UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA

"EFECTOS MUTAGENICOS DE LOS RAYOS GAMMA (Co-60) EN LA FENOLOGIA Y CONTENIDO DE PROTEINA EN DOS VARIEDADES DE FRIJOL COMUN (Phaseolus vulgaris L.)"

TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA

DE LA

FACULTAD DE AGRONOMIA

POR

EDGAR EDUARDO PRETZANZIN TOHOM

EN EL ACTO DE SU INVESTIDURA COMO

INGENIERO AGRONOMO

EN EL GRADO ACADEMICO DE

LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

Guatemala, Septiembre de 1985.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

D.S.
01
T(51)
C.3

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

Dr. Eduardo Meyer Maldonado

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO:	Ing. Agr. César A. Castañeda S.
VOCAL I:	Ing. Agr. Oscar R. Leiva Ruano.
VOCAL II:	Ing. Agr. Jorge E. Sandoval I.
VOCAL III:	Ing. Agr. Rolando Lara Alecio.
VOCAL IV:	P. Agr. Angel Leopoldo Jordán.
VOCAL V:	P. Agr. Axel Gómez Chávarry.

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO:	Dr. Antonio A. Sandoval S.
EXAMINADOR:	Ing. Agr. Gustavo A. Méndez G.
EXAMINADOR:	Ing. Agr. Rolando Aguilera
EXAMINADOR:	Ing. Agr. Alvaro Hernández.
SECRETARIO:	Ing. Agr. Carlos R. Fernández P.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA
Ciudad Universitaria, Zona 12.
Apartado Postal No. 1545
GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia .....
Asunto .....
.....

Ingeniero Agrónomo
César Augusto Castañeda S.
Decano, Facultad de Agronomía
Su Despacho.

Señor Decano:

Por este medio comunico a usted que he terminado el asesoramiento del trabajo de tesis del estudiante Edgar Eduardo Pretzanzin Tohom, intitulado ""Efectos Mutagénicos de los Rayos Gamma (Co-60) en la Fenología y Contenido de Preoteína en Dos Variedades de Frijol (Phaseolus vulgaris L.).

Considero que este estudio llena la calidad científica que la facultad exige como requisito para la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, por lo que sugiero su aprobación.

Sin otro particular, me suscribo deferentemente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Agr. Mario R. Morales
ASESOR

SA-035-85

MINISTERIO DE ENERGIA Y MINAS
DIRECCION GENERAL DE ENERGIA NUCLEAR

Guatemala, 9 de Agosto de 1985

Señor Decano
Facultad de Agronomía
Ing. Agr. César Castañeda
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS

Señor Decano:

Le comunico atentamente que en cumplimiento de la designación que emitiera esa decanatura, he procedido a asesorar el trabajo de tesis del estudiante Eduardo Pretzan zin Tohom, titulado:

"Efectos mutagénicos de los Rayos Gamma (Co-60) en fenología y contenido de - proteína en dos variedades de frijol - común (Phaseolus Vulgaris L.)"

Hago de su conocimiento que ha sido concluída la asesoría y revisión final, considerando que el presente trabajo llena los requisitos de una Tesis de grado, reco-- miendo su aprobación para ser publicado.

Atentamente,

Ing. Agr. Jose Luis Rueda C.
JEFE SECCION AGROPECUARIA

oaf.

Diagonal 17 No. 29-78, Zona 11 - Apartado Postal 1421. Guatemala, C.A.
– Tels.: 760679 - 82 – Télex 5516 Petgua Gu.

Guatemala,
Agosto de 1985.

HONORABLE JUNTA DIRECTIVA
HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

De conformidad a lo que establece la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de tesis titulado:

"EFECTOS MUTAGENICOS DE LOS RAYOS GAMMA (Co-60) EN LA FENOLOGIA Y CONTENIDO DE PROTEINA EN DOS VARIEDADES DE FRIJOL COMUN (Phaseolus vulgaris L.)"

Presentándolo como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo, en el grado académico de Licenciado en Ciencias Agrícolas.

Atentamente.

Edgar Eduardo Pretzanzín Tohom

ACTO QUE DEDICO

A DIOS TODOPODEROSO.	Que ha fortalecido mi vida.
A MIS PADRES.	José Pretzanzín Alvarez Francisca Tohom de Pretzanzín
A MIS HERMANOS.	Angela Annabella, Berta Marina, Adolfo Alfredo, José Rafael.
A MI CUÑADA Y SOBRINO.	Diana Ruth y José Rafael.
A MIS TIOS Y PRIMOS.	
AL AGRICULTOR GUATEMALTECO.	

ESTA TESIS LA DEDICO

A:	GUATEMALA.
A LA:	FACULTAD DE AGRONOMIA
A LA:	INVESTIGACION AGRICOLA.
A LA:	SUB-AREA DE CIENCIAS BIOLOGICAS.
A MI AMIGO:	BIDKAR H. ARENALES (Q.E.P.D.).
A MIS AMIGAS:	CRISTY AC-BOL.
	ING. AGR. MARIA ANTONIETA ALFARO V.
A MIS AMIGOS:	ING. VICTOR MANUEL OLIVA.
	ING. AGR. ESTUARDO BARRIOS MENDEZ.
	ING. AGR. EFRAIN MENDOZA CRUZ.
	ING. AGR. FRANCISCO VASQUEZ VASQUEZ.
	ING. AGR. PEDRO ALBERTO CAMPOSECO.
	ING. AGR. JOSE VICENTE MARTINEZ.
	ING. AGR. MARCO VINICIO REYES.
	ING. AGR. SAMUEL SALAZAR LOPEZ.
	ING. AGR. SERGIO GONZALEZ.
	ING. AGR. CESAR AUGUSTO JUAREZ.

AGRADECIMIENTOS

A LA: Facultad de Agronomía y
Universidad de San Carlos de Guatemala.

A: Mi Asesor Ing. Agr. Luis Rueda Calvet y
Lic. Luis Mejía, por su dedicación en el
desarrollo de la tesis.

A LA: Dirección General de Energía Nuclear del
Ministerio de Energía y Minas de Guatemala,
su Director Ing. Eduardo Pineda, por su valiosa
colaboración en la irradiación y en los análi-
sis químicos.

AL: Ing. Agr. Fredy Hernández O., Ex-Coordinador
del Centro Experimental de Agronomía.

A LA: Sub-Area de Ciencias Químicas y su Coordinador
Lic. Oscar M. Cóbar Pinto.

A LA: Sub-Area de Estadística y Cómputo.

A LA: Sub-Area de Manejo y Mejoramiento de Plantas.

AL: Laboratorio de Suelos de ANACAFE.

AL: Profesor Alejandro de la Rosa, Catedrático de
CALUSAC.

AL: Ing. Agr. Aníbal Martínez e Ing. Agr. Oscar
Leiva, por sus comentarios a este trabajo.

A: Mis compañeros estudiantes que colaboraron en
el trabajo de campo.

CONTENIDO

INDICE DE CUADROS.
INDICE DE GRAFICAS.
INDICE DE APENDICE.

		PAGINA
	RESUMEN.	i
I.	INTRODUCCION.	1
II.	OBJETIVOS.	4
III.	HIPOTESIS.	5
IV.	REVISION BIBLIOGRAFICA.	6
	1. TIPOS DE MUTACIONES.	6
	1.1. MUTACIONES GENOMIALES.	6
	1.2. MUTACIONES CROMOSOMICAS.	7
	1.3. MUTACIONES GENICAS O DE PUNTO.	7
	1.4. MUTACIONES EXTRANUCLEARES.	8
	2. ORIGEN DE LAS MUTACIONES.	9
	2.1. MUTABILIDAD ESPONTANEA.	9
	2.2. MUTABILIDAD INDUCIDA.	10
	3. RADIACION MUTAGENICA.	12
	3.1. FUENTES DE RADIACION.	12
	3.2. RADIOBIOLOGIA.	16
	3.3. DOSIMETRIA.	17
	4. IRRADIACION EN LAS PLANTAS.	19
	4.1. PLANTAS ENTERAS.	19
	4.2. SEMILLAS.	19
	4.3. GRANOS DE POLEN.	21
	4.4. MERISTEMOS.	21
	4.5. CELULAS Y/O CULTIVO DE TEJIDOS.	22

PAGINA

5. CONDICIONES DE TRATAMIENTO. 22
5.1. RATA DE DOSIS. 22
5.2. IRRADIACION AGUDA VRS. CRONICA. 23
6. SENSIBILIDAD A LA RADIACION Y FACTORES MODIFICADORES. 24
6.1. FACTORES AMBIENTALES. 25
6.2. FACTORES BIOLOGICOS. 28
7. EFECTOS MUTAGENICOS EN LA PRIMERA GENERACION DESPUES DEL TRATAMIENTO DE LA SEMILLA. 28
7.1. DAÑOS A LA PLANTA Y LETALIDAD. 28
7.2. EFECTOS CITOLOGICOS. 31
7.3. ESTERILIDAD. 31
7.4. QUIMERAS. 32
7.5. MANCHAS O RAYAS EN LAS HOJAS. 33
8. EFECTOS MUTAGENICOS EN LA SEGUNDA GENERACION. 34
9. INDUCCION DE MUTACIONES EN EL CULTIVO DEL FRIJOL. 34
9.1. COLOR DEL PERICARPIO. 35
9.2. MUTANTES DE RENDIMIENTO. 36
9.3. MUTANTES EN CONTENIDO DE PROTEINA. 36
9.4. TECNICAS DE SELECCION. 40

V. MATERIALES Y METODOS. 42
1. MATERIALES. 42
2. METODOS. 43
2.1. DOSIFICACION. 43
2.2. PRIMERA GENERACION (M_1). 44
2.3. SEGUNDA GENERACION (M_2). 46
2.4. METODOLOGIA Y SELECCION. 48

PAGINA

2.5. ANALISIS DE PROTEINA. 49

2.6. MODELO ESTADISTICO. 49

2.7. ANALISIS DE DATOS. 50

VI. PRESENTACION DE RESULTADOS Y DISCUSION. 53

1. ANALISIS ANATOMICOS Y FISIOLOGICOS EN LA PRIMERA GENERACION (M_1). 53

2. ANALISIS DE LAS CARACTERISTICAS CUALITATIVAS DE LA SEGUNDA GENERACION (M_2). 56

3. ANALISIS DE LAS CARACTERISTICAS AGRONOMICAS DE LA SEGUNDA GENERACION (M_2). 59

4. ANALISIS DEL CONTENIDO DE PROTEINA EN LAS DOS VARIEDADES EN LA SEGUNDA GENERACION (M_2). 64

5. ANALISIS DE REGRESIONES Y CORRELACIONES. 74

VII. CONCLUSIONES. 81

VIII. RECOMENDACIONES. 83

IX. APENDICE. 84

X. BIBLIOGRAFIA. 109

INDICE DE CUADROS.

		PAGINA
CUADRO 1.	Radiosensibilidad de algunas especies a la irradiación con rayos gamma y con neutrones rápidos.	26
CUADRO 2.	Resumen de los análisis de varianza para las características cuantitativas observadas en las variedades Suchitán y Cuarenteño de Frijol en la Primera Generación (M_1).	55
CUADRO 3.	Resumen de las mutaciones Cualitativas observadas en la M_2 de las dos variedades.	58
CUADRO 4.	Resumen de Andevas de las características cuantitativas analizadas en la segunda generación (M_2) de las variedades Suchitán y Cuarenteño de frijol común (en porcentajes).	61
CUADRO 5.	Información estadística del efecto de irradiación sobre el contenido de proteína en las dos Variedades de frijol común.	67
CUADRO 6.	Valores de F de comparaciones hechas entre varianzas de diferentes dosis de irradiación.	73

INDICE DE GRAFICAS

		PAGINA
GRAFICA 1.	Proceso de Selección y Análisis de Proteína en Inducción de Mutaciones.	52
GRAFICA 2.	Comportamiento estadístico peso 100 semillas Variedad Cuarenteño.	62
GRAFICA 3.	Comportamiento estadístico peso 100 semillas Variedad Suchitán.	63
GRAFICA 4.	Comparaciones de las frecuencias del porcentaje de proteína entre dosis (Krad) y el testigo. Variedad Suchitán. (M_2).	68
GRAFICA 5.	Comportamiento de la Media Muestral del contenido de proteína en frijol irradiado. Variedad Suchitán. (M_2).	69
GRAFICA 6.	Valores estadísticos (Coeficiente de variación, media, casos y varianza) del contenido de proteína. Variedad Suchitán. (M_2).	69
GRAFICA 7.	Comparaciones de las frecuencias del porcentaje de proteína entre dosis (Krad) y el testigo. Variedad Cuarenteño. (M_2).	70
GRAFICA 8.	Valores estadísticos (Coeficiente de variación, media, casos y varianza) del contenido de proteína. Variedad Cuarenteño. (M_2).	71
GRAFICA 9.	Comportamiento de la Media Muestral del contenido de proteína en frijol irradiado. Variedad Cuarenteño. (M_2).	71
GRAFICA 10.	Distribución normal del contenido de proteínas en dos variedades de frijol.	72

PAGINA

GRAFICA 11. Comportamiento de la correlación semillas germinadas vrs. sobrevivencia. Variedad Cuarenteño. 77

GRAFICA 12. Comportamiento de la correlación semillas germinadas vrs. sobrevivencia. Variedad Suchitán. 77

GRAFICA 13. Comportamiento esperado de producción (semillas por planta) vrs. contenido de proteína, según modélo cuadrático. Variedad Suchitán. 78

GRAFICA 14. Comportamiento esperado de producción (semillas por planta) vrs. contenido de proteína, según modelo cuadrático. Variedad Cuarenteño. 78

GRAFICA 15. Relación de cuatro características y dosis de irradiación en M_2. Variedad Suchitán. 79

GRAFICA 16. Relación de cuatro características y dosis de irradiación en M_2. Variedad Cuarenteño. 80

INDICE DE APENDICE

		PAGINA
APENDICE 1.	CONDICIONES CLIMATICAS QUE PREVALECEN EN EL VALLE DE GUATEMALA.	85
	CARACTERISTICAS DEL SUELO EN EL AREA DEL ENSAYO.	85
APENDICE 2.	DISTRIBUCION DE LOS TRATAMIENTOS EN EL CAMPO DE LAS DOS GENERACIONES DE FRIJOL IRRADIADO CON COBALTO-60.	86
APENDICE 3.	METODO PARA OBTENER EL TIEMPO DE EXPOSICION EN UN IRRADIADOR DYNARAD 50L CON UN NUCLEO DE Co-60.	87
APENDICE 4.	METODO MICRO-KJELDAHL.	88
APENDICE 5.	ESTADISTICOS DESCRIPTIVOS DE PESO DE CIEN (100) SEMILLAS. VARIEDAD SUCHITAN.	91
	ESTADISTICOS DESCRIPTIVOS DE PESO DE CIEN (100) SEMILLAS. VARIEDAD CUARENTEÑO.	91
APENDICE 6.	MODELOS MATEMATICOS DE LAS CORRELACIONES MAS SOBRESALIENTES ENTRE VARIABLES.	92
APENDICE 7.	TABLAS DE LAS LINEAS CON LOS RESULTADOS MAS SOBRESALIENTES PARA CADA UNA DE LAS VARIABLES ANALIZADAS, PARA UNA POSIBLE SELECCION EN LA GENERACION M_2.	104

RESUMEN.

La proteína como principal constituyente del valor nutritivo de las plantas de leguminosas, ha ingresado como un carácter de importancia en el fitomejoramiento. La búsqueda de mutantes ricos en proteína es la meta de muchas investigaciones en el campo de la inducción de mutaciones.

En base a lo anterior, se propuso evaluar y obtener materiales genéticos de frijol común (Phaseolus vulgaris L.) con características morfológicas y de contenido de proteína superiores relacionadas con el rendimiento durante las dos primeras generaciones de las variedades: Suchitán, mejorada y Cuarenteño criolla depurada por una generación; irradiando semilla en una fuente de Cobalto-60, Dynarad 5L, en diez dosis, de 0 a 27 Kr a intervalos constantes de tres. La siembra de los materiales se hizo en los campos de la Facultad de Agronomía, bajo un diseño de Bloques al Azar, para realizar análisis de varianza. La determinación del contenido de nitrógeno se realizó a través del método Micro-Kjeldahl.

Las variables que se evaluaron en M_1 fueron básicamente daños fisiológicos: hojas más grandes, con nervadura morada, plantas cloróticas (tipo clorina), número de semillas por vaina y por planta, germinación y sobrevivencia. La semilla seleccionada (M_2) se sembró usando el método de Planta por Surco, obteniendo 800 líneas o entradas y ésta al momento de la cosecha se seleccionó en forma lineal (M_3). En esta segunda generación se evaluaron características cualitativas: tipo de crecimiento, cambios de color de la flor, vaina y semilla, precocidad y hojas diferentes; las características cuantitativas que se tomaron en cuenta fueron: número de semillas/Vaina y

por planta, número de vainas/planta, porcentaje de germinación, sobrevivencia, peso de 100 semillas y porcentaje de proteína.

Los datos obtenidos en M_1 son los siguientes: el número de semillas/vaina y por planta, germinación y sobrevivencia fueron significativas en forma inversa, por el daño que causó los rayos gamma al pasar por los cotiledones hasta llegar al embrión, principalmente en 24 y 27 Kr, pero no llegaron a sobrepasar los niveles críticos de LD_{50} o GR_{30-50}. De 15 a 21 Kr estuvieron cercanos al testigo y entre este mismo rango se encontraron el menor número de cambios deletéreos y al relacionar las características de rendimiento fueron más aceptables, se puede decir, que es el rango óptimo.

En M_2 se presentó mayor número de mutaciones génicas por que al autofecundarse se ha reducido el grado de heterocigosis (24) Volvieron a presentarse plantas cloróticas, hojas más grandes, hojas corrugadas y más ásperas pero en menos proporción, debido a la misma selección natural. Cambios de color: de la flor, de lila a blanco; de la vaina en estado maduro de verde a morado y cambios de color de la semilla de negra a morado y rojo (de 15 a 21 Kr solo en Cuarenteño); se advierte que éstas dos últimas características pueden ser regresivas en las siguientes generaciones. Plantas considerablemente más suceptibles a la roya (Uromyces phaseli) mientras que las vecinas estaban sanas.

Los datos de las características cuantitativas fueron: sobrevivencia que estuvo correlacionada positivamente en el porcentaje de germinación. Se observó que mientras aumenta la dosis después de 21 Kr hay disminución del número de vainas/planta y del número de semillas/vaina, aunque mostraron alta significancia y buena correlación. El peso de 100 semillas no tuvo

un comportamiento uniforme. Sólo Cuarenteño aumentó significativamente, observándose una dependencia con el aumento de tamaño.

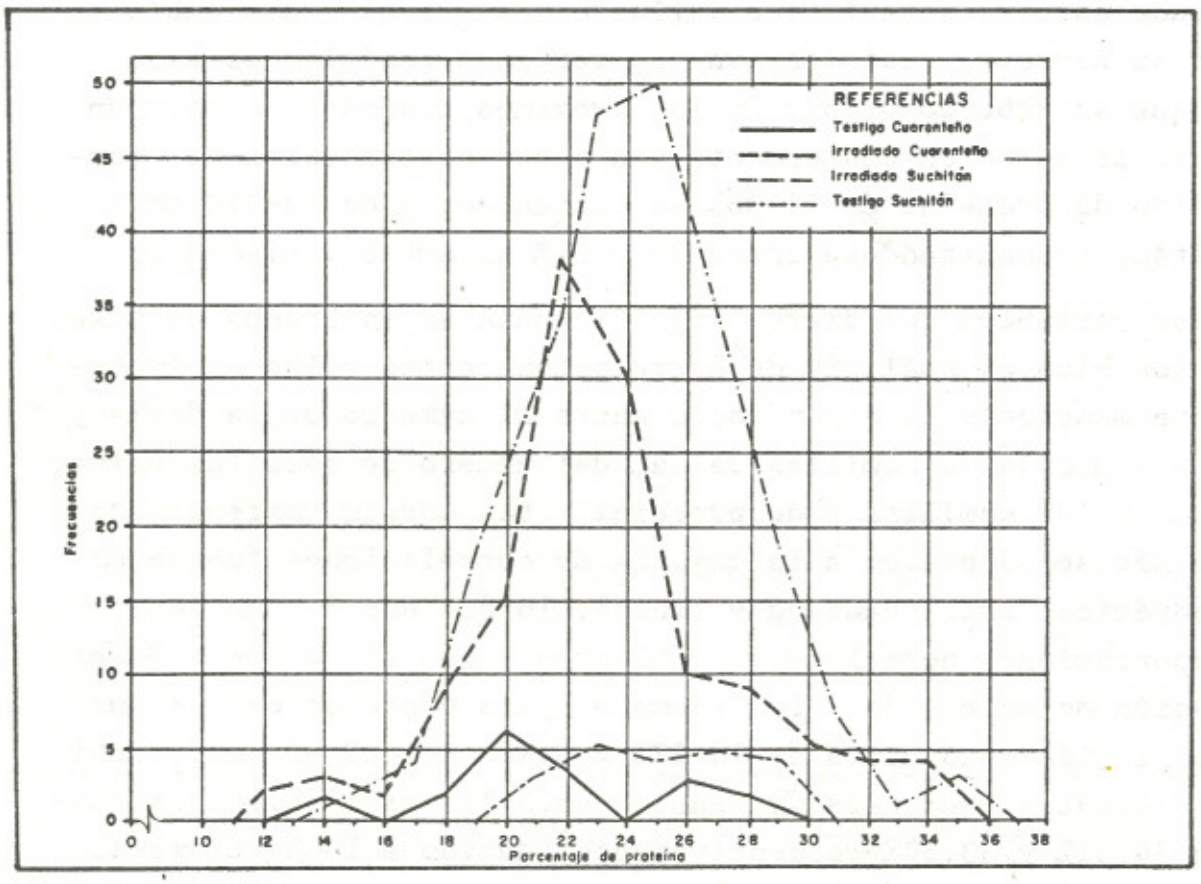
El contenido de proteína se mostró altamente significativo para ambas variedades, esta variación se debe particularmente a la dosis entre 15 a 24 Kr, a la misma conclusión se llega si se hacen comparaciones gráficas entre el testigo y cada una de las dosis irradiadas. El comportamiento de la variedad - Suchitán muestra perfectamente la relación directa entre el aumento de dosis y de mutaciones producidas, hasta cierto límite (Ver Gráfica 1). A la vez se puede determinar un incremento de 0.7394% de nitrógeno por cada intervalo de dosis. Siendo esta característica influenciada por el medio ambiente por su herencia cuantitativa- la varianza genética es alta, lo que se debe comprobar en los próximos trabajos. Provocando la irradiación básicamente una mayor distribución del contenido de proteína de 11-36% en Cuarenteño y de 13-37% en Suchitán, concentrañdose entre 20 y 24% en ambas variedades.

A las variables que dieron significancia en la Prueba de Tukey se les hizo el análisis de correlación, entre ellas es importante mencionar la dependencia entre el aumento de la dosis y la producción de semillas/vaina, del número de semillas/vaina, peso de 100 semillas y de proteína. Los modelos matemáticos que más se adaptaron a la mayoría de correlaciones fueron el cuadrático, raíz cuadrada y lineal, lo que nos da una idea del comportamiento normal de la población y que si se puede hacer presión de selección. Por ejemplo: para proteína existe una correlación cuadrática de 74.27% y Gamma del 80.9% para Suchitán; mientras que para Cuarenteño para los mismos módulos fueron 36.31% y 33.37% respectivamente, debido a la heterogeneidad genomial.

En base a lo anterior se puede concluir: Que la irradiación aguda a dosis bajas provocan en los genomas de las dos variedades cambios fisiológicos y morfológicos relacionados con el porcentaje de proteína. El rango donde se producen un alto índice de mutaciones con un mínimo efecto de letalidad es de 15 a 21 Kr, Dosis Optima. Por lo tanto, se ha podido seleccionar nuevos materiales con buenas características agronómicas y alto contenido de proteína para seguir observando su - comportamiento de segregación en posteriores generaciones.

GRAFICA 1.

DISTRIBUCION NORMAL DEL CONTENIDO DE PROTEINAS EN DOS VARIEDADES DE FRIJOL.



I. INTRODUCCION.

Guatemala es un centro importante de variabilidad natural del frijol, siendo las mutaciones espontáneas la fuente principal de esta variabilidad. Mediante el empleo de agentes mutagénicos es posible crear variación genética en poblaciones originalmente homogéneas y seleccionar en ellas características deseables, tales como: mayor producción por unidad de área, mayor cantidad y calidad nutricional y en general mejores características agronómicas. Una de ellas es el contenido de aminoácidos esenciales (metionina y cisteina) por lo que se justifica realizar investigaciones que conduzcan a la obtención de variedades de frijol con mayor contenido proteínico. Una metodología que ha demostrado llegar a estos objetivos es la inducción de mutaciones por irradiación.

La variabilidad causada por mutaciones inducidas no es esencialmente diferente a la variabilidad causada por las mutaciones espontáneas durante la evolución, por esto el uso directo de las mutaciones inducidas es de un alto valor suplementario en el mejoramiento de las especies, particularmente cuando ésta es empleada para mejorar uno o varios caracteres fácilmente identificables en una variedad. El hecho de una mutación es en realidad muy importante aún cuando tenga un efecto muy pequeño para una característica morfológica o fisiológica específica, debido a que cambia el balance establecido por la selección natural en los bloques de genes coadaptados.

Una de las principales ventajas en el empleo de mutaciones inducidas es que se puede usar el genotipo básico de

una sola variedad mejorada, en la cual surgirán nuevos individuos con características superiores que se sumarán a los ya existentes en la variedad. El trabajo posterior consistirá solo en la selección de dichos individuos, mientras que con un sistema de hibridación tradicional la variabilidad que se genere puede ser menor, el manejo poblacional más dificultoso y la obtención de nuevos materiales requerirá de mucho más tiempo para lograr el mismo resultado.

En los últimos 50 años se han descubierto nuevos agentes mutagénicos y desarrollado nuevos métodos para su uso, así mismo, ha sucedido con respecto a metodologías de selección de plantas mutagenizadas. Hay una gran diversidad de agentes mutagénicos tanto químicos como físicos. Entre los químicos están: el etil-metano sulfonato (EMS), dietil-metil sulfonato (DMS), la colchicina, etc. Entre los físicos: la luz ultravioleta, protones y neutrones rápidos, radiaciones ionizantes (rayos Gamma, rayos alfa y rayos X) y partículas alfa y beta. Cada uno de estos tipos de radiación tienen en común la propiedad de originar descargas discretas de energía, llamadas ionizantes o pares de iones, a medida que pasan a través de la materia.

El frijol común (Phaseolus vulgaris L) es una leguminosa de gran importancia en América Latina, por su alto valor alimenticio, económico e histórico, siendo esta zona la de mayor producción a nivel mundial. En Guatemala su importancia es mayor pues, debido al alto costo de la proteína de origen animal es parte esencial en la dieta de la población de escasos recursos económicos, ya que por ser una dicotiledónea sus cotiledones epígeos son una reserva de considerables cantidades de proteína (20 a 24%), con --

un alto valor biológico (70%) y un alto contenido de calorías.

Es por ello que esta especie fue seleccionada para el presente estudio, porque además de ser un alimento básico, como se menciona anteriormente, es de corto ciclo de vida, forma de polinización autógama y características genéticas diversas.

Como agente mutagénico para este trabajo se usaron diez distintas dosis de radiación gamma emitidas por una fuente de Cobalto-60 sobre dos variedades de frijol común.

II. OBJETIVOS.

1. OBJETIVOS GENERALES:

1.1. Obtener experiencia y recopilar información para el uso de radiaciones en el mejoramiento de cultivos, un campo de investigación relativamente nuevo en Guatemala.

1.2. Proporcionar material básico vegetal para futuros trabajos en el mejoramiento integral del frijol.

2. OBJETIVOS ESPECIFICOS:

2.1. Evaluar la variabilidad generada por las distintas dosis de irradiación, tanto en la morfología como en el comportamiento de las plantas durante las dos primeras generaciones.

2.2. Determinar el contenido de proteína total en todos los materiales de la segunda generación M_2, a través del método Micro-Kjeldahl con el fin de obtener materiales mejorados.

2.3. Obtener materiales genéticos con características morfológicas superiores relacionadas con el rendimiento y con el contenido de proteína.

III. HIPOTESIS.

1. Las distintas dosis de irradiación Gamma de Co-60 provocan en los genomas de las dos variedades de frijol cambios morfológicos y fisiológicos relacionados con el porcentaje de proteína total.

2. Existe una dosis óptima de irradiación con la cual se induce un mayor número de mutaciones favorables al fitomejoramiento.

3. En una población cuya variabilidad ha sido generada por irradiación Gamma es posible seleccionar individuso con mayor contenido proteínico.

IV. REVISION BIBLIOGRAFICA.

MUTACIONES.

Mutación es una característica a veces heredable proveniente de un cambio en el material genético, que provocará un cambio en la expresión fenotípica del caracter. Es un importante proceso biológico en la evolución y en el mejoramiento de plantas y animales. La mayoría de las mutaciones aparentemente surgen como resultado de un apareamiento incorrecto o de errores similares en la replicación del ADN, algunas veces debido a la ocurrencia de una forma inestable o tautomérica de una base y del apareamiento incorrecto a lo cual esto conlleva.

1. TIPOS DE MUTACIONES.

Las mutaciones pueden ser clasificadas dentro de las siguientes categorías:

- Mutaciones del Genoma.
- Mutaