

INCREMENTO DEL CONTENIDO DE PROTEINA EN
EL FRIJOL COMUN (*Phaseolus vulgaris* L.) MEDIANTE
IRRADIACION DE LA SEMILLA CON COBALTO-60*

Ing. Agr. Raúl Morales Silva**

Trabajo realizado por el Instituto de Investigaciones Agronómicas de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos, en cooperación con la Dirección General de Energía Nuclear del Ministerio de Energía y Minas de Guatemala y con apoyo económico de la Agencia Internacional de Energía Atómica.

RESUMEN:

Semilla con 12o/o de humedad de cuatro variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), Suchitán, Cuarenteño, Jutiapán y San Martín, fue expuesta a diferentes dosis de radiación gama de Cobalto-60. Las M₁ (semilla irradiada) fueron sembradas en 1982 usando diseños de bloques al azar con 4 repeticiones para Suchitán y Cuarenteño, y con 5 para Jutiapán y San Martín. Se analizó el efecto de la radiación en las generaciones M₁, M₂ y M₃. Se generaron mutaciones en varias características, tales como días a floración, hábito de crecimiento, color de la vaina, textura y tamaño de la hoja y contenido clorofílico. Se determinó que las dosis con la producción más alta de mutaciones fueron aquellas entre 15 y 20 krad.

* Este Informe está basado en los trabajos de investigación realizado por los estudiantes Samuel Salazar y Eduardo Pretzanzin.

** Profesor - Investigador de la Facultad de Agronomía de la USAC.

En la M₂ de Suchitán y Cuarenteño, y en la M₃ de Jutiapán, se hizo un análisis del contenido total de proteína en la semilla usando para ello la técnica del micro-kjeldahl. Se encontró que el efecto de las dosis de irradiación, especialmente aquellas entre 15 y 20 krad, fue ampliar el rango de porcentajes de contenido proteínico de la semilla hacia valores menores y mayores que el testigo. La mayor amplitud de los rangos de algunos materiales irradiados, permitió seleccionar aquellas familias que como mínimo tuvieron un 260/o de proteína. Se espera en el futuro obtener líneas en un buen rendimiento y un mayor contenido proteínico en la semilla.

INTRODUCCION

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), es una leguminosa de gran consumo en Guatemala. A semejanza del maíz es un cultivo que se siembra en todas las regiones del país. El frijol común constituye la principal fuente de proteínas para la población guatemalteca. A nivel nacional el principal problema con este cultivo es su bajo rendimiento. Masaya (1981), reporta que en el período de 1976 a 1981 el promedio nacional fue de sólo 0.6 T/Ha (3). Otro problema es su bajo contenido de aminoácidos esenciales para la dieta humana, especialmente de metionina y cisteína. Por ello es necesario realizar investigaciones que permitan incrementar el rendimiento y la calidad proteínica en este cultivo. La solución a uno de estos problemas podría ser tratar de incrementar el contenido de proteína en la semilla, de tal forma que aunque un individuo ingiera la misma cantidad de frijol, disponga de una mayor cantidad de proteína, y por lo tanto, de los aminoácidos esenciales mencionados. Shaikh (1982), en Bangladesh, usando mutaciones inducidas con radiación gama de Co-60, ha obtenido resultados bastante promisorios en este campo. El, trabajando con garbanzo (*Cicer arietinum* L.), ha logrado incrementar el rendimiento proteínico de este cultivo en un 450/o por unidad de área (6). Resultados prometedores sobre este tópico han sido también reportados por otros investigadores (1, 2, 8).

En 1982, la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos y la Dirección General de Energía Nuclear del Ministerio de Energía y Minas unieron esfuerzos, y una investigación con el apoyo económico de la Agencia Internacional de Energía Atómica fue iniciada con el propósito de mejorar la calidad proteínica del frijol común. El principal objetivo de este estudio era incrementar, primeramente, el contenido de metionina y cisteína en la proteína del grano de frijol, y además la digestibilidad de la proteína total. Sin embargo, la carencia de equipo adecuado hizo que este objetivo fuese

cambiado. Por ello, en 1983 y 1984, el contenido de proteína total del grano fue determinado en la M₂ y M₃ del material irradiado usando para ello la técnica del micro-kjeldahl. Estos análisis se realizaron en los laboratorios de Química de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos. La irradiación de la semilla se hizo en las instalaciones de la Dirección General de Energía Nuclear. Algunos datos de campo y resultados de estos análisis, así como su discusión son dados en este reporte. También se dan algunas conclusiones y recomendaciones.

