecto del viento.

Los resultados de las pruebas de invernadero son promisorios; si expresamos la calidad de la restauración por la razón del número medio de semillas/vaina de los F_1 divididos por el número de semillas de un progenitor teórico medio: ((mantenedor + restaurador) x 0.5), hallamos para esta razón 0.74 para Borgi, 0.84 para Bo 25 y 0.86 para FH 257. El control ideal sería el mismo híbrido, obtenido mediante cruzamiento manual. También buscamos restaurar las especies que habían dado el citoplasma inductor: el mismo *P. coccineus* y genotipos de VUCD, especialmente en las poblaciones de KH indicadas anteriormente.

Esta vez, hemos hallado varios genotipos que producen F_1 con buena EMC, 80% de polen manchado, principalmente disperso.

Estamos actualmente transfiriendo estos genes dominantes por retrocruzamiento del F^{\wedge} restaurado con un buen genotipo con esterilidad masculina. La progenie obtenida del RC segrega, generalmente 1 mf: 1 ms (un gen dominante) o 1 mf: 3 ms (dos genes dominantes).

Para la habichuela parece ser necesario un nivel de restauración muy bueno porque una fertilización incompleta disminuye la calidad de la vaina verde. Para el frijol seco, esperamos que haya un efecto de compensación por el insuficiente número de semillas en las vainas, mediante un aumento en el número de vainas.

Conclusión

La magnitud de heterosis hallada en frijol común es mayor que la observada en general en plantas autógamas; la calidad de EMC es

satisfactoria con mantenedores ya clasificados como buenos; la polinización cruzada tiene que evaluarse con más precisión. El nivel de restauración actualmente obtenido se debe también probar en condiciones prácticas. Proponemos comenzar ahora mismo un programa de selección recurrente recíproca con una atención especial al problema del costo de la semilla híbrida.

La primera población, fuente de los progenitores femeninos futuros podría estar orientada hacia un tipo de planta que produzca un gran número de semillas. Esto significa un tamaño de semilla pequeño y un alto número de vainas (es decir tipos II, III o IV). Otros caracteres necesarios son la capacidad de mantenimiento y cruzamiento.

La población complementaria, fuente de los progenitores masculinos futuros debe corregir o compensar todos los "defectos" introducidos en el primer grupo: el tamaño de semilla grande corregirá el tamaño pequeño, la capacidad dominante de restauración superará la esterilidad masculina y la alta habilidad combinatoria mejorará el rendimiento.

Bibliografía

- Adams, M.V. 1967. Basis of yield component compensation in crop plants with special reference for the field beans, Phaseolus vulgaris. Crop Science 7:505-510.
- Adams, M.V. and R. Doarte. 1961. The nature of heterosis for a complex trait in a field bean cross. Crop Science 1:380.
- Albuquerque, M. and C. De Vieira. 1974. Manifestation of heterosis in Phaseolus vulgaris L. beans. Revista Ceres 21(114):148-166.
- Bannerot, H., J.M. Bell, B. Bosc and R. Camut. 1987. Un gene dominant de stérilité male chez le haricot. Agronomie 7(8):563-566.
- Bannerot, H. 1983a. Creation of allogamous vulgaris x coccineus populations in order to breed new types of beans. Eucarpia Meeting on Phaseolus Bean Breeding, Hamburg, 19-21 july.

- Bannerot, H. 1983b. Transfer of Phaseolus vulgaris nuclei into Phaseolus coccineus cytoplasms and reciprocally. First results. Eucarpia Meeting on Phaseolus Bean Breeding, Hamburg, 19-21 july.
- Bannerot, H. and L. Charbonnier. 1987. Induction de stérilités cytoplasmiques par alloplasmie dans le genre Phaseolus : étude génétique et moléculaire. In: Variabilité génétique cytoplasmique et stérilité male cytoplasmique. Colloque de l'INRA, n 45, Sainte-Sabine (France), 22-23 avril 1987.
- Basset, M.J. and D.M. Shuh. 1982. Cytoplasmic male sterility in common bean. J. Amer. Soc. Hortic. Sci., 107(5):791-793.
- Bell, J.M. 1986. Etude génétique, cytologique et physiologique de différentes stérilités males géniques et cytoplasmique chez Phaseolus vulgaris L. These Univers. Paris 11, n d'ordre 111.177 p.
- Chung, J.H. and D.S. Goulden. 1971. Yield components of haricot beans (Phaseolus vulgaris L.) grown at different plant densities. New Zealand J. Agrie. Res. 14:227-234.
- Chung, J.H. and E. Stevenson. 1973. Diallel analysis of the genetic variation in same quantitative traits in dry beans. New Zealand J. Agr. Res. 16(2):223-231.
- Coyne, D.P. 1965. Component interaction in relation to heterosis for plant height in Phaseolus vulgaris L. variety crosses. Crop Science 5:17-18.
- Coyne, D.P. 1968. Correlation, heritability and selection of yield components in field beans (Phaseolus vulgaris L.). Proc. Am. Soc. Hortic. Sci. 93:388-396.
- Evans, A. 1970. Heterosis for yield in Phaseolus vulgaris crosses. Annual report of the Bean Improvement Cooperative 13:52-54.
- Foolad, M.R. and A. Bassiri. 1983. Estimates of combining ability, reciprocal effects and heterosis for yield and yield components in a common bean diallel cross. J. Agrie. Sci. 100(1):103-108.

- Ghaderi, A., N.W. Adams and A.M. Nassib. 1984. Relationship between genetic distance and heterosis for yield and morphological traits in dry edible bean and faba beans (Phaseolus vulgaris. Vicia faba). Crop. Science 24(1):37-42.
- Gutiérrez, J.A. and S.P. Singh. 1985. Heterosis and inbreeding depression in dry bush beans, Phaseolus vulgaris. Can. J. Plant Sci. 65(2) :p.243.
- Haq, M.N., G.R. Lañe and J. Smartt. 1980. The cytogenetics of Phaseolus vulgaris L., Phaseolus coccineus L., their interspecific hybrids, derived amphidiploid and backcross progeny in relation to their potential exploitation breeding. Cytologia 45:791-798.
- Laing, D.R., P.G. Jones and J.H.C. Davis. 1984. Common beans (Phaseolus vulgaris L.). In: Goldaworthy, P.R. and Fisher, N. (Ed.). The Physiology of tropical field crop. John Wiley and Sons, New York, 305-352.
- Lefort-Buson, M. 1985. Distance génétique et hétérosis. 1. Mise en évidence d'une relation entre heterosis et divergence génétique. In: Lefort-Buson, M. and De Vienne, D. (Eds). Les distances génétiques, estimations et applications, INRA, 111-118.
- Lestienne, F. 1986. Etude de l'hétérosis pour le rendement chez le haricot grain. Mémoire de fin d'études, ENSH, Versailles, 46p.
- Mackenzie, S.A. M.J. and Bassett. 1987. Genetics of fertility restoration in cytoplasmic male sterile Phaseolus vulgaris L. 1. Cytoplasmic alteration by a nuclear restorer gene. Theor. Appl. Genet. 74:642-645.
- Mackenzie, S.A., D.R. Pring, M.J. Bassett and C.D. Chase. 1988. Mitochondrial OLA rearrangement associated with fertility restoration and cytoplasmic reversion to fertility in cytoplasmic male sterile Phaseolus vulgaris L. Proc. Nati. Acad. Sci. 85:2714-2717.
- Mackenzie, S.A., D.R. Pring and M.J. Bassett. Large double-stranded RNA molecules in Phaseolus vulgaris L. are not associated with cytoplasmic male sterility. Theor. Appl. Genet. 76:59-63.**
- Malinowski, E. 1932. Phénomènes de l'accroissement de vigueur chez les hybrides de Phaseolus vulgaris L. Compte rendus de la Société de Biologie de Paris. 111:1035-1036.

- Bannerot, H. 1983b. Transfer of Phaseolus vulgaris nuclei into Phaseolus
cx>ccineus cytoplasm and reciprocally. First results. Eucarpia
Meeting on Phaseolus Bean Breeding, Hamburg, 19-21 July.
- Bannerot, H. and L. Charbonnier. 1987. Induction de stérilités
cytoplasmiques par alloplasmie dans le genre Phaseolus : étude
génétique et moléculaire. In: Variabilité génétique cytoplasmique et
stérilité male cytoplasmique. Colloque de l'INRA, n 45, Sainte-Sabine
(France), 22-23 avril 1987.
- Basset, M.J. and D.M. Shuh. 1982. Cytoplasmic male sterility in common
bean. J. Amer. Soc. Hortic. Sci., 107(5):791-793.
- Bell, J.M. 1986. Etude génétique, cytologique et physiologique de
différentes stérilités males géniques et cytoplasmique chez Phaseolus
vulgaris L. These Univers. Paris 11, n d'ordre 111.177 p.
- Chung, J.H. and D.S. Goulden. 1971. Yield components of haricot beans
(Phaseolus vulgaris L.) grown at different plant densities. New
Zealand J. Agric. Res. 14:227-234.
- Chung, J.H. and E. Stevenson. 1973. Diallel analysis of the genetic
variation in same quantitative traits in dry beans. New Zealand J.
Agr. Res. 16(2):223-231.
- Coyne, D.P. 1965. Component interaction in relation to heterosis for
plant height in Phaseolus vulgaris L. variety crosses. Crop Science
5:17-18.
- Coyne, D.P. 1968. Correlation, heritability and selection of yield
components in field beans (Phaseolus vulgaris L.). Proc. Am. Soc.
Hortic. Sci. 93:388-396.
- Evans, A. 1970. Heterosis for yield in Phaseolus vulgaris crosses.
Annual report of the Bean Improvement Cooperative 13:52-54.
- Foolad, M.R. and A. Bassiri. 1983. Estimates of combining ability,
reciprocal effects and heterosis for yield and yield components in a
common bean diallel cross. J. Agric. Sci. 100(1):103-108.

- Ghaderi, A., N.W. Adams and A.M. Nassib. 1984. Relationship between genetic distance and heterosis for yield and morphological traits in dry edible bean and faba beans (Phaseolus vulgaris, Vicia faba). *Crop. Science* 24(1):37-42.
- Gutiérrez, J.A. and S.P. Singh. 1985. Heterosis and inbreeding depression in dry bush beans, Phaseolus vulgaris. *Can. J. Plant Sci.* 65(2) :p.243.
- Haq, M.N., G.R. Lañe and J. Smartt. 1980. The cytogenetics of Phaseolus vulgaris L., Phaseolus coccineus L., their interspecific hybrids, derived amphidiploid and backcross progeny in relation to their potential exploitation breeding. *Cytologia* 45:791-798.
- Laing, D.R., P.G. Jones and J.H.C. Davis. 1984. Common beans (Phaseolus vulgaris L.). In: Goldaworthy, P.R. and Fisher, N. (Ed.). *The Physiology of tropical field crop*. John Wiley and Sons, New York, 305-352.
- Lefort-Buson, M. 1985. Distance génétique et hétérosis. 1. Mise en évidence d'une relation entre heterosis et divergence génétique. In: Lefort-Buson, M. and De Vienne, D. (Eds) . *Les distances génétiques, estimations et applications*, INRA, 111-118.
- Lestienne, F. 1986. Etude de l'hétérosis pour le rendement chez le haricot grain. Mémoire de fin d'études, ENSH, Versailles, 46p.
- Mackenzie, S.A. M.J. and Bassett. 1987. Genetics of fertility restoration in cytoplasmic male sterile Phaseolus vulgaris L. 1. Cytoplasmic alteration by a nuclear restorer gene. *Theor. Appl. Genet.* 74:642-645.
- Mackenzie, S.A., D.R. Pring, M.J. Bassett and C.D. Chase. 1988. Mitochondrial DNA rearrangement associated with fertility restoration and cytoplasmic reversion to fertility in cytoplasmic male sterile Phaseolus vulgaris L. *Proc. Nati. Acad. Sci.* 85:2714-2717.
- Mackenzie, S.A., D.R. Pring and M.J. Bassett. Large double-stranded RNA molecules in Phaseolus vulgaris L. are not associated with cytoplasmic male sterility. *Theor. Appl. Genet.* 76:59-63.**
- Malinowski, E. 1932. Phénomènes de l'accroissement de vigueur chez les hybrides de Phaseolus vulgaris L. *Compte rendus de la Société de Biologie de Paris.* 111:1035-1036.

- Nienhuis, J. and S.P. Singh. 1984. Diallel analysis of yield component and architectural traits in dry bush beans Phaseolus vulgaris. Hortscience 19(3) sect. 2:p.599 (abstract).
- Nienhuis, J. and S.P. Singh. 1985. Effects of location and plant density on yield and architectural traits in dry beans. Crop Sci. 25(4):579-584.
- Nienhuis, J. and S.P. Singh. 1986. Combining ability analysis and relationships among yield, yield component and architectural traits in dry beans. Crop Sci. 26:21-27.
- Sarrafi, A., M.C. Amirshahi and K. Seadati. 1973. Heterosis and heritability for yield component in reciprocal F1 and F2 hybrids of two american and iranian bean varieties Phaseolus vulgaris. Agronomy, abstract p.13.
- Sarrafi, A., B. Yazdi-Samadi and A.A. Zali. 1976. Heterosis and heritability for yield and yield component in F1 and F2 generation of a bean cross. Iranian J. Agric. Res. 4(1):3-6.
- Singh, S.P., J.W. White and J.A. Gutiérrez. 1980. Male sterility in dry beans. Ann. Rep. Bean Improv. Coop. 23:55-57.
- Singh, S.P. 1982. A key for identification of different growth habits of Phaseolus vulgaris L. Ann. Rep. Bean Improv. Coop. 25:92-94.
- Singh, S.P. and S.S. Saini. 1983. Heterosis and combining ability studies in french bean. Sabrao J. 15(1):17-22.
- Srivastava, H.K. 1980. Heterosis for chiasma frequency and quantitative traits in common beans (Phaseolus vulgaris L.). Theor. Appl. Genet. 56(1/2):25-29.
- Tonguthaisri, T. 1977. Genetic analysis of morphological characteristics of yield beans (Phaseolus vulgaris L.) as expressed in a diallel cross. Dissertation Abstract International B. 37(12):5902B-5903B.
- Voysest, O. 1972. The effect of heterosis on yield and its primary component in french bean, Phaseolus vulgaris L. Investigaciones Agropecuarias, 3(1):10-16.

Cuadro 1. Transferencia de diferentes núcleos de *P. vulgaris nucleii* en diferentes citoplasmas de *P. coccineus* o *P. polvanthus*

Código	Donante de citoplasma	Número de retrocruces en				EO ₂	Modificaciones observadas
		Contender	Maxidor	Rugally			
D	Désirée	10	9	-	2	Severamente deprimido, variegación	
P	Petaco	11	12	-	2	Variegación	
T	Tres cumbres (<i>P. purpurascens</i>)	14	11	-	2	Pérdida de fertilidad, apergaminado?	
Mo	Morelos 662	15	13	21	28	Esterilidad masculina	
X	Mexique F	12	10	-	2	Normal?	
Q	N1 407 (<i>P. obvallatus</i>)	4	"	"	"	Gran debilitamiento, casi letal	
C	CL 4x	10	11	"	3	Normal? pérdida de fertilidad	
H	HB 18	9	7	*	"	Deprimido, variegación	
L	LTE 8	13	-	-	-	Variegación	
58	DGD 58	5	1	-	3	Normal?	
67	NC 67 (<i>P. formosus</i>)	5	~	*	"	Pérdida de fertilidad, apergaminado? como T	
125	DGD 125	9	-	-	-	Normal?	
141	DGD 141	12	-	-	-	Normal?	
726	N1 726=DGD361	7	-	•	2	Severamente deprimido, pérdida de fertilidad	
Sp	N1 756=Patzum	16	8	7	17	Esterilidad masculina	
886	N1 886	9	-	-	2	Normal?	
Hq	NI 889	14	10	9	7	Esterilidad masculina	
757	N1 757 (<i>P. polvanthus</i>)	3	"	~	3	Normal?	
Da	N1 758 (<i>P. polvanthus</i>)	5	3	3	3	Esterilidad masculina	

Cuadro 2. Niveles de capacidad de mantenimiento (CM) hallados en *P. vulgaris* con el diferente citoplasma inductor de EMC (1)

	CI	Da	Hq	Mo	Sp
<u>Buena CM</u>					
Gitana (arbusto, habichuela)	5(D)	5	5	5	5
Rugally (arbusto, habichuela)	4	4	4	4	4
Prélude (arbusto, habichuela)	4	4	4	4	4
Sprite (arbusto, habichuela)	-	-	5	5	5
Triumph (arbusto, habichuela)	4	-	5	5	5
EO ₂ (arbustivo, seco)	4	4	4	4	4
EH200 (arbustivo, seco)	-	-	4	4	4
GM10 (pole, habichuela)	-	-	-	5	-
VX193 (pole, habichuela)	-	-	-	4	-
Copau (pole, seco)	-	-	-	4	-
Al 24K (pole, seco)	-	-	-	5	-
<i>P. mexicanus</i> v progenies	-	-	-	4	-
<u>CM Intermedia</u>					
Mayoría de genotipos examinados quedan aquí (Carioca, navy, Great Northern)	-	-	-	2-3	-
<u>CM Pobre</u>					
Contender	2	2	2	2	3
Maxidor	1	1	1	1	2-3
Red Kloud	2	2	2	2	3
S 102	1	1	1	1	2

(1) Puntaje basado en fertilidad de la vaina
 0 = fertilidad del control = no esterilidad
 5 = completa esterilidad de versión convertida

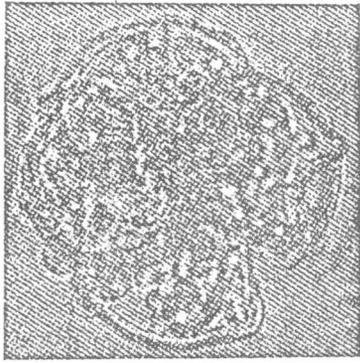
Figuras

Fig. 1. Tetradas de 1, 2, 3, o 4 granos teñidos de polen.

Fig. 2. Comparación de patrones de mt ADN (enzima Sal I).

Fig. 3. Alogamia porcentual en KH en 1983 (200 plantas).

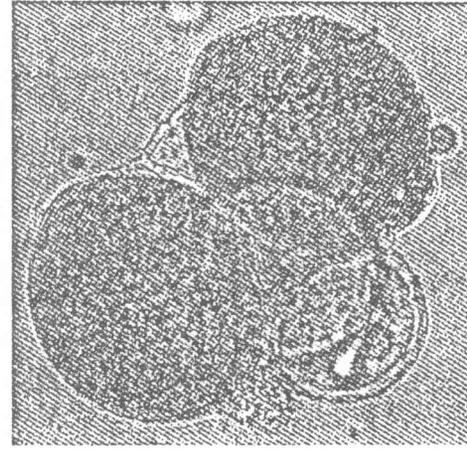
Fig. 4. Selección por mayor alogamia.



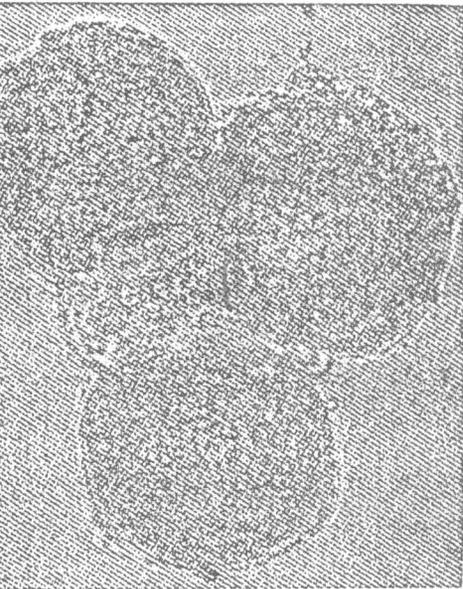
(OC)



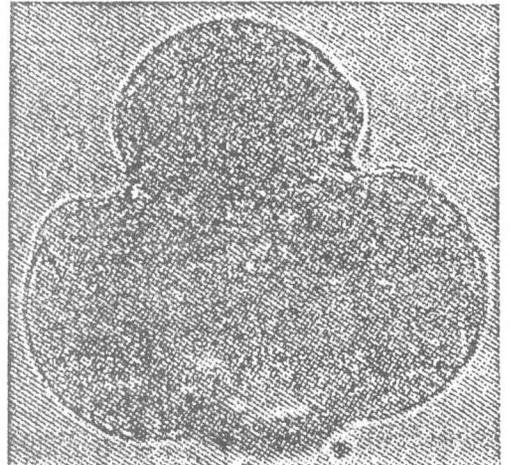
(AC)



(2C)

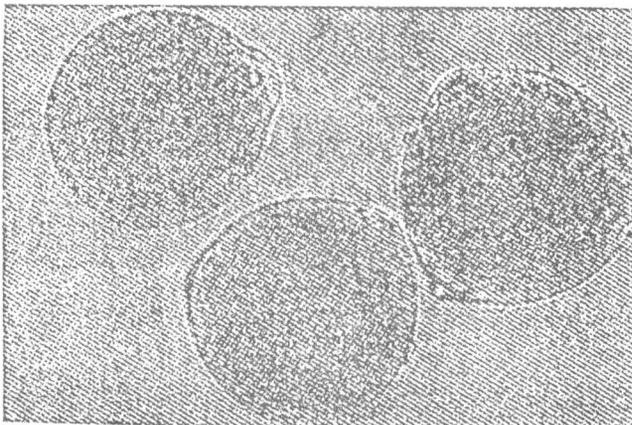


(3C)



(4C)

Control normal: granos de polen teñidos dispersos



planta mf (antesis)

Figura 1. Tetradas de 1, 2, 3 o 4 granos teñidos de polen.

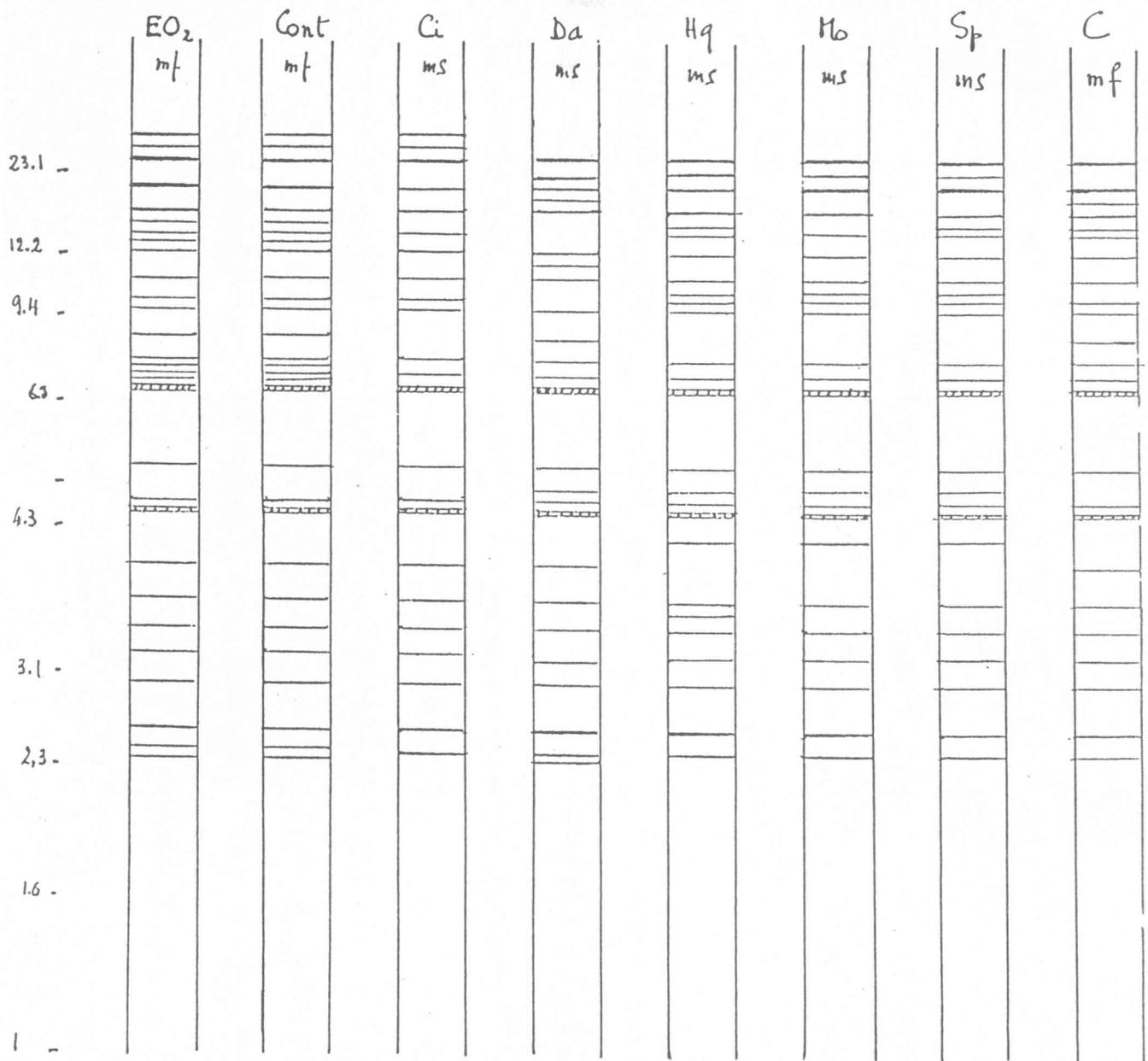
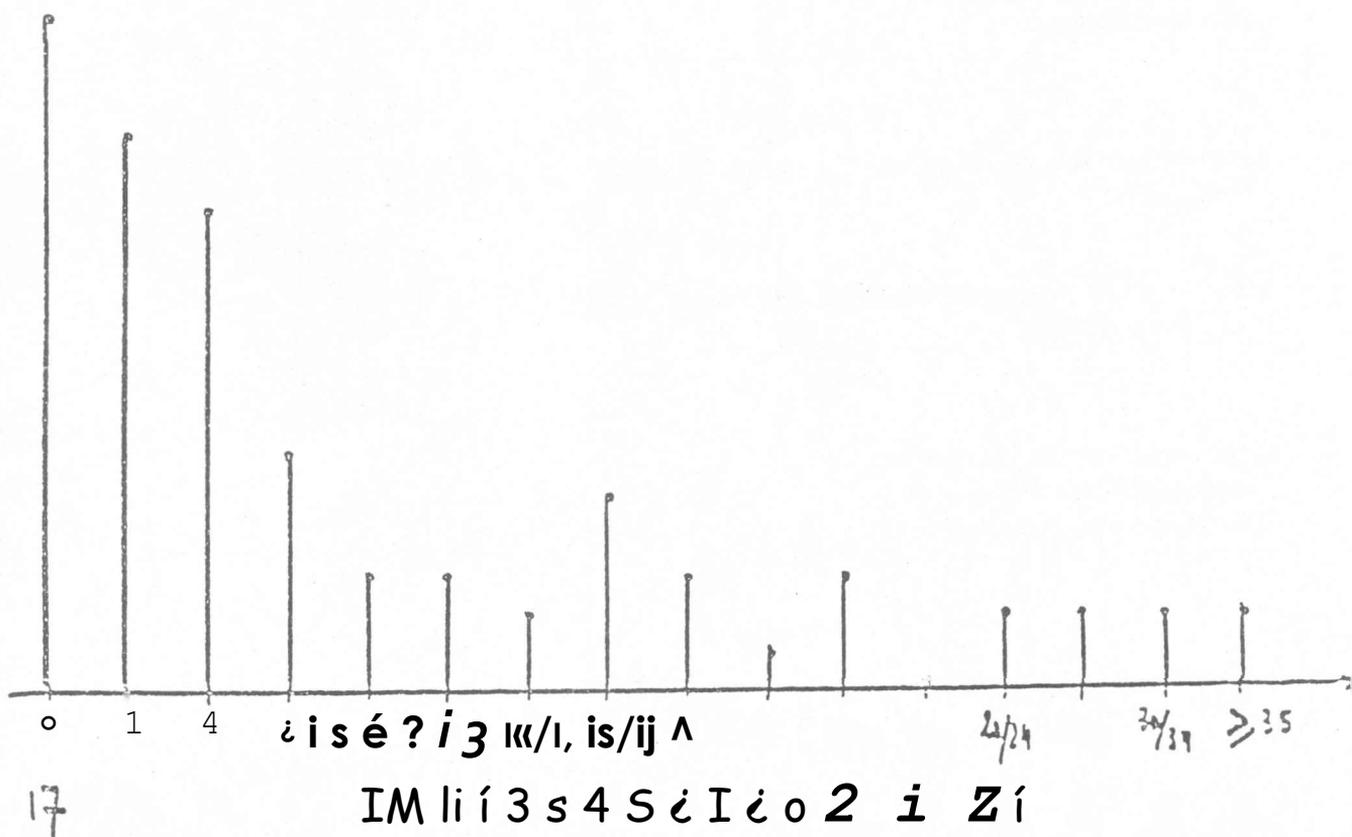


Figura 2. Comparación de patrones de mt ADN (enzima Sal I).

Figura 3. Alogamia porcentual en KH en 1983 (200 plantas).



77 progenies presentaron granos blancos

Figura 4. Selección por mayor alogamia.

