

Nota de investigación

**Herencia de la resistencia a *Phytophthora parasitica* Dastur en jamaica**

Rafael Rojas-Rojas<sup>1</sup>  
Carlos De León-García de Alba<sup>1§</sup>  
Víctor Heber Aguilar-Rincón<sup>2</sup>  
Ciro Velasco-Cruz<sup>3</sup>  
Ernestina Valadez-Moctezuma<sup>4</sup>  
Javier Hernández-Morales<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Posgrado de Fitopatología. <sup>2</sup>Posgrado de Genética. <sup>3</sup>Posgrado de Estadística. *Campus* Montecillo-Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Estado México. CP. 56230. <sup>4</sup>Departamento de Fitotecnia-Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, Estado México. CP. 56230.

§Autor para correspondencia: cdleon@colpos.mx.

**Resumen**

Para determinar la genética de la resistencia a *Phytophthora parasitica* en jamaica, se analizaron las medias generacionales de cinco líneas resistentes y cinco susceptibles para estimar los parámetros genéticos de la resistencia en cruza de jamaica. El análisis mostró que los efectos aditivos fueron más importantes que efectos de dominancia para la resistencia a *P. parasitica*. La heredabilidad, en sentido amplio, fue de 37%. Los resultados obtenidos indican que un programa de pedigree puede ser efectivo y el más adecuado para incrementar la resistencia genética a *P. parasitica*.

**Palabras clave:** aditividad, avance genético, cruza, heredabilidad.

Recibido: junio de 2020

Aceptado: julio de 2020

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) es una planta anual de día corto, familia de las Malváceas, crecimiento arbustivo, originaria de África oriental (Omalsaad *et al.*, 2012). Es autógama, número cromosómico  $2n=4x=72$ . En México se cultiva para la obtención de cálices para la elaboración de infusión, jugo, mermelada, etc. con alto contenido de vitamina C, antocianinas y otros antioxidantes (Anel *et al.*, 2016). Uno de los problemas del cultivo son las enfermedades causadas por patógenos que afectan raíz y tallo, especialmente *Phytophthora parasitica*, *Fusarium oxysporum* y *Fusarium equiseti* (Hassan *et al.*, 2014).

La infección por el omiceto *Phytophthora parasitica* D. causa necrosamiento del tallo conocida como ‘pata prieta’, que causa la muerte de la planta (Hernández y Romero, 1990). La enfermedad se presenta en condiciones cálidas, de alta humedad relativa (Erwin y Riveiro, 1996) y en variedades susceptibles a la enfermedad.

Los pocos estudios de la herencia genética a enfermedades en jamaica se han enfocado a caracteres especialmente en el análisis de caracteres morfológicos, acidez, contenido de antocianinas, precocidad y rendimiento (Bandi y Appalaswamy, 2014). Referente a resistencia genética a enfermedades en jamaica, solamente Boccas y Pellegrin (1976) reportan que la resistencia a *P. parasitica* es de naturaleza poligénica.

El análisis de medias generacionales (GMA) es un método sencillo que permite estimar los efectos génicos de un carácter poligénico (Mather y Jinks, 1971), que calcula e interpreta la media de diferentes efectos génicos resultantes de la cruce de dos líneas. Bernardo (2002) reportó que los cálculos e interpretación de interacciones no alélicas (epistasia) en GMA se lleva a cabo en forma más continua que cuando se utilizan las varianzas, ya que el efecto de las medias se identifica frecuentemente y los experimentos requeridos para análisis de medias son más pequeños y fáciles de implementar que aquellos necesarios para estudiar las varianzas.

En forma similar, el estudio de efectos génicos se puede basar en contraste de generación de medias, por ejemplo, la comparación de diferencias de medias a dos diferentes niveles de factores genéticos, en las que normalmente se utiliza la prueba de t (Piepho y Mohring, 2010). Algunos investigadores reportan el papel de la acción génica en rendimiento y otros caracteres agronómicos usando la GMA (Said, 2014).