MATERIALES Y METODOS

Semilla al 120/o de humedad de 4 variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) fue irradiada con diferentes dosis de radiación gama de Cobalto-60. Dos de estas variedades, la Suchitán y la Jutiapán, son mejoradas y dos, la San Martín y la Cuarenteño, son nativas. Suchitán y Cuarenteño fueron cada una irradiada con 10 diferentes dosis: 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 y 27 krad. Cada lote de semillas a irradiar consistió de 960 semillas, es decir que en total se irradiaron 9,600 semillas de cada una de estas dos variedades, las que se sembraron en los campos de la Universidad en Agosto de 1982. En cuanto a Jutiapán y San Martín, 5 lotes de 120 semillas de cada variedad fueron irradiadas con 5 diferentes dosis: 0, 8, 15, 20 y 30 krad, es decir, 600 semillas/variedad, y sembradas en otra localidad de la misma región, propiedad de la Dirección General de Energía Nuclear, en Mayo de 1982. Ambos grupos fueron sembrados usando diseños de bloques al azar. Para el primer grupo (Suchitán y Cuarenteño) se usaron 4 repeticiones y para el segundo (Jutiapán y San Martín) se usaron 5.

En el primer grupo, al momento de la cosecha de la M₁, se escogieron las 10 mejores plantas de cada repetición. Esta semilla M₂ fue sembrada en planta/surco en Marzo de 1983. Por lo tanto, se generaron 400 familias M₂/variedad, cada una con alrededor de 12 plantas, lo que hizo un total aproximadamente de 4,800 plantas M₂/variedad. Al momento de la cosecha, cada familia M₂ fue separadamente cosechada en masa. En el segundo grupo, cada lote de plantas M₁ fue separadamente cosechado en masa de acuerdo a las diferentes dosis de irradiación, y la semilla M₂ sembrada en Enero de 1983. Aquí se produjeron aproximadamente 3,000 plantas M₂/variedad.

En la M₁ de ambos grupos se estudiaron los siguientes caracteres: porcentaje de germinación, porcentaje de emergencia en el campo, sobrevivencia, altura de planta, textura y tamaño de la hoja, deficiencias clorofílicas,

