

Radiosensibilidad de dos genotipos de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) a radiaciones gamma

Radiosensitivity of two cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) genotypes to gamma irradiations

Lemus, Yrasema; Méndez-Natera, Jesús Rafael; Cedeño, Jesús Rafael y Otahola-Gómez, Víctor

Departamento de Agronomía, Escuela de Ingeniería Agronómica, Universidad de Oriente, *Campus* Los Guaritos, Av. Universidad, Maturín, estado Monagas. Telefax: 091-521192.
E-mail: votahola@cantv.net y jmendezn@cantv.net

RESUMEN

La utilización de mutaciones inducidas en el mejoramiento genético de las plantas ha permitido la obtención de cultivares de alta adaptación en muchas especies. Sin embargo, su utilización debe estar precedida de ensayos que permitan determinar la dosimetría adecuada, así como familiarizar al mejorador sobre el efecto que las radiaciones tienen sobre el material vegetal utilizado. Con este objetivo se realizó un ensayo en el Invernadero de Post-grado del Núcleo de Monagas de la Universidad de Oriente, utilizando semillas de dos cultivares de frijol (TC 9-6 y A-4), las cuales fueron irradiadas con cinco dosis de rayos gamma (20; 40; 60; 80 y 100 Krad), comparadas con un testigo sin irradiar. Las semillas fueron irradiadas en el reactor de ^{60}Co del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) en la ciudad de Caracas y sembradas 5 días después de la irradiación, utilizando bandejas de metal de 45 cm de alto, 30 cm de ancho y 15 cm de profundidad. Se utilizó arena lavada como sustrato. El ensayo fue sembrado bajo un diseño de bloques al azar en arreglo factorial con 4 repeticiones. Las diferencias entre los promedios se obtuvieron con la Prueba de Ámbitos Múltiples de Duncan al 5% de probabilidad. Los parámetros evaluados fueron: Sobrevivencia de las plántulas, número medio de días para la germinación, altura de las plántulas y número de hojas a los 7 y 21 días después de la siembra, peso seco de la parte aérea y peso seco de la raíz. Se observó efecto de la interacción entre los genotipos y las dosis de irradiación en todos los parámetros, a excepción del número medio de días para germinación completa y para el peso seco de la raíz, donde se observaron diferencias solo para el efecto simple de los factores estudiados. Al analizar los datos y compararlos con los tratamientos de las semillas sin irradiar se observó que en todos los parámetros evaluados la dosis letal media (LD_{50}) o dosis reductiva media (GR_{50}) se encuentra entre 20 y 60 Krad. Así mismo se pudo observar diferencias entre los cultivares a la radiación, siendo el cultivar TC-9-6 más resistente que el cultivar A-4.

Palabras claves: Frijol, *Vigna unguiculata*, rayos gamma, irradiación

ABSTRACT

The use of induced mutations in the genetic improvement of plants has allowed the obtaining of cultivars of high adaptation in many species. However, their use should be preceded of experiments that allow to determine the appropriate dosimetry, as well as to familiarize to the plant breeder with the effect that radiations have on the used vegetable material. With this objective, it was carried out a experiment at glasshouse of Postgraduate of the Nucleo de Monagas of the Universidad de Oriente, using seeds of two cowpea cultivars (TC 9-6 and A-4), which were irradiated with five dose of gamma rays (20; 40; 60; 80 and 100 Krad), compared with a control without irradiation. The seeds were irradiated in the reactor of ^{60}Co of the Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) in Caracas and sowed 5 days after the irradiation, using aluminium trays of 45 cm of high, 30 cm of wide and 15 cm of depth. Washed sand was used as substrate. A 2 x 5 factorial experiment in a randomized complete block design was used with four replications. The Duncan's multiple range test was used to detect the differences among treatment. The level of 5 % of signification was used. The evaluated parameters were: plant survival, mean number of days to the total germination, plant height and number of leaves at 7 and 21 days after the sowing, aerial part dry weight and radicle dry weight. Significant interaction was observed between the genotypes and irradiation doses in all characters, excepting mean number of days for complete germination and for radicle dry weight, where differences were only observed for simple effect of the studied factors. When analyzing the data and to compare them with the treatments of seeds without irradiation, it was observed that in all the evaluated characters, the 50 lethal dosis (LD_{50}) or 50 reductive (GR_{50}) were between 20 and 60 Krad. In the other hand, there were varietal differences to the radiation, being cultivar TC-9-6 more resistant than A-4.