La GMA también se utiliza en estudios de resistencia a enfermedades en donde los progenitores tienen un alto nivel de resistencia y un alto grado de susceptibilidad contrastantes (Acquaah, 2007), como sucede en patosistemas involucrando *Sphacelotheca reiliana* en maíz (Bernardo *et al.*, 2002) y *Alternaria alternata* en tomate (Cassol y Clair, 1994). La heredabilidad es un parámetro utilizado para evaluar el grado en que un carácter es transmitido de los padres a sus descendientes (Akhshi *et al.*, 2014). Un valor alto de heredabilidad y alto avance genético sugieren las condiciones para elegir el método de selección (Hussein *et al.*, 2017).

En México, no existen reportes en la búsqueda de genotipos o variedades nativas de jamaica resistentes a *P. parasitica*, por lo que es importante estudiar el tipo de acción génica involucrada en la resistencia genética para implementar un programa de mejoramiento genético del cultivo. El objetivo de la presente investigación fue analizar las medias generacionales de cruces intervartiales de colectas nativas de jamaica para estimar los parámetros genéticos de resistencia a *P. parasitica*.

## Material vegetal

Para lograr las cruzas entre materiales nativos de jamaica, se usaron como progenitores cinco variedades resistentes y cuatro susceptibles identificadas por su respuesta a *P. parasitica* (Cuadro 1). La siembra de los progenitores se hizo usando tres semillas de cada progenitor en condiciones de invernadero en Montecillo, Estado de México. Cuando las plántulas alcanzaron 20 cm de altura se trasplantaron en bolsas de polietileno negras de 35 cm de diámetro por 40 cm de altura, con suelo estéril. El control de plagas y manejo de las plantas fue el convencional con riegos utilizando solución nutritiva al 75% (Steiner, 1961). Siete meses después de siembra, cuando todas las plantas comenzaron la etapa de floración, se realizaron las cruzas en dialélo (Griffing, 1956).

**Cuadro 1. Nombre, respuesta y origen de las líneas usadas como progenitores para el análisis de la resistencia a *P. parasitica*.**

Nombre	Respuesta	Origen
UAN 6 (novillero)	Susceptible	Nayarit
UAN 23-1	Susceptible	Nayarit
3Q3	Susceptible	Guerrero
UAN 6-1	Susceptible	Nayarit
UAN 13	Resistente	Nayarit
Jersey acriollada	Resistente	Puebla
UAN 13-1	Resistente	Nayarit
10	Resistente	Guerrero
UAN 8	Resistente	Nayarit

En el siguiente ciclo, cinco plantas de cada F1 se establecieron en invernadero en bolsas de polietileno con suelo estéril para su autopolinización (Cuadro 2) y obtener semilla F2.

**Cuadro 2. Cruzas directas para obtener semillas F1 y F2 para el análisis de resistencia a *P. parasitica*.**

Cruza
UAN 6 (novillero) x Jersey acriollada
UAN 6 (novillero) x UAN 13-1
UAN 6 (novillero) x 10
UAN 6 (novillero) x UAN 8
UAN 23-1 x UAN 13
UAN 23-1 x Jersey acriollada
UAN 23-1 x UAN 13-1
UAN 23-1 x 10
UAN 23-1 x UAN 8
3Q3 x UAN 13
3Q3 x Jersey acriollada
UAN 6-1 x Jersey acriollada
UAN 6-1 x UAN 13-1
UAN 6-1 x 10

## Evaluación de resistencia

Se establecieron en invernadero las cuatro generaciones para evaluar la resistencia, por lo que se sembraron semillas del progenitor susceptible (P1), progenitor resistente (P2), F1 y F2 en macetas de 250 ml con suelo estéril. Las cuatro generaciones se establecieron en un diseño completamente al azar con tres repeticiones, 25 plantas por repetición de cada progenitor, 20 de las F1 y 30 de las F2, con una unidad experimental de 10 a 25 plantas. Cuando las plantas alcanzaron 20 cm de altura, se inocularon con zoosporas de *P. parasitica* en la base del tallo con una concentración de 375 000 zoosporas por planta, haciendo una segunda inoculación 10 días después para evitar escapes.

## Medición de severidad

La severidad de la enfermedad se registró en dos fechas, iniciando seis días después de la inoculación utilizando una escala arbitraria con cinco niveles de severidad, donde 1) planta sana con hojas turgentes y color verde; 2) necrosis < 2 cm en la base del tallo y algunas hojas con clorosis; 3) necrosis de 2 a 3 cm en la base del tallo y hojas cloróticas; 4) necrosis > 3 cm en el tallo, planta curvada con hojas inferiores cloróticas, marchitas o defoliada; y 5) planta muerta. Se evaluaron 56 genotipos: 9 progenitores (con 28 combinaciones), 14 cruza directas F1 y 14 F2, en un diseño completamente al azar con tres repeticiones.

## Análisis estadístico y genético

El análisis de los datos se hizo con las cuatro generaciones (progenitores susceptible y resistente, F1 y F2). Primeramente, se realizó el análisis de varianza de la severidad promedio de las cuatro generaciones. Se evaluó la significancia de tres contrastes de interés, dos de ellos son ortogonales. Estos contrastes permiten evaluar el efecto de la media de la severidad en las cuatro generaciones.

Debido a que el modelo propuesto por Mather and Jinks (1971) no ajustaba al presente estudio por la falta de retrocruzas y ausencia de algunas cruza, se procedió a realizar el análisis de medias generacionales con las cruza disponibles de acuerdo con Steel and Torrie (1990), resultando en el ANOVA en el Cuadro 3. La significancia de los efectos génicos se calculó usando la prueba de t de Student. Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa SAS 9.3 (SAS Institute, 2012).

**Cuadro 3. Modelo utilizado para el análisis de varianza de la severidad en las cuatro generaciones de jamaica.**

Fuentes de variación	Grados de libertad	Cuadrados medios
Fechas (R)	(r-1)	$\sigma_{\epsilon}^2 + b\sigma_{\delta}^2 + ab\sigma_p^2$
Cruzas (A)	(a-1)	$\sigma_{\epsilon}^2 + b\sigma_{\delta}^2 + r\sigma_{\alpha\beta}^2 + rb\sigma_{\alpha}^2$
Error (a)	(r-1)(a-1)	$\sigma_{\epsilon}^2 + b\sigma_{\delta}^2$
Generaciones (B)	(b-1)	$\sigma_{\epsilon}^2 + r\sigma_{\alpha\beta}^2 + ra\sigma_{\beta}^2$
Cruzas x generaciones (AXB)	(a-1)(b-1)	$\sigma_{\epsilon}^2 + r\sigma_{\alpha\beta}^2$
Error (b)	a(b-1)(r-1)	$\sigma_{\epsilon}^2$

## Estimación de los parámetros genéticos

La heredabilidad, en sentido amplio, se calculó aplicando la fórmula propuesta por Warner (1952):  $H^2 = [V_{F2} - (V_{P1} + V_{P2} + V_{F1})/3] / V_{F2}$  donde:  $H^2$  = heredabilidad en sentido amplio,  $V_{P1}$  = varianza fenotípica del progenitor susceptible,  $V_{P2}$  = varianza fenotípica del progenitor resistente,  $V_{F1}$  = varianza fenotípica de la F1,  $V_{F2}$  = varianza fenotípica de la F2.

El avance genético se calculó de acuerdo con Johnson *et al.* (1955), con una intensidad de selección de  $i = 1\%$  y  $i = 5\%$  como sigue:  $AG = i \times H_A \times \sqrt{V_{F2}}$  donde:  $H_A$  = heredabilidad en sentido amplio,  $i$  = nivel de intensidad de selección,  $V_{F2}$  = varianza fenotípica de la F2.

Las medias de las cuatro generaciones fueron significativamente diferentes (Cuadro 4). La media del progenitor resistente (P2) y el progenitor susceptible (P1) fueron 1.43 y 2.43, respectivamente. Se definió un umbral para decidir si las cruza de los progenitores tienen características dominantes o recesivas a la susceptibilidad, por lo que se usó el promedio de los progenitores  $[(P1 + P2)/2]$  para éste caso fue de 1.94. Se observó la presencia de dominancia al comparar la media de las generaciones F1 y F2 con un promedio de 2.24 y 2.37, respectivamente. Debido a que la media de la generación F1 fue 2.24, cercano al valor del progenitor susceptible (2.4285), se puede deducir que la cruz resistente x susceptible resultó en progenies con características dominantes a la susceptibilidad (Cuadro 4).

**Cuadro 4. Medias generacionales de severidad en plantas de jamaica inoculadas con *P. parasitica*.**

Generación	Severidad promedio
P1	2.4285
P2	1.4357
F1	2.2464
F2	2.3678

P1= progenitor susceptible; P2= progenitor resistente.

Los resultados en el Cuadro 5, muestran que no hubo diferencias significativas para el efecto principal de las cruza ni para la interacción fechas x cruza. Sin embargo, el análisis de varianza de las cuatro generaciones (P1, P2, F1 y F2) mostró que las generaciones comparadas en pares fueron altamente significativas (1% de significancia). La comparación ortogonal entre los progenitores, P1 vs P2, mostró que fueron diferentes significativamente al 1%; mientras que la comparación entre F1 y F2 mostró diferencia no significativa. La media de los dos padres  $[(P1 + P2)/2]$  fue significativamente diferente (nivel de significancia 1%), comparada con la media de las F1.

Las diferencias entre los padres resistentes y susceptibles (P1 vs P2) representaron 77% de la suma de cuadrados debido a las generaciones (13.8 y 17.94, respectivamente), siendo la fuente de variación más importante entre las cuatro generaciones. Estos resultados muestran la importancia de los efectos aditivos en la determinación de la resistencia a *P. parasitica*. Respuestas similares fueron reportadas en la resistencia a *Sphacelotheca reiliana* (Bernardo *et al.*, 1992) y *Aspergillus flavus* (Hamblin y White, 2000) en maíz.

La suma de cuadrados correspondiente al contraste  $[(P1+P2)/2]$  vs F1, que pudiera reflejar la presencia de heterosis es pequeña, pero significativa y la falta de significancia de la diferencia entre F1 y F2 sugiere la baja importancia de los efectos de dominancia, lo que indica que la presencia de heterosis se debió principalmente a efectos aditivos, evidencia de la falta de endogamia indicada por la ausencia de una diferencia significativa entre las medias de las F1 y F2.

**Cuadro 5. Componentes de la varianza para severidad de *P. parasitica* en jamaica.**

Fuentes de variación	Grados de libertad (gl)	Suma de cuadrados (SC)	Cuadrados medios (CM)
Fechas (a-1)	1	52.94	52.94*
Cruzas (c-1)	13	4.17	0.32 ns
Fechas x cruzas (a-1)(c-1)	13	1.095	0.08
Generaciones (g-1)	3	17.94	
P1 vs P2	1	13.8	13.8*
F1 vs F2	1	0.21	0.21 ns
(P1+P2)/2 vs F1	1	1.84	1.8*
Cruzas x generaciones (A x B)	39	6.84	0.175
Error C(a-1)(g-1)	42	10.99	
Error total	111	93.58	

\*= significativo a nivel de probabilidad de 1 %; ns= no significativo.

El valor de la heredabilidad, en sentido amplio, fue relativamente alto (37%) comparado con valores de 9 y 16% reportados en tomate para resistencia a *Alternaria alternata* sugieren que el carácter de resistencia puede mejorarse usando un programa de selección (Wannows *et al.*, 2015) y las ganancias predichas por intensidad de selección de 1% o 5% son 0.96 y 0.74 unidades, respectivamente. Estos valores sugieren que la selección por el método de pedigree puede ser un método efectivo (Márquez, 1988) en el desarrollo de variedades resistentes a *P. parasitica*.

## Conclusiones

Los efectos aditivos fueron más importantes que los efectos de dominancia para la resistencia a *P. parasitica*. La heredabilidad, en sentido amplio, fue de 37%. Los resultados indican que un programa de mejoramiento por pedigree puede ser efectivo para desarrollar variedades superiores de jamaica con resistencia genética a *P. parasitica* y mejorar los caracteres existentes.

## Literatura citada

- Acquaah, G. 2007. Principles of plant genetics and breeding. Blackwell, Oxford Publ. 385 p.
- Akhshi, N.; Cheghamirza K.; Nazarian-Firouzabadi, F. and Ahmadi, H. 2014. Generation mean analysis for yield components in common bean. Iranian J. Plant Physiol. 4:1079-1085.
- Anel, C.; Thockhom, T. R.; Subapriya, S. M.; Thockhom, J. and Singh, S. S. 2016. *Hibiscus sabdariffa*-A natural micronutrient source. International Journal of Advanced Biological Sciences. 3:243-248.