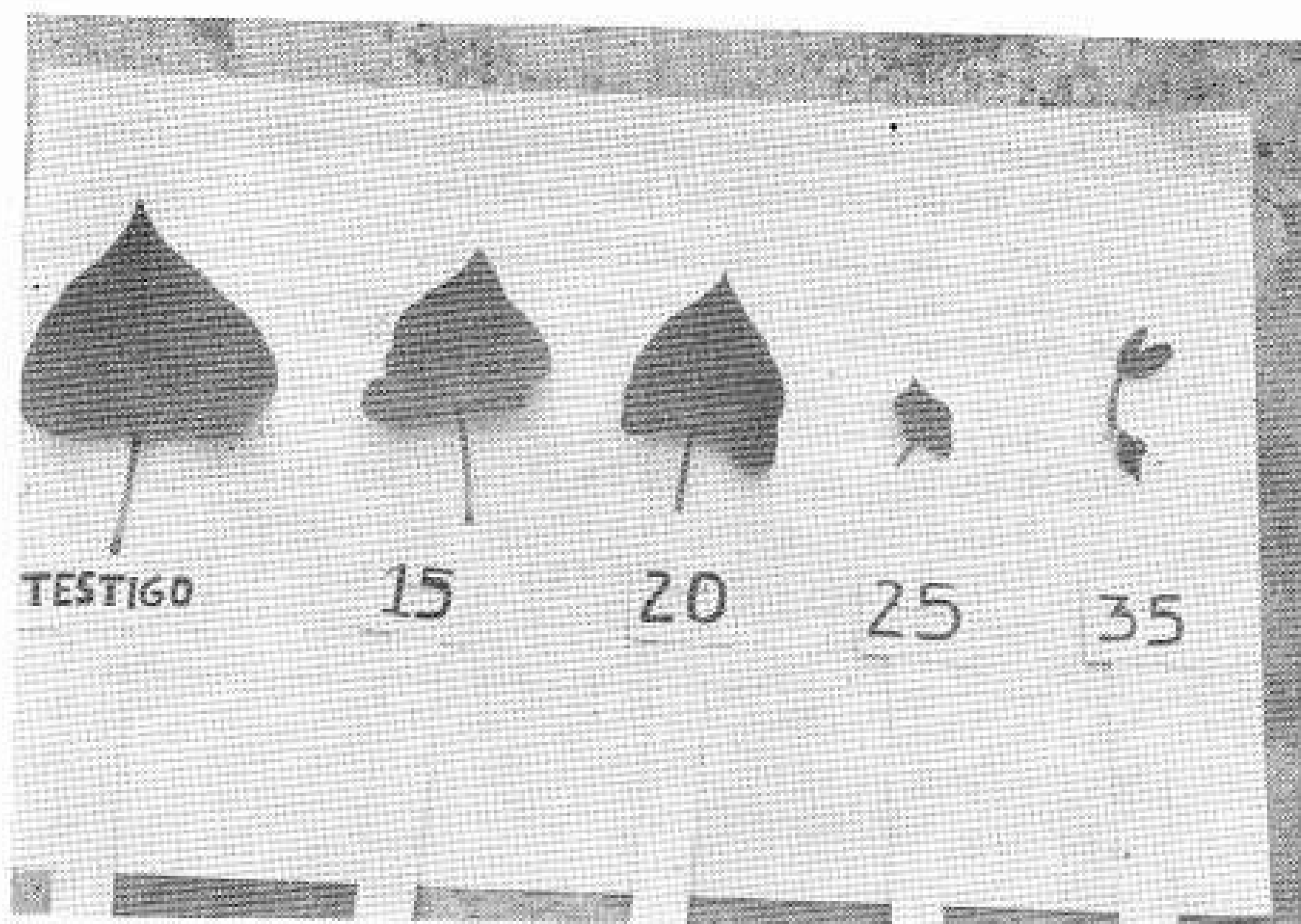
color de la flor, color de la semilla, color de la vaina, días a floración, porcentaje de floración, días a madurez fisiológica, peso de 100 semillas, tipo de crecimiento, número de vainas/planta, número de semillas/vaina y número de semillas/planta.

A causa de que algunas familias M₂ del primer grupo no produjeron suficiente semilla, sólo 233 de Suchitán y 140 de Cuarenteño fueron analizadas en su contenido de proteína total. En cuanto al segundo grupo, se seleccionaron plantas de acuerdo a algunas características, tales como precocidad, tipo de crecimiento, deficiencias clorofílicas, color de la vaina y textura y tamaño de la hoja; sus semillas M₃ fueron sembradas en planta/surco. De éstas, sólo 197 familias M₃ de Jutiapán y 25 de San Martín pudieron recuperarse y ser analizadas para contenido de proteína total. Por ello en este informe sólo se presentan datos del análisis proteínico de las variedades Suchitán, Cuarenteño y Jutiapán.

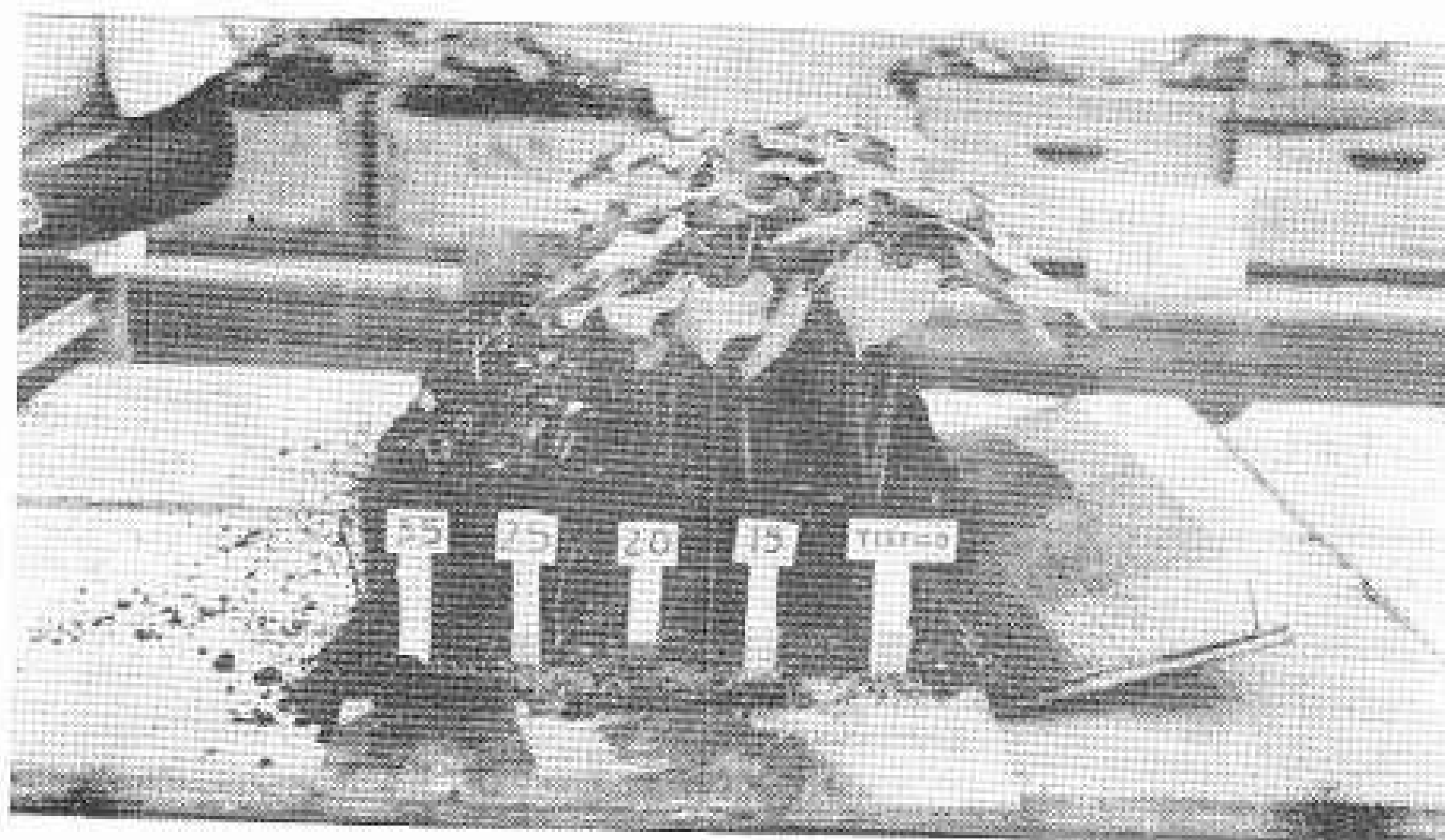
RESULTADOS Y DISCUSION

Las generaciones M₁ fueron sembradas en bloques al azar con la finalidad de poder hacer el análisis de varianza entre dosis de irradiación para cada una de las características estudiadas. De éstas, sólo el porcentaje de emergencia en el campo, altura de planta, deficiencia clorofílica, textura y tamaño de hoja, número de semillas/vaina, número de semillas/planta, porcentaje de floración, días a floración y días a madurez fisiológica mostraron diferencias significativas. De acuerdo a la prueba de Tukey, las medias en algunas dosis de irradiación mostraron diferencias significativas al ser comparadas con otras. Especialmente las dosis de 15 a 20 krad tuvieron valores medios que fueron significativamente diferentes a dosis más bajas o más altas. Parece que el efecto de la radiación en dicho rango fue el mismo para algunos caracteres (ver cuadro 1).

