

## Efecto de radiaciones gamma $^{60}\text{Co}$ sobre la regeneración de plantas de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar 'ICA Pijao' vía organogénesis indirecta

Amanda Martirena-Ramírez<sup>1\*</sup>, Novisel Veitía<sup>1</sup>, Lourdes R. García<sup>1</sup>, Raúl Collado<sup>1</sup>, Damaris Torres<sup>1</sup>, Leonardo Rivero<sup>1</sup>, Miriam Ramírez-López<sup>2</sup> \*Autora para correspondencia

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830. e-mail: amanda@ibp.co.cu

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Biología. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

### RESUMEN

En programas de mejoramiento genético de *Phaseolus vulgaris* L. se ha empleado la inducción de mutaciones, sin embargo, no se han realizado estudios de radiosensibilidad *in vitro* que permitan definir la dosis óptima de radiación a aplicar. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de radiaciones gamma en la formación, multiplicación de callos y la regeneración de plantas de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar 'ICA Pijao' vía organogénesis indirecta. Se irradiaron semillas con dosis de 70 a 100 Gy que posteriormente se colocaron a germinar *in vitro*. A partir de estas se formaron callos y regeneraron plantas. Se cuantificó el número de semillas germinadas y se midió la longitud de las raíces. En la formación de callos se registró el número de explantes que formaron callos y se determinó su masa fresca a los 21 días de cultivo al igual que en la multiplicación. En la regeneración de plantas se cuantificó el número de brotes por callo, el número de brotes con raíces y se describió la coloración que estos presentaron. Desde las dosis más bajas, la aplicación de radiaciones gamma sobre semillas indujo una reducción en el porcentaje de explante con formación de callo, por debajo del 50% en comparación con el control sin irradiar, la masa fresca de los callos, así como la regeneración de brotes, que estuvo por debajo del 30% en comparación con el control, que mostró valores superiores al 70%.

Palabras clave: frijol, mutaciones *in vitro*, mejoramiento genético, semillas

## Effect of $^{60}\text{Co}$ gamma radiation on plant regeneration of *Phaseolus vulgaris* L. cultivar 'ICA Pijao' via indirect organogenesis

### ABSTRACT

In *Phaseolus vulgaris* L. breeding programs has been used mutation induction, however, no radiosensitivity studies have been performed *in vitro* in order to define the optimal dose of radiation to be applied. The aim of this study was to determine the effect of gamma radiation in the formation, multiplication of callus and plant regeneration of *P. vulgaris* cultivar 'ICA Pijao' via indirect organogenesis. Seeds were irradiated with doses of 70 to 100 Gy and then it placed to *in vitro* germinate. From these, calli were formed and were regenerated. The number of germinated seeds was quantified and root length was measured. Callus formation in the number of explants that formed calli were recorded and fresh weight was determined at 21 days of culture as in multiplication. In plant regeneration, the number of shoots per callus and the number of shoots with roots were quantified and coloration that they had described. The application of gamma radiation on seeds from the lowest dose, induced a reduction in the percentage of explants with callus formation below 50% compared to control unirradiated, fresh mass of the callus and the shoot regeneration were below 30% compared to control, which showed values higher than 70%.

Keywords: beans, *in vitro* mutations, breeding, gamma radiation, seeds

### INTRODUCCIÓN

Dentro del grupo de las leguminosas que poseen semillas comestibles, el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las más importantes. Se encuentra distribuido en los cinco continentes y es un componente

esencial de la dieta, especialmente en Centroamérica y Sudamérica. Las leguminosas después de los cereales, constituyen la fuente más importante de alimentos de origen vegetal y es la principal fuente de proteínas en el sector de la población de bajos ingresos (FAO, 2014).

En Cuba, la obtención de este grano está a cargo fundamentalmente del sector agrícola no estatal, constituido en su mayoría por fincas y pequeñas parcelas, con condiciones muy diversas y baja disponibilidad de insumos agroquímicos y energéticos (ONEI, 2014). Es por ello, que el desarrollo de investigaciones encaminadas a la obtención de nuevas variedades adaptadas a estas amenazas edafo-climáticas, son esenciales para contribuir a la seguridad alimentaria de una población creciente que requiere incrementos significativos en la producción de alimentos (Campos *et al.*, 2011).