- Bandi, K. H. R. and Appalaswamy, A. 2014. Variability, heritability and genetic advance studies on roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Environ. Ecolol.* 32:150-153.
- Bernardo, R. 2002. Breeding for quantitative traits in plants. 2<sup>nd</sup> edition. Stemma Press, Woodbury, MN. 369 p.
- Bernardo, R.; Bourrier, M. and Olivier, J. L. 1992. Generation means analysis of resistance to head smut in maize. *Agronomie.* 12:303-306.
- Boccas, B. and Pellegrin, F. 1976. Evaluation de la résistance de quelques varieties de roselle au *Phytophthora parasitica* Dast. *Cotton Fibres in Tropics.* 31:231-234.
- Cassol, T. and Clair, D. A. S. 1994. Inheritance of resistance to blackmold (*Alternaria alternata* (Fr.) Keissler) in two interspecific crosses of tomato (*Lycopersicon esculentum* x *L. cheesmanii* f. *typicum*). *Theoretical Appl. Gen.* 88:581-588.
- Erwin, D. C. and Ribeiro, O. K. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. American Phytopathological Society. St. Paul, MN, USA. 562 p.
- Griffing, B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel-crossing system. *Australian J. Biol. Sci.* 9:463-493.
- Hamblin, A. M. and White, D. G. 2000. Inheritance of resistance to Aspergillus ear rot and aflatoxins production of corn from Texas. *Genetic Phytopathol.* 90:292-296. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.3.292>.
- Hassan, N.; Shimizu, M. and Hyakumachi, M. 2014. Occurrence of root rot and vascular wilt diseases in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in upper Egypt. *Mycobiology.* 42:66-72. <http://dx.doi.org/10.5941/MYCO.2014.42.1.66>.
- Hernández, M. J. and Romero, C. S. 1990. Identificación del agente causal de “pata prieta de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*, L.)” y pruebas de fungicidas para su control bajo condiciones de invernadero. *Revista Chapingo.* 67(68):50-54.
- Hussein, M. A.; Othman, M. and Mourad, F. H. 2017. Generation mean analysis using generation variance in maize traits. *Iraqi J. Agric. Sciences.* 48:24-29.
- Johnson, H. W.; Robinson, H. F. and Comstock, R. E. 1955. Estimates of genetic and environmental variability in soybean. *Agron. J.* 47:314-318.
- Márquez, S. F. 1988. Genotecnia vegetal: métodos, teoría, resultados. Vol. II. AGT Eds, SA México, DF. 665 p.
- Mather, K. and Jinks, J. L. 1971. Biometrical genetics. 2<sup>nd</sup> Ed. Chapman and Hall Ltd. (Eds). 382 p.
- Omalsaad, M. O. and Islam, A. K. M. A. 2012. Characterization of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) and kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) accessions from different origins based on morpho-agronomic traits. *Inter. J. Plant Breed.* 6:1-6.
- Piepho, H. P. and Möhring, J. 2010. Generation means analysis using mixed models. *Crop Sci.* 50:1674-1680. Doi: 10.2135/cropsci2010.02.0093.
- Said, A. A. 2014. Generation mean analysis in wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress conditions. *Annals Agric. Sci.* 59:177-184. <https://doi.org/10.1016/j.aosas.2014.11.003>.
- SAS, Institute. 2012. SAS release 9. 3<sup>th</sup> Ed. Cary, NC. SAS Institute.
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1990. Bioestadística: principios y procedimientos. 2<sup>da</sup> Ed. McGraw-Hill. (Eds.). 622 p.
- Steiner, A. A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil.* 15:134-154. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01347224>.
- Wannows, A. A.; Sabbouh, M. Y. and AL-Ahmad, S. A. 2015. Generation means analysis technique for determining genetic parameters for some quantitative traits in two maize hybrids (*Zea mays* L.). *Jordan J. Agric. Sci.* 11:59-72.
- Warner, J. N. 1952. A method of estimating heritability. *Agron. J.* 44:427-430.