En la generación M₂ la frecuencia de los diferentes tipos de mutaciones como precocidad, deficiencia clorofílica, textura y tamaño de hoja y color de vaina fue estudiada. Es importante observar que la mayor frecuencia de las mutaciones ocurrió entre las dosis de 15 y 20 krad (ver cuadro 2).



Efecto de la aplicación de diferentes dosis de radiación en el desarrollo de la lámina foliar en *Phaseolus vulgaris*.



Efecto de la aplicación de diferentes dosis de radiación en *Phaseolus vulgaris*.

CUADRO 1 Prueba de Tukey sobre medias de dosis de irradiación. Generación M₁ de la variedad San Martín. (Salazar, 1984).

Dosis (krad)	o/o de Emergencia	Altura de Planta	No. de Semillas/Planta
0	9.7 a	23.9 a	29.8
8	10.0 a	28.0 a	31.5 a
15	9.3 a b	23.6 a b	30.5 a
20	8.5 b	19.6 a b c	27.0 a b
30	6.8 c	16.0 c	19.9 b

CUADRO 2 Número y tipo de mutaciones seleccionadas en la generación M₂ del material irradiado de la variedad Jutiapán. (Salazar, 1984).

Tipo de Mutación	Dosis de Irradiación (krad)				
	0	8	15	20	30
Precocidad	0	26	41	65	0
Deficiencia clorofílica	0	2	4	4	0
Textura y tamaño de la hoja	0	0	2	2	0
Color de la vaina	0	0	0	8	3
TOTAL	0	28	47	79	3

CUADRO 3 Valores de F de comparaciones hechas entre varianzas de diferentes dosis de irradiación.

M₂ de Suchitán

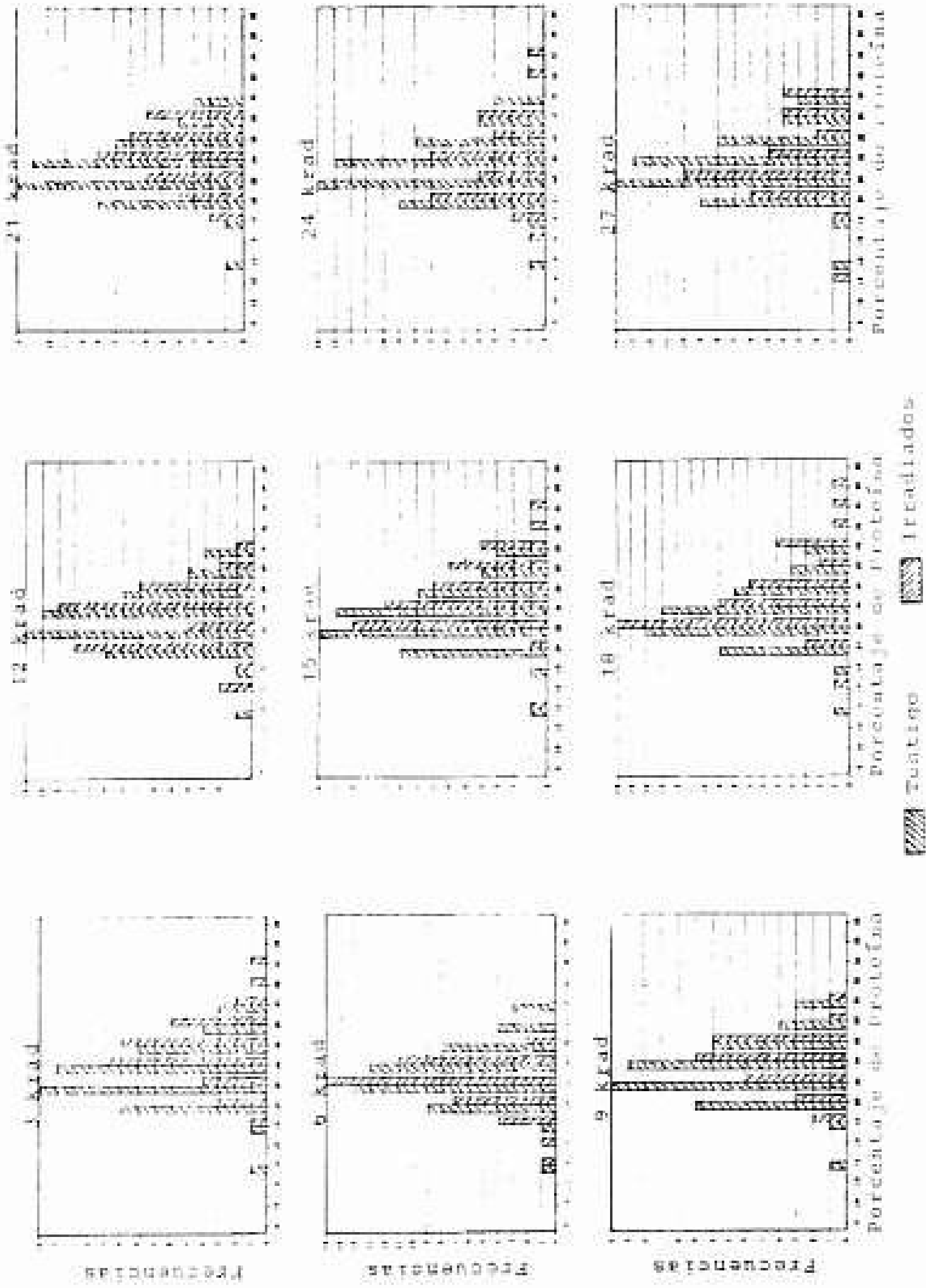
	3	6	9	12	15	18	21	24	27
0	0.40	0.60	0.70	1.12	1.12	1.83	1.06	2.81*	1.70
3		1.75	1.76	3.04**	2.80*	4.59**	2.65*	7.07**	4.27**
6			1.01	1.74	1.61	2.63*	1.52	4.05**	2.45
9				1.73	1.59	2.61*	1.51	4.02**	2.43
12					0.92	1.51	0.87	2.32*	1.40
15						1.64	0.95	2.52*	1.52
18							0.58	1.54	0.93
21								2.66*	1.61
24									0.60