En el mejoramiento genético de plantas, como alternativa para complementar los métodos de cruzamiento tradicional, se ha empleado la inducción de mutaciones a través de mutágenos físicos y químicos. Dentro de los químicos se emplean agentes alquilantes, como el etilmetanosulfonato (EMS), bromuro de etidio, colchicina y análogos de bases como el bromouracilo (Mba *et al.*, 2013). Por otra parte, los físicos incluyen las radiaciones gamma, los rayos X, la luz ultravioleta y la radiación de partículas incluyendo neutrones rápidos y térmicos, así como partículas beta y alfa. Dentro de estos últimos la radiación gamma es la más utilizada, debido a su aplicación sencilla, penetración elevada en el tejido, reproducibilidad y alta frecuencia de mutación, de ahí que se han empleado con éxito en los programas de fitomejoramiento de muchas especies de plantas (Ilyas y Naz, 2014).

En *P. vulgaris* los investigadores se han concentrado fundamentalmente en determinar el efecto de mutágenos físicos sobre semillas y su evaluación en condiciones *ex vitro* (Ellyfa *et al.*, 2007; Sood y Pathania, 2014). Sin embargo, en la literatura científica se refieren un número reducido de trabajos donde se ha estudiado el efecto de las radiaciones gamma *in vitro* sobre diferentes tipos de explantes (Bajaj *et al.*, 1970; Carneiro *et al.*, 1987). Sin embargo, estos trabajos no definen una dosis óptima a emplear en los programas de mejoramiento genético de esta especie. Esto se debe fundamentalmente a que la regeneración de plantas *in vitro* de *P. vulgaris*, resulta un proceso complejo debido a los efectos del genotipo en la capacidad regenerativa, así como la baja eficiencia y

reproducibilidad de estos métodos (Kwapata *et al.*, 2010).

Los avances más recientes en cuanto a la regeneración de plantas de *P. vulgaris* vía organogénesis indirecta, han sido obtenidos por el grupo de Mejoramiento genético de granos del Instituto de Biotecnología de las Plantas (Collado *et al.*, 2013). Estos autores desarrollaron un protocolo eficiente de regeneración de plantas en cinco cultivares de *P. vulgaris*, dentro de los cuales se encuentra 'ICA Pijao'. Dicho cultivar está incluido en los programas de mejoramiento genético que se desarrollan en el país, ya que es uno de los más atractivos para los pequeños productores, debido a que presenta un rendimiento elevado. Además, posee hábito de crecimiento erecto lo que permite la cosecha mecanizada. Sin embargo, presenta como limitante que es susceptible al déficit hídrico, lo que reduce su extensión a otras regiones de cultivo del Oriente y Centro del país (Bastidas, 1989). Solamente se refieren para este cultivar trabajos de selección participativa en condiciones de campo con resultados de cruzamientos obtenidos a partir de métodos de mejoramiento genético tradicional (Miranda *et al.*, 2007). Sin embargo, no se han realizado estudios de radiosensibilidad *in vitro* que permitan definir la dosis óptima de radiación a aplicar.

En la literatura científica se plantea que el efecto de las radiaciones gamma es específico para las especies, el tiempo y las dosis (Udansi *et al.*, 2012). De ahí que, además de disponer de un protocolo eficiente de regeneración de plantas *in vitro*, sea necesario el estudio de radiosensibilidad en la inducción de variabilidad genética a través del empleo de las radiaciones gamma. De acuerdo con lo planteado anteriormente el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de radiaciones gamma en la formación, multiplicación de callos y la regeneración de plantas de *P. vulgaris* cultivar 'ICA Pijao' vía organogénesis indirecta.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Material vegetal*

Se emplearon semillas maduras de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar 'ICA Pijao', obtenidas por selección en el Centro

Tabla 1. Medios de cultivo utilizados en la regeneración de plantas vía organogénesis indirecta de *P. vulgaris* cultivar 'ICA Pijao'.

Medios de cultivo	Composición (para 1 litro)
Germinación de semillas (MG)	Sales MS (Murashige y Skoog, 1962), 1.0 mg l <sup>-1</sup> de tiamina, 1.13 mg l <sup>-1</sup> de 6-bencilaminopurina (6-BAP), 3% (m/v) de sacarosa, 6.0 g de agar.
Formación de callos (FC)	Sales MS, vitaminas B5 (Gamborg <i>et al.</i> , 1968), 0.2 mg l <sup>-1</sup> de tidiazuron (TDZ), 0.05 mg l <sup>-1</sup> de ácido indolacético (AIA), 3% (m/v) de sacarosa y 6.0 g de agar.
Multiplicación de callos (MC)	Sales MS, vitaminas B5, 0.04 mg l <sup>-1</sup> de TDZ, 0.05 mg l <sup>-1</sup> de AIA, 2% (m/v) de sacarosa y 6.0 g de agar
Regeneración de brotes (RB)	Sales MS, vitaminas B5, 2.25 mg l <sup>-1</sup> de 6-BAP, 3% (m/v) de sacarosa y 6.0 g de agar.
Elongación y enraizamiento de plantas (EB)	Sales MS, vitaminas B5, 0.4 mg l <sup>-1</sup> de ácido indol butírico (AIB), 3.18 mg l <sup>-1</sup> de nitrato de plata, 3% (m/v) de sacarosa y 6.0 g de agar.

Internacional de Agricultura Tropical de Colombia (CIAT) y cultivadas en Cuba. El material vegetal de partida fue donado por el Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP) de la Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Las semillas colectadas fueron cosechadas en casa de cultivo.

#### Tratamiento mutagénico

La irradiación del material vegetal se realizó con un equipo PX-Gamma 30 con una potencia de 33.26 Gy min<sup>-1</sup>, el cual se encuentra situado en el centro de Estudios Aplicados al Desarrollo Nuclear de La Habana, Cuba (CEADEN).

#### Cultivo in vitro

Para el desarrollo de los experimentos *in vitro* se empleó el esquema de trabajo para la regeneración de plantas vía organogénesis indirecta de *Phaseolus vulgaris* L. desarrollado en el Instituto de Biotecnología de las Plantas por el grupo de Mejoramiento genético de granos (Collado *et al.*, 2013). Los medios de cultivo empleados en la investigación se describen en la Tabla 1.

#### Efecto de radiaciones gamma

Las semillas se irradiaron con las dosis de radiaciones gamma <sup>60</sup>Co: 70, 80, 90, 100 Gy y se incluyó un control sin irradiar.

Se emplearon 100 semillas por tratamiento mutagénico y del control sin irradiar. Posterior a la irradiación se colocaron en cámaras de crecimiento para su germinación y se siguió el esquema de trabajo propuesto por Collado *et al.* (2013) para la formación y multiplicación de los callos durante 21 días y la regeneración de plantas a los 21 días de cultivo.

Las evaluaciones se realizaron en la germinación de las semillas, formación y multiplicación de los callos y en la regeneración de plantas. Se cuantificó el número de semillas germinadas y se midió la longitud de las raíces (cm) con una regla milimetrada. En la formación de los callos se registró el número de explantes que formaron callos, a partir de estos valores se calculó el porcentaje de explantes con callos y se determinó su masa fresca (g) a los 21 días de cultivo y para ello se utilizó una balanza digital (Daus modelo CS 200). En la multiplicación de los callos se determinó la masa fresca (g) luego de 21 días en el medio de cultivo de multiplicación de callos. Posteriormente, en la regeneración de plantas se cuantificó el número de brotes por callo, el número de brotes con raíces en medio de cultivo de regeneración de brotes que se expresó en porcentaje y se describió la coloración que estos presentaron. Para determinar el color de los brotes, se utilizó el código hexadecimal de colores (<http://www.cwp.linnet.edu/cwis/cwp.html>).

### Procesamiento estadístico

Todos los experimentos fueron desarrollados bajo un diseño completamente al azar. Los análisis estadísticos fueron basados en la comparación de medias. Las diferencias entre los valores medios en los experimentos que no presentaron homogeneidad de varianza y distribución normal, fueron determinadas por los análisis no paramétricos Mann-Whitney y Kruskal-Wallis. El paquete estadístico empleado fue *Statistic Packaged for Social Science (SPSS)* versión 21.0 sobre Windows.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