Key words: Cowpea, *Vigna unguiculata*, gamma rays, irradiation

INTRODUCCIÓN

El frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) es una de las leguminosas de mayor importancia económica en Venezuela, por su multiplicidad de usos y alto contenido nutricional, lo cual la hacen muy utilizada para la alimentación humana y animal, sin olvidar su utilización como abono verde al ser incorporada al suelo.

La utilización de radiaciones gamma como una alternativa para obtener variación genética por la vía de mutaciones inducidas es una técnica empleada hoy día con bastante frecuencia en el mejoramiento genético de las plantas y ha permitido la obtención de cultivares de alta adaptación en muchas especies, ya que puede permitir la obtención de genotipos superiores en corto tiempo. Sin embargo, su utilización debe estar precedida de ensayos que permitan determinar la dosimetría adecuada, así como familiarizar al mejorador sobre el efecto que las radiaciones tienen sobre el material vegetal utilizado (Singh, 1994).

La determinación de la radio sensibilidad de los tejidos irradiados se logra exponiendo el material a un rango de intensidades de radiaciones y seleccionando aquellas dosis que permitan observar efectos visibles de la radiación pero manteniendo una supervivencia de los tejidos. Esta dosis óptima está asociada con la Dosis Letal media (LD_{50}) y la Dosis Reductiva Media (GR_{50}) (Tulmann-Neto, 1997).

El método de mejoramiento genético mediante mutaciones inducidas se basa en el principio de que se puede aumentar la proporción de mutaciones exponiendo plantas o semillas a las radiaciones. Si bajo condiciones naturales ocurren mutaciones útiles, puede suponerse que también se pueden producir mutaciones favorables en forma experimental. Las semillas son el material favorito para la irradiación en muchos experimentos de inducción de mutaciones y en el mejoramiento práctico. Las semillas pueden ser tratadas en muchos ambientes físicos, pueden ser disecadas, humedecidas, calentadas o congeladas, también pueden ser mantenidas por largo tiempo en un ambiente adecuado. Cuando están secas son casi inertes biológicamente y bajo condiciones ambientales severas ellas no sufren suficiente daño biológico (AIEA, 1995).

Las semillas tratadas suelen perder poder germinativo, en un grado que depende de la reacción de la especie y de la variedad de que se trate y de la intensidad de la radiación. Las plantas que produzcan las semillas tratadas pueden variar desde muy débiles hasta normales en su apariencia (Phoelman, 1992).

El presente trabajo se realizó con el objeto de estudiar el efecto de diferentes dosis de rayos gamma sobre la germinación de las semillas y posterior crecimiento de las plántulas de dos cultivares de Frijol, obtenidos mediante programas de mejoramiento genético convencional en la Universidad de Oriente.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente ensayo se realizó en el Invernadero de Postgrado del Núcleo de Monagas de la Universidad de Oriente, ubicado el campus Universitario Juanico, en la ciudad de Maturín, estado Monagas, utilizando semillas de dos cultivares de frijol (TC 9-6 y A-4), ambos provenientes de programas de mejoramiento genético realizados por el Profesor Nicolás Valladares en la Escuela de Ingeniería Agronómica de Universidad de Oriente

Se utilizaron semillas con un contenido de humedad de 11,8%, las cuales fueron irradiadas con cinco dosis de rayos gamma (20; 40; 60; 80 y 100 Krad), comparadas con un testigo sin irradiar. Las semillas fueron irradiadas en el reactor de ^{60}Co del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) en la ciudad de Caracas y sembradas 5 días después de la irradiación.

Las semillas fueron distribuidas en bandejas de metal de 45 cm de largo, 30 cm de ancho y 15 cm de profundidad, utilizando suelo de sabana mezclado con vermiculita como sustrato en proporción 3:1. Se sembró a una distancia de 1,5 cm entre plantas y 6 cm entre hileras, para una población de 100 plantas por bandeja, colocando una semilla por punto a una profundidad de 3 cm.

El ensayo fue sembrado bajo un diseño de bloques al azar en arreglo factorial con dos factores (genotipos y dosis de irradiación) con 4 repeticiones. Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza convencional y las diferencias entre los promedios se obtuvieron con la prueba de rangos múltiples de Duncan. El nivel de significación fue 5%.

Los parámetros evaluados fueron:

- Supervivencia de las plántulas 8 días después de la siembra.
- Número medio de días para la germinación, basado en la germinación 3; 4 y 8 días después de la siembra, utilizando para ello la relación siguiente:

$$\text{n.m.d} = \frac{(N_1 \times T_1 + N_2 \times T_2 + N_3 \times T_3)}{n}$$

donde:

n.m.d = Número medio de días para que germine la semilla

N = Número de semillas germinadas dentro de los intervalos de tiempo consecutivos

T = Tiempo transcurrido (días) entre el inicio de la prueba y el fin del intervalo

n = Número total de semillas germinadas

- Altura de las plántulas y número de hojas/plántula a los 7 días después de la siembra
- Peso seco de la parte aérea y peso seco de la raíz 21 días después de la siembra.

RESULTADOS

Sobrevivencia de las plántulas

El análisis realizado sobre los datos obtenidos para el porcentaje de supervivencia de las plantas de los dos cultivares de Frijol sometidos a diferentes dosis de irradiación con rayos gamma indicó la presencia de diferencias estadísticamente significativas para los efectos simples de las dosis de irradiación y para la interacción entre las dosis de irradiación y los genotipos. La figura 1 nos muestra los datos correspondientes a la prueba de promedios de Duncan para este carácter, pudiéndose observar que el cultivar TC 9-6 solo fue afectado por la dosis de 60 Krad, mientras que el cultivar A-4 fue afectado por las dosis mayores de 30 Krad.

Por otro lado, la figura 1 nos permite observar que no se observó la dosis letal media para este carácter en el cultivar TC 9-6, mientras que para el

cultivar A-4 la misma se encuentra entre 45 y 60 Krads.

Los datos obtenidos nos indican que existen diferencias en el efecto de las dosis de irradiación empleadas sobre los genotipos, observándose que el cultivar TC 9-6 es más tolerante a la irradiación con rayos gamma.

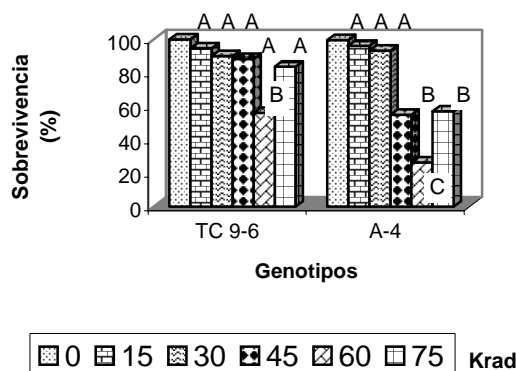


Figura 1. Porcentaje de supervivencia de las plantas de dos cultivares de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) provenientes de semillas irradiadas con diferentes dosis de rayos gamma.

Número medio de días para total germinación

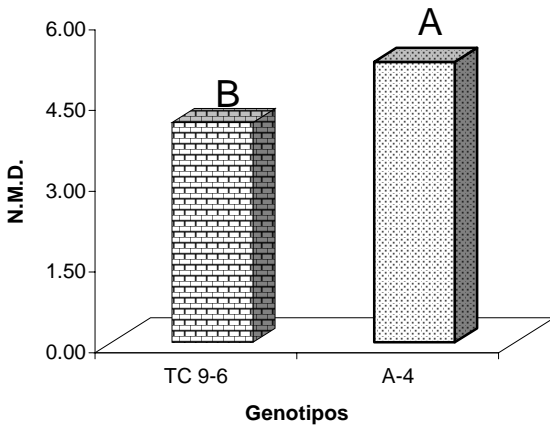
El análisis de varianza para este carácter mostró diferencias estadísticamente significativas para los efectos simples de las dosis de irradiación y los genotipos, no así para la interacción entre ambos factores. La figura 2 nos muestra que el cultivar TC 9-6 tardó menos días en germinar que el cultivar A-4.

La figura 3 muestra el efecto de diferentes dosis de radiaciones gamma sobre el número medio de días para alcanzar la máxima germinación en los dos cultivares de frijol utilizados, notándose un efecto de las dosis de 30 Krad en adelante. En general se observó que a medida que se aumentan las dosis de irradiación se retarda la germinación de las semillas en ambos cultivares de frijol, sin embargo se observó similitud estadística entre la dosis de 15 Krad y la dosis control.

Altura de la plántula (cm) a los 7 días después de la siembra

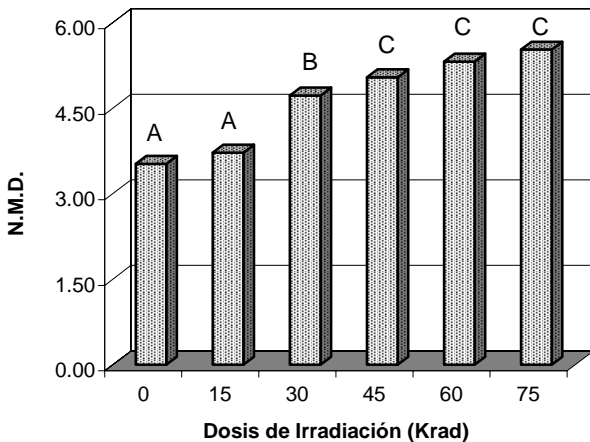
El análisis de los datos obtenidos para este carácter indicó diferencias significativas para los

efectos simples de dosis de irradiación y genotipos y para la interacción entre ambos factores.



N.M.D. = Número medio de días a total germinación

Figura 2. Número medio de días para total germinación de dos genotipos de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) irradiados con diferentes dosis de rayos gamma.



N.M.D. = Número medio de días a total germinación

Figura 3. Número medio de días a total germinación de dos genotipos de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) irradiados con diferentes dosis de rayos gamma.

La figura 4 nos muestra el efecto de las dosis de irradiación sobre los dos genotipos evaluados, observándose claramente tres grupos, conformados de la siguiente manera: Un primer grupo formado por las plantas más altas, correspondiendo a las dosis control y la dosis de 15 Krad en el cultivar TC 9-6; un segundo grupo, de plantas intermedias, correspondiendo a los tratamientos donde se utilizó el genotipo TC 9-6 irradiado con las dosis de 30 a 75 Krad, y a los tratamientos donde se utilizó el cultivar A-4 sin irradiar y cuando se irradió con las dosis de 15 Krad. El tercer grupo, de plantas más pequeñas y donde se observó el mayor efecto de la irradiación se presentó en las plantas provenientes de las semillas de cultivar A-4 irradiadas con las dosis de 30 Krad en adelante.

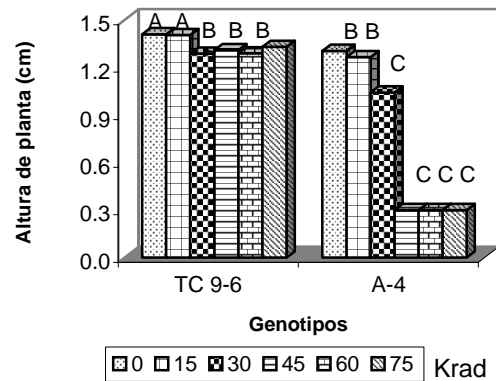


Figura 4. Altura de la planta (cm) de dos genotipos de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. Irradiados con diferentes dosis de rayos gamma.

Número de hojas/planta 7 días después de la siembra

Al hacer el respectivo análisis de varianza para los datos obtenidos para el carácter número de hojas/planta, realizado 7 días después de la siembra, se encontraron diferencias estadísticas para los efectos simples de dosis de irradiación y para el efecto simple de los genotipos, así como para la interacción entre ambos factores.

La figura 5 muestra que las plantas de todos los tratamientos tuvieron una respuesta similar, a excepción de los tratamientos donde se utilizó la variedad A-4 irradiada con dosis de 45, 60 y 75 Krad, las cuales presentaron menor número de hojas/planta.

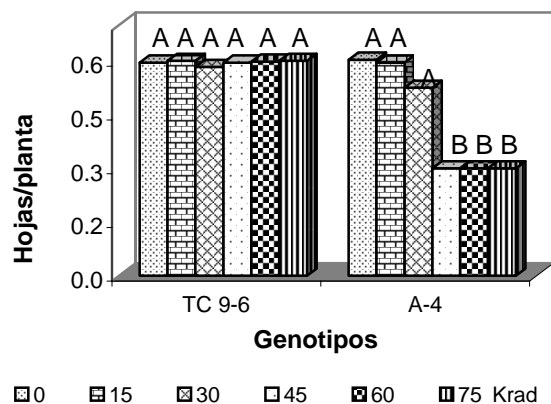


Figura 5. Número de hojas/planta de dos genotipos de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) irradiados con diferentes dosis de rayos gamma.

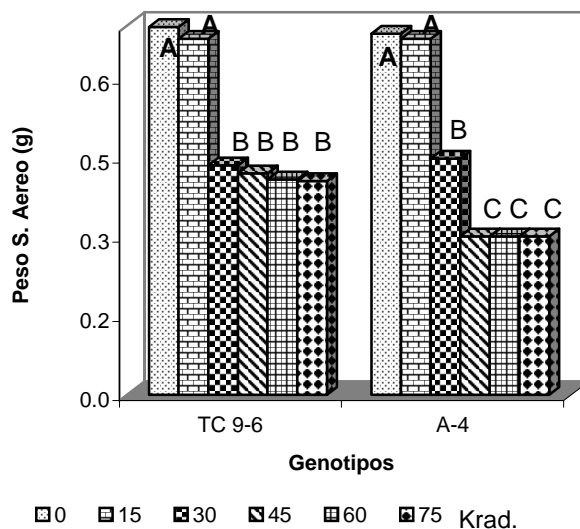


Figura 6. Peso seco (g) de la parte aérea de las plantas de dos cultivares de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) provenientes de semillas irradiadas con diferentes dosis de rayos gamma.

Peso seco parte aérea (g):

Los datos obtenidos para este carácter indicaron diferencias estadísticamente significativas al 5 % para los efectos simples y para la interacción entre las dosis de irradiación y los genotipos evaluados. La figura 6 nos muestra que ambos genotipos fueron afectados por dosis de irradiación de 30 Krad en adelante. Sin embargo, se observa así mismo que las dosis de 45, 60 y 75 Krad produjeron plantas con menor peso seco en el cultivar A-4.

Peso seco de raíz (g)

Al hacer el respectivo análisis de varianza para los datos obtenidos para este carácter, realizado 21 días después de la siembra, se encontraron diferencias estadísticas para los efectos simples de dosis de irradiación y para el efecto simple de los genotipos, no así para la interacción entre ambos factores.

La figura 7 nos muestra que el cultivar TC 9-6 presentó plantas de mayor peso seco que el cultivar A-4. Por otro lado, la figura 8 nos muestra como va disminuyendo el peso seco de las plantas al aumentar la dosis de irradiación, aunque se observó similitud estadística entre el tratamiento de 15 Krad y el testigo sin irradiar.

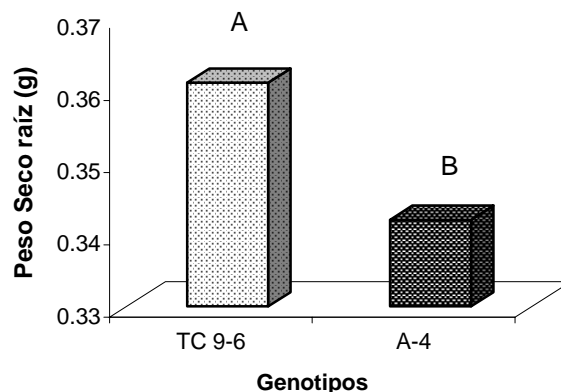


Figura 7. Peso seco de la raíz (g) de dos genotipos de frijol (*Vigna unguiculata* L. Walp) irradiados con diferentes dosis de rayos gamma.

DISCUSIÓN

La irradiación de semillas de dos cultivares de frijol con rayos gamma afectó su germinación y el crecimiento de las plántulas desarrolladas a partir de las mismas, encontrándose la tendencia general a disminuir la expresión de los caracteres evaluados según aumentan las dosis de irradiación. Además se observaron efectos de letalidad en las dosis de 60; 80 y 100 Krad, sobre todo en el cultivar A-4 que resultó ser más sensible a la radiación que el cultivar TC 9-6.

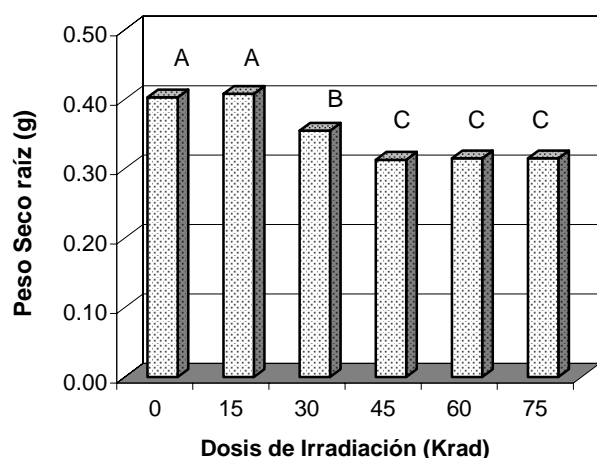


Figura 8. Peso seco de la raíz (21 dds) de plantas de dos cultivares de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) provenientes de semillas irradiadas con diferentes dosis de rayos gamma.

Además se observó respuesta diferencial en cuanto a la germinación de estos cultivares, siendo mayor la germinación en el cultivar TC 9-8 que en el cultivar A-4. Respuesta similar fue observada por Valladares (1990) al irradiar semillas de cuatro cultivares de Frijol con una dosis única de 60 Krad. y sembrar directamente en el campo tres días después de irradiar las semillas.

Chowdhury y Singh (1980) indican que al irradiar semillas de seis variedades de Frijol y quinchoncho (*Cajanus cajanus* (L.) Millsp) con dosis de 20 – 80 Krad observaron reducción de la germinación en todos los tratamientos. Además estos autores observaron un mayor efecto varietal en el quinchoncho.

Para la mayoría de los caracteres evaluados se observó una LD₅₀ entre las dosis de 40 y 60 Krad, especialmente para el cultivar A-4. La agencia Internacional de Energía Atómica (AIEA, 1995) reporta la dosis que reduce en un 50% la altura de la planta de algunas especies de leguminosas, tales como: *Cajanus cajan* (15 – 21 Krad), *Phaseolus vulgaris* (15 – 30 Krad), *Phaseolus lunatus* (9 – 16 Krad) *Phaseolus aureus* (65 – 100 Krad), *Vigna unguiculata* (30 – 50 Krad).

Lawhale (1982) obtuvo que la dosis de 22 Krad fue la más efectiva para inducir variación genética en Frijol. Por su parte Subramanian (1979) indica que después de irradiar semillas de *Vigna unguiculata* subsp. Cilíndrica, en estado verde,

con dosis de 10 – 40 Krad de rayos gamma, observó varios mutantes en las plántulas de la M₂ para forma de crecimiento, tipo de hoja, manchas foliares y maduración del grano, obteniéndose una DR₅₀ entre 20 – 30 Krad, la cual fue más efectiva en la producción de mutantes.

CONCLUSIONES

Se observó efecto de la interacción entre los genotipos y las dosis de irradiación en todos los parámetros, a excepción del número medio de días para germinación completa y para el peso seco de la raíz, donde se observaron diferencias solo para el efecto simple de los factores estudiados.

Al analizar los datos y compararlos con los tratamientos de las semillas sin irradiar se observó que en todos los parámetros evaluados la dosis letal media (LD₅₀) o dosis reductiva media (GR₅₀) se encuentra entre 20 y 60 Krad.

Se observaron diferencias entre los cultivares como respuesta a la radiación, siendo el cultivar TC-9-6 más tolerante que A-4.

LITERATURA CITADA

- Chowdhury, R y Singh, B. 1980 Effect of gamma irradiation on germination in pulse crops. Tropical grain Legume Bulletin N| 21. Haryana, India. 1-5 p.
- IAEA, 1995 Manual on Mutation Breeding. International Atomic Energy Agency. Technical Reports. Series N| 119. Vienna. Pp 33 – 42.
- Lawhale, A. 1992 Note on genetic variability in quantitative character of cowpea in the M₂ generation. Indian Journal of Agricultural Sciences. 52. Maharashtra, India. 22-23 p.
- Poehlman, J. 1992 Mejoramiento genético de las cosechas, Limusa, México. DF. México 453 p.
- Singh, B. 1994 Plant Breeding. Principles and Methods. Firth Edition. Kalyani Publishers. Ludhiana, India. 667 p.
- Subramanian, D. 1979 Effect of gamma radiation on *Vigna unguiculata* subsp Cilíndrica verde. (Abstract) In Symposium on the role of induced mutations in crop improvement. Hyderabad,

Departament of atomic energy. 75 Dep Bot.
Annamalai Univ. Tamil Nadu, India 329 p.

Tulmann Neto, A. 1997 Utilización de radiaciones gamma en el mejoramiento genético de plantas autógamias. En Curso Mutaciones Inducidas en el mejoramiento de plantas. AIEA- UDO, Núcleo Monagas.

Valladares, N. 1990 Nuevas líneas experimentales de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) para la ecología de sabana. Desarrolladas por selección individual de la población original "Tejero Criollo". Premio Agropecuario Banco Consolidado. 115 p.