M₃ de Jutiapán

	8	15	20
0	2.47*	3.14**	3.26**
8		1.28	1.32
15		1.04	1.04

* Significativo al 50/o

** Significativo al 10/o



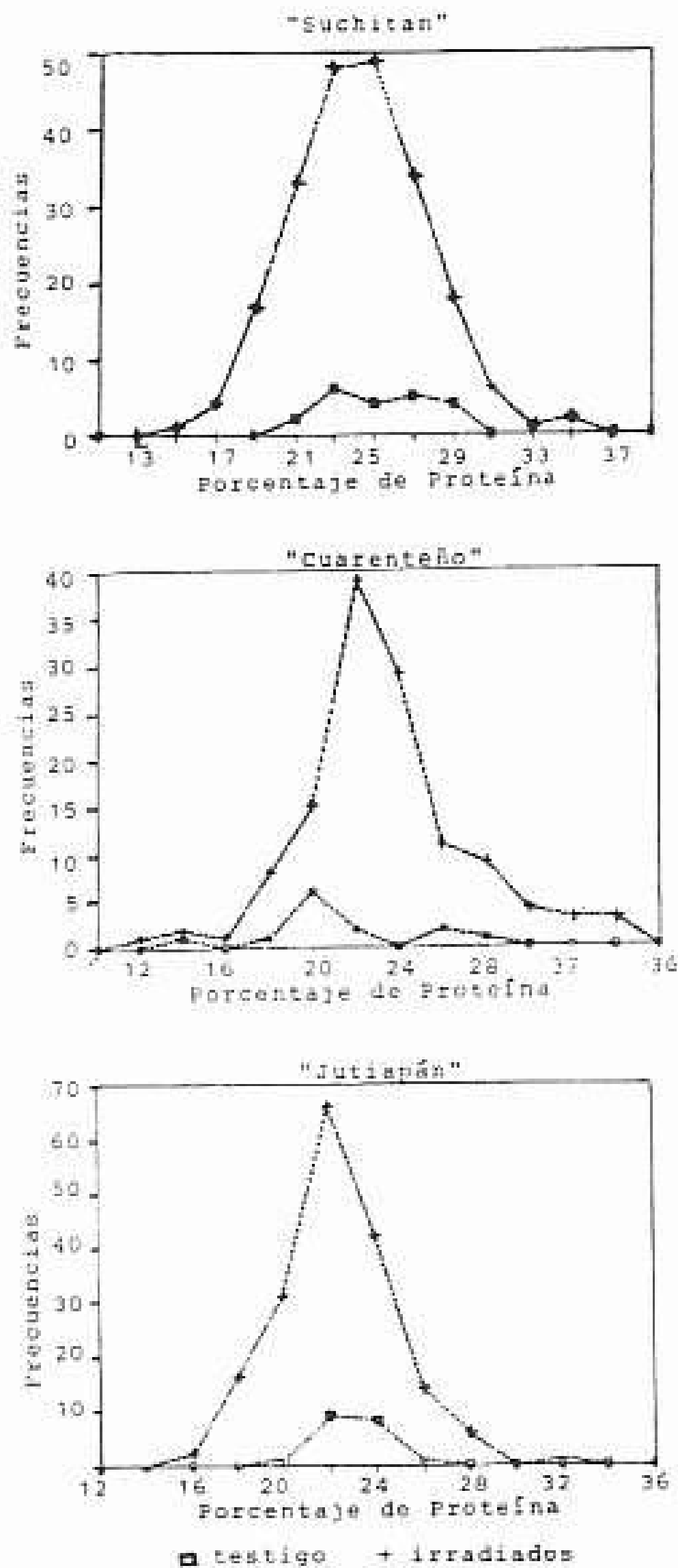
GRAFICA 1: Comparación de frecuencias entre el testigo y cada una de las dosis de irradiación en la generación M₂ (Las frecuencias de Suchitán y Cuarenteño han sido sumadas).

Al hacer pruebas de F entre las varianzas de las diferentes dosis de irradiación en la generación M₂, se comprobó que hubo diferencias significativas en la variación de contenido proteínico generado por algunas dosis; esto fue particularmente cierto para las dosis de 15 a 24 krad (ver cuadro 3). A la misma conclusión se llega si se hacen comparaciones gráficas entre el testigo y cada una de las dosis de irradiación (ver gráfica 2). Aquí de nuevo las dosis de 15, 18 y 24 krad probaron ser las más efectivas en la generación de variación del contenido proteínico en la semilla de frijol. Estos resultados concuerdan con los que a la fecha han sido reportados por otros investigadores (5).

La gráfica 2 muestra que el testigo de Cuarenteño tuvo una variación mayor en el contenido de proteína total que el testigo de Suchitán o Jutiapán. Un resultado de este tipo era esperado, pues siendo Cuarenteño una variedad nativa lógico es suponer que posea mayor variación natural. Lo contrario ha sucedido con Suchitán y Jutiapán, variedades que al ser mejoradas, indirectamente han sufrido un proceso de reducción en su variabilidad.

Aún cuando la cantidad de semilla irradiada de Jutiapán y San Martín fue pequeña (600 semillas/variedad), y que sólo las 400 mejores plantas M₁ en cada una de las variedades Suchitán y Cuarenteño fueron seleccionadas, el análisis químico de la M₂ y la M₃ de cada grupo de variedades mostró que alguna variabilidad del contenido de proteína total en el grano fue generada. Además, a pesar de que el contenido de proteína total es un carácter cuantitativo altamente influenciado por el ambiente, los rangos mostrados por cada material parecen ser suficientemente amplios como para esperar algún éxito si una adecuada presión de selección es aplicada (ver gráficas 1 y 2). Por lo tanto, pareció una buena decisión haber seleccionado todos aquellos materiales que como mínimo mostraron un 26o/o de contenido proteínico para llevarlos a una nueva generación. Fue así como se seleccionaron 36 familias de Suchitán y 21 de Cuarenteño (una presión de selección de alrededor del 15o/o) y se sembraron en los campos de la Universidad en Agosto del año 1984, para llevarlas a un nuevo ciclo de evaluaciones y selección.

La media del contenido proteínico para cada variedad fue, Suchitán: 23.2o/o, Cuarenteño: 22.2o/o y Jutiapán: 21.6o/o. Es importante observar que estos valores están bastante cercanos a las medias reportadas en la literatura para la mayoría de las variedades de frijol común. Parece que el efecto de la radiación fue ampliar el rango de variación del contenido de proteína total en ambas direcciones. Podría ser de alguna importancia realizar análisis de digestibilidad y de contenido de aminoácidos azufrados en los



GRAFICA 2. - Distribución del contenido proteínico en el testigo y la generación M₂ de los materiales irradiados de 3 variedades de frijol común- (*Phaseolus vulgaris*).

materiales con contenidos bajos, medianos y altos de proteína para ver cuál pueda ser el efecto de la radiación en estos tres niveles.

A causa de que el número de semilla irradiada de Jutiapán y San Martín fue muy pequeña (600 semillas/variedad), la posibilidad de rescatar suficientes mutaciones en estos materiales se vió agudamente reducida. Es por ello que estos materiales fueron descartados. Sin embargo, un nuevo set de 10,000 semillas de San Martín ha sido ya irradiado con dosis de 16, 18 y 20 krad y sembrado en los campos de la Universidad en Agosto del año 1984. Para determinar las dosis capaces de dar una reducción del crecimiento entre el 30 y el 50o/o ($G R_{30-50}$), lotes de 100 semillas fueron irradiadas con 10, 14, 18 y 22 krad y sembrados en suelo arenoso en el invernadero. Tanto los resultados de esta prueba como los resultados de la investigación anterior han demostrado que probablemente las dosis con la mayor producción de mutaciones sean aquellas entre los 15 y los 20 krad (ver cuadro 2).

BIBLIOGRAFIA

1. CROCOMO, O. J. *et al.* 1978. Breeding for improved protein content and quality in the bean (Phaseolus vulgaris L.). In: Seed Protein Improvement by Nuclear Techniques. Viena, Austria.
2. ————— and A. TULMAN NETO. 1976. Breeding for Protein in the bean (Phaseolus vulgaris L.). In: Evaluation of Seed Protein Alteration by Mutation Breeding. Viena. Austria.
3. MASAYA, P. 1981. La producción del Frijol (Phaseolus vulgaris L.). en Guatemala. En: Primer Curso Nacional de Frijol. ICTA. Guatemala.
4. SALAZAR, S. 1984. Evaluación de Mutaciones Inducidas por Radiación Gama (Co-60) en Dos Variedades de Phaseolus vulgaris L. Tesis de Grado. Agronomía. USAC. Guatemala.
5. SCOSSIROLI, R. E. 1977. Mutations in characters with continuous variation. In: Manual on Mutation Breeding 2nd. Ed. IAEA. Viena, Austria.
6. SHAIKH, M. A. Q. *et al.* 1982. A high-yielding and high protein mutant of chick pea (Cicer arietinum L.) derived through mutation breeding. Environmental and Experimental Botany. 22:483-489.

7. SIGURBJORBNSON, B. 1977. Contribuicao ao melhoramiento do feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.) visando aumentar a quantidade e melhorar a qualidade da proteina. Tese Dr. Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz". Piracicaba, Brazil.

7. SIGURBJORBNSON, B. 1977. Mutations in Plant Breeding Programmes. In: Manual on Mutation Breeding. 2nd. Viena, Austria.

8. TULMAN NETO, A. 1975. Contribuicao ao melhoramiento do feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.) visando aumentar a quantidade e melhorar a qualidade da proteina. Tese Dr. Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz". Piracicaba. Brazil.