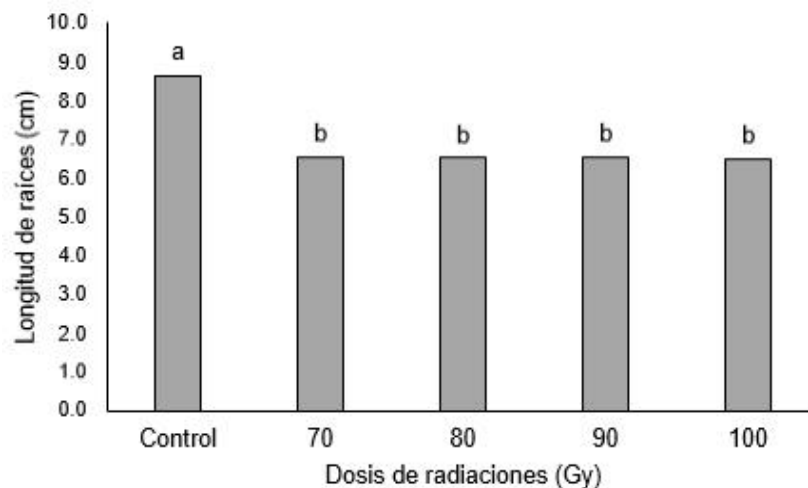
Las dosis de radiaciones aplicadas no afectaron la germinación de las semillas ya que en todos los tratamientos se obtuvo un 100% de germinación. La longitud de las raíces de las semillas irradiadas se redujo en menos del 25% por el tratamiento mutagénico, independientemente de la dosis utilizada y sin diferencias significativas entre ellas pero sí con el control (Figura 1). Además, las semillas desarrollaron raíces secundarias en todos los tratamientos.

Los resultados anteriormente descritos permiten plantear que con las variables evaluadas a las semillas irradiadas, no se pudieron establecer diferencias entre las dosis de radiaciones, ya que ninguna afectó la

germinación ni considerablemente el crecimiento de las raíces en comparación con las semillas no irradiadas. Estos resultados podrían indicar cierta tolerancia de las semillas en esta primera etapa de desarrollo.

En la literatura científica consultada hasta la fecha, no se hallaron referencias similares en frijol común en condiciones *in vitro*, sin embargo Villavicencio *et al.* (1998) refieren que en condiciones *ex vitro*, el crecimiento de la raíz en semillas irradiadas de frijol mungo (*Vigna radiata* (L) Wilczek), se redujo en comparación con las raíces formadas a partir de los materiales vegetales no irradiados. Estos autores informaron que la dosis de radiación que redujo la longitud de las raíces, varió entre todos los cultivares de esa especie evaluados. Posiblemente esta respuesta se pueda apreciar de forma similar *in vitro* si se realizan ensayos con diferentes cultivares de frijol común pero las variaciones dentro de un mismo cultivar como 'ICA Pijao' deben ser exploradas con dosis de radiaciones gamma mayores.

La reducción de la longitud de la raíz en las semillas irradiadas en la presente investigación podría atribuirse a la destrucción de reguladores del crecimiento, como las auxinas que intervienen en el crecimiento, como resultado de la aplicación de la radiación ionizante (Sparrow y Evans, 1961).



Letras sobre barras indican diferencias significativas entre los rangos medios para  $p < 0.05$  según la prueba de Kruskal Wallis/Mann-Whitney

Figura 1. Longitud de raíces en semillas germinadas de *P. vulgaris* cultivar 'ICA Pijao' sometidas a radiaciones gamma.

En otras especies de plantas, los resultados han sido variables en cuanto a la longitud de raíces en semillas irradiadas. Por ejemplo, con dosis de radiación más bajas (50 Gy) en fresa (*Fragaria vesca* L.), se ha observado una disminución de la longitud de las raíces en comparación con el control sin irradiar (Kaushal *et al.*, 2004). Otros autores como Nasab *et al.* (2010) indicaron que la longitud de las raíces en semillas irradiadas de *Hordeum vulgare* spp. con dosis superiores a las empleadas en el presente trabajo (700 y 1200 Gy) presentaron valores similares al control sin irradiar.

Aunque no se afectó la germinación, en las semillas irradiadas se redujo la formación de callos en el nudo cotiledonal con un cotiledón (NC-1) a los 21 días de cultivo en medio de cultivo FC (Tabla 2). Los valores alcanzados por dicha variable en los tratamientos con las

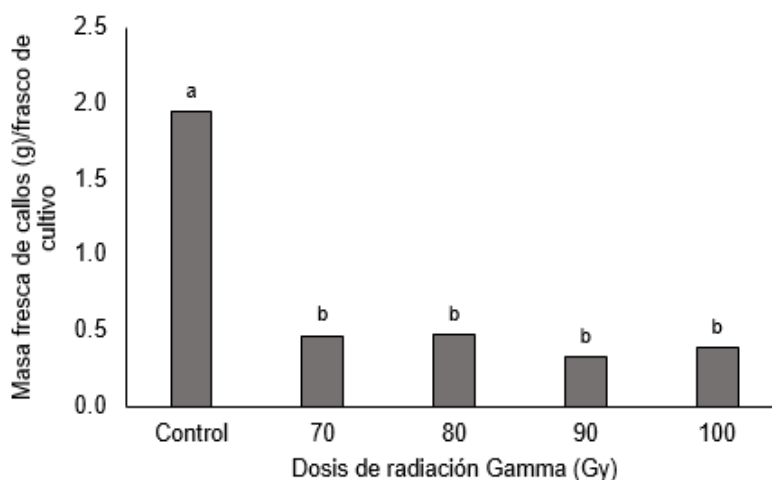
dosis de radiación se encontraron entre el 20 y 30% sin diferencias significativas entre ellos pero sí con el control sin irradiar que alcanzó valores por encima del 90%. De igual forma, los callos formados mostraron valores similares de masa fresca en las dosis de radiaciones estudiadas y estas difirieron significativamente con el control (Figura 2). De forma general los valores alcanzados con estas dosis de radiaciones fueron bajos en comparación con el control.

Estos resultados sugieren que en estas etapas del protocolo de regeneración de plantas de *P. vulgaris* vía organogénesis indirecta, con las dosis de 70 y 80 Gy las más bajas de las dosis estudiadas, se produjo una reducción en el porcentaje de explantes que formaron callos, por debajo del 50% en comparación con el control sin irradiar.

Tabla 2. Efecto de diferentes dosis de radiación gamma sobre el porcentaje de formación de callos a partir de semillas irradiadas de *P. vulgaris* cultivar 'ICA Pijao' a los 21 días en medio de cultivo de formación de callos.

Dosis de radiación (Gy)	Formación de callos	
	Explantes con callo (%)	Rangos medios
Control sin irradiar	94.78	399.43 a
70	29.76	233.00 b
80	27.41	224.29 b
90	25.00	218.00 b
100	23.21	213.36 b

Rangos medios con letras desiguales difieren según prueba de Kruskal Wallis/Mann Whitney  $p < 0.05$



Letras sobre barras indican diferencias significativas entre los rangos medios para  $p < 0.05$  según la prueba de Kruskal Wallis/Mann-Whitney

Figura 2. Masa fresca de callos formados a partir de semillas irradiadas de *P. vulgaris* cultivar 'ICA Pijao' a los 21 días en medio de cultivo de formación de callos.

Es de destacar que los callos formados a partir de semillas irradiadas con estas dosis presentaron una coloración siena (*código hex: #A0522D*) y en la mayoría de los casos se produjo la caída del cotiledón que es donde se sintetizan y almacenan auxinas, citoquininas y giberelinas que promueven el desarrollo del callo (Coelho y Benedito, 2008), y son una posible causa de la respuesta diferencial observada en la formación de callos en los explantes irradiados, en comparación con el control, donde más del 90% de los explantes formaron callos.

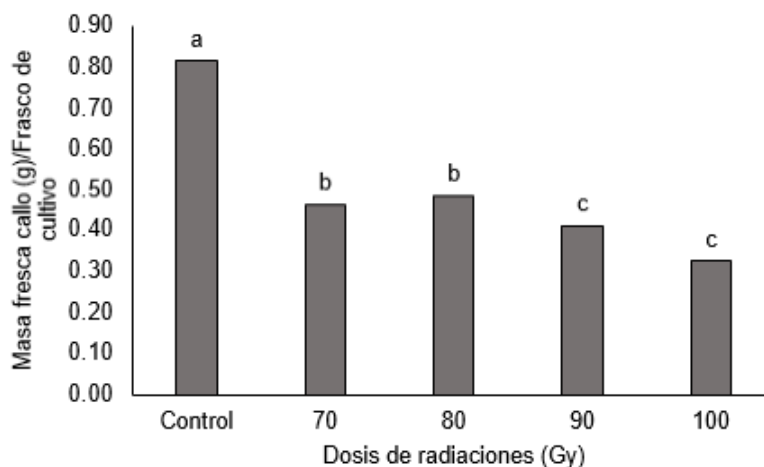
La disminución de la masa fresca en medio de cultivo de formación de callos frente a dosis elevadas de radiaciones gamma ha sido descrito en otras especies de plantas como naranja (*Citrus sinensis* L.) y zanahoria (*Daucus carota* L.) (Spiegel-Roy y Koghba, 1973; Al-Safadi y Simon, 1995). Esta reducción en la masa fresca pudo ser causada por la cantidad reducida de reguladores de crecimiento endógeno, especialmente de citoquininas, como resultado de la descomposición, o la falta de la síntesis de las mismas debido a la radiación (Sparrow y Evans, 1961).

En la multiplicación de los callos a los 21 días de cultivo, se observó que las dosis de radiaciones gamma afectaron la masa fresca (Figura 3). Con 70 y 80 Gy se lograron valores de masa fresca similares entre ellas y 1.7

veces menores que las presentadas por el control. Sin embargo, con esta dosis los valores alcanzados fueron superiores a los obtenidos con las dosis de 90 y 100 Gy con diferencias significativas. Entre estas dos últimas dosis de radiación los valores de masa fresca fueron similares y dos veces menores que el control (Figura 3).

La disminución en la masa fresca de los callos en medio de cultivo MC, pudo deberse a un retardo en el proceso de división celular, el transporte anormal de nutrientes y trastornos de la actividad metabólica, bajo las diferentes dosis de radiación gamma aplicadas (Okamoto y Tataru, 1995).

Es conocido que el contenido de humedad y de oxígeno presente en los callos incrementa la susceptibilidad de las células a las mutaciones ocasionadas por la radiación (McSteen y Zhao, 2008). Con relación a esto, en el presente estudio se observó que los callos irradiados con las dosis de radiación más altas, no fueron callos nodulares verdes y compactos, presentaron una coloración parda y se disgregaron en el medio de cultivo. Esta pérdida de la consistencia compacta, pudo estar directamente relacionada con la disminución de los valores de masa fresca que mostraron los mismos. Es por ello que se requiere realizar subcultivos de multiplicación de callos con mayor frecuencia, para contrarrestar estos efectos y mejorar la calidad del explante.



Letras sobre barras indican diferencias significativas entre los rangos medios para  $p < 0.05$  según la prueba de Kruskal Wallis/Mann-Whitney

Figura 3. Masa fresca de callos de *P. vulgaris* cultivar 'ICA Pijao' en medio de cultivo de multiplicación a los 21 días de cultivo.

Kulkarni *et al.* (2004) también informaron la reducción de la masa fresca de los callos con el aumento del nivel de radiaciones gamma hasta 30 y 40 Gy, mientras que con dosis más elevadas, la irradiación fue completamente letal. Por lo tanto, el incremento de la masa fresca fue mayor en el control, y disminuyó con el aumento de las dosis de radiación.

Con las dosis de radiación estudiadas se lograron valores similares en el número de brotes por callo, pero estos fueron inferiores con diferencias significativas respecto al control sin irradiar (Tabla 3).

Todas las dosis de radiación afectaron el porcentaje de brotes con raíces con diferencias significativas con el control (Tabla 3). Con 70 y 80 Gy, el porcentaje de brotes con raíces fue similar y estuvo por debajo del 30% en comparación con el control que mostró valores superiores al 70%. Con las dosis de 90 y 100 Gy los brotes no formaron raíces.

La baja respuesta en cuanto a la formación de raíces secundarias en los brotes regenerados a partir de semillas irradiadas, puede ser atribuida al efecto tóxico de la radiación gamma sobre las células organogénicas y a la pérdida de competitividad de esas células y sus progenies (Suprasanna *et al.*, 2008). Estos resultados permitieron definir que dosis entre

90 y 100 Gy son adecuadas para su evaluación en futuras investigaciones, ya que a medida que aumenta la dosis de radiación, pudiera incrementarse la frecuencia de alteraciones presentes en las células expuestas y disminuye la viabilidad, el número de brotes por callo y el enraizamiento.

Los callos obtenidos a partir de semillas no irradiadas formaron brotes con hojas definidas de color verde (*código hex: #008000*), con raíces principales alargadas y formación de raíces secundarias (Figura 4a). Sin embargo, aunque los callos obtenidos a partir de semillas irradiadas también formaron brotes definidos con hojas de color verde (*código hex: #008000*), no se observó desarrollo de raíces secundarias en comparación con el control (Figura 4b, c).

Estos resultados pudieron estar dados por la posible inhibición de la ruta biosintética de la auxina producto de la radiación, esta se encuentra en la planta en mayores cantidades, en las partes donde se presentan procesos activos de división celular, lo cual se relaciona con sus funciones fisiológicas asociadas con la formación de raíces adventicias, por lo que podría haber influido directamente sobre la disminución del desarrollo de raíces secundarias en los callos irradiados (McSteen y Zhao, 2008).

Tabla 3. Efecto de diferentes dosis de radiación gamma sobre la regeneración de brotes a partir de semillas irradiadas de *P. vulgaris* cultivar 'ICA Pijao' a los 21 días en medio de cultivo de regeneración de brotes.

Dosis de radiación (Gy)	Regeneración de brotes			
	No. brotes/callos	Rangos medios	Brotos con raíces (%)	Rangos medios
Control sin irradiar	3.15	80.50 a	75.00	43.88 a
70	1.38	44.76 b	28.57	28.79 b
80	1.33	41.90 b	25.00	27.63 b
90	1.29	34.60 b	0	0
100	1.30	32.30 b	0	0

Rangos medios con letras desiguales difieren según prueba de Kruskal Wallis/Mann Whitney  $p < 0.05$



Figura 4. Brotes regenerados a partir de semillas irradiadas de *P. vulgaris* cultivar 'ICA Pijao' con diferentes dosis de radiaciones gamma: a) Control, b) 70Gy, c) 80Gy.

Las diferencias en el número de brotes por callo y el porcentaje de brotes con raíces a los 21 días en medio de cultivo RB, pudieran estar relacionados con la inhibición o el estímulo de los procesos fisiológicos y bioquímicos de la radiación ionizante, lo cual depende de las dosis de radiación aplicadas (Raghava y Raghava, 1990). En este sentido, Arunyanart y Soontronyatara (2002), informaron que dosis de 30 a 50 Gy de rayos Gamma también provocaron una reducción del número de raíces secundarias en loto (*Nelumbo nucifera* Gaertn).

En relación con esto, Hewawasam *et al.* (2004) observaron una reducción en el número de brotes y en el desarrollo de raíces en *Crossandra infundibuliformis* variedad 'Danica' y Kaushal (2004), registró la disminución del número de raíces al irradiar explantes de fresa (*Fragaria vesca* L.) con 50 Gy.

Atendiendo a los resultados se requiere estudiar dosis menores de 70 Gy para determinar la dosis letal ( $DL_{50}$ ) y la ( $GR_{50}$ ) con el empleo de la organogénesis indirecta en *P. vulgaris* cultivar 'ICA Pijao'.

## CONCLUSIONES

Las radiaciones gamma de 70 a 100 Gy aplicadas a semillas de *P. vulgaris* cultivar 'ICA Pijao' afectan la formación, multiplicación de callos y la regeneración de plantas de vía organogénesis indirecta. Desde las dosis más bajas, se produjo una reducción en el porcentaje de explante con formación de callo, por debajo del 50% en comparación con el control sin irradiar, la masa fresca de los callos, así como la regeneración de brotes, que estuvo

por debajo del 30% en comparación con el control, que mostró valores superiores al 70%.

## REFERENCIAS

- Al-Safadi B, Simon BW (1995) Gamma irradiation-induced variation in carrots (*Daucus carota* L.). J Amer Soc Hort Sci 121: 595-603
- Arunyanart S, Soontronyatara S (2002) Mutation induction by  $\alpha$  and X-ray irradiation in tissue cultured lotus. Plant Cell Tiss Org Cult 70(1): 119-122
- Bajaj Y, Saettler A, Adams M (1970) Gamma irradiation studies on seeds, seedlings and callus tissue cultures of *Phaseolus vulgaris* L. Radiation Botany 10(2): 119-124
- Bastidas G (1989) Producción e investigación de frijol en Colombia. ASIAVA 31: 27-31
- Campos G, García D, Pérez Y, Ramis C (2011) Respuesta de 20 variedades de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) ante el estrés por NaCl durante la germinación y en fase plantular. Biagro 23(3): 215-224
- Carneiro JE, Barbosa HM, Cardoso AA, Vieira C (1987) The sensitivity of seeds of *Phaseolus vulgaris* L.cv. Millonario 1732 to Gamma radiation. Rev. Ceres 34: 306-312
- Coelho CMM, Benedito VA (2008) Seed development and reserve compound accumulation in Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Seed Sci. Biotechnol. 2: 42-52
- Collado R, Veitía N, Bermúdez-Caraballosa I, García LR, Torres D, Romero C, Rodríguez-Lorenzo JL, Angenon G (2013) Efficient *in vitro* plant regeneration via indirect organogenesis for different common bean cultivars. Sci Hortic 153: 109-116
- Dillen W, De Clercq J, Goossens A, Van Montagu M, Angenon G (1997) *Agrobacterium*-mediated



- transformation of *Phaseolus acutifolius* A. Gray. Theor Appl Genet 94: 151-158
- Ellyfa K, Ahmed OH, Shaharudin S, Abdul Rahman D (2007) Gamma radiosensitivity study on snap bean (*Phaseolus vulgaris*). Inter J Agric Res 2: 844-848
- FAO (2014) Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAOSTAT) Agriculture Data [En línea] En: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/E>. Consultado 10 de marzo 2015
- Gamborg OL, Miller RA, Ojima K (1968) Nutrient requirements of suspensory cultures of soybean root cells. Exp. Cell Res 50: 151-158
- Hewawasam WD, Bandara DC, Aberathne WM (2004) New phenotypes of *Crossandra infundibuliformis* var. 'Danica' through *in vitro* culture and induced mutations. Trop Agric Res 16: 253-270
- Iyas S, Naz S (2014) Effect of Gamma irradiation on morphological characteristics and isolation of curcuminoids and oleoresins of *Curcuma longa* L. J Anim Plant Sci 24(5): 1396-1404
- Kaushal K, Nath AK, Kaundal P, Sharma DR (2004) Studies on somaclonal variation in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) Cultivars. Acta Hort 662: 269-275
- Kulkarni VM, Ganapathi TR, Bapat VA, Rao PS (2004) Establishment of cell-suspension cultures in banana cv. Grand Naine and evaluation of its sensitivity to Gamma-irradiation. Curr Sci 86: 902-904
- Kwapata KR, Sabzikar MB, Sticklen JD, Kelly D (2010) *In vitro* regeneration and morphogenesis studies in common bean. Plant Cell Tiss Organ Cult 100: 97-105
- McSteen P, Zhao Y (2008) Plant hormones and signaling: common themes and new developments. Development Cell. 14(4): 467-73
- Mba C (2013) Induced mutations unleash the potentials of plant genetic resources for food and agriculture. Agronomy 3: 200-231
- Miranda S, Ortiz R, Ponce M, Acosta R, Ríos H (2007) La selección participativa de variedades de frijol común por agricultores en ferias de diversidad: una alternativa para la introducción de variedades. Cultivos Tropicales 28 (4): 57-65
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473-497
- Nasab SS, Sharifi-Sirchi GR, Torabi-Sirchi MH (2010) Assessment of dissimilar Gamma irradiations on barley (*Hordeum vulgare* spp.). Journal of Plant Breeding and Crop Science 2(4): 59-63
- Okamoto H, Tataru A (1995) Effects of low-dose  $\gamma$ -radiation on the cell cycle duration of barley roots. Environ Exp. Bot 35: 379-388
- ONEI (2014) Producción agrícola por cultivos seleccionados de la agricultura no cañera. Sector estatal Anuario Estadístico de Cuba 2013. Edición 2014 [En línea] En: <http://www.one.cu>. Consultado 10 de marzo de 2015
- Pérez JN (1998) Mutagénesis *in vitro* En: Pérez, JN (Ed.) Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología, pp. 299-311. IBP. Santa Clara
- Raghava RP, Raghava N (1990) Carotenoid content of husk tomato under the influence of growth regulators and Gamma rays. Indian J Plant Physiol 33(1): 87-89
- Sood M, Pathania NK (2014) Gene effects for pod yield and related traits in French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) population developed through induced mutation. American International Journal of Research in Formal, Applied & Natural Sciences 6(2): 109-113
- Sparrow AH, Evans HJ (1961) Nuclear factors affecting radio sensitivity: the influence of nuclear size and structure, chromosome complement, and DNA content. Brookhaven Symp. Biol. 14:76-100
- Spiegel-Roy P, Koghba J (1973) Radiosensitivity of shamouti orange (*Citrus sinensis*) seeds and buds. Rad Bot 13: 105-110
- Suprasanna P, Rupali C, Desai N, Bapat V (2008) Partial desiccation augments plant regeneration from irradiated embryogenic cultures of sugarcane. Plant Cell Tiss. Organ Cult 92: 101-105
- Udensi O, Arong GA, Obu JA, Ikpeme EV, Ojobe TO (2012) Radio-Sensitivity of Some Selected landraces of pulses to gamma irradiation: indices for use as improvement and preservation techniques. American Journal of Experimental Agriculture 2(3): 320-335
- Villavicencio AL, Mancini-Filho J, Delincée H (1998) Application of different techniques to identify the effects of irradiation on Brazilian beans after six months storage. Radiat Phys Chem 52: 161-166

Recibido: 06-06-2015

Aceptado: 11-09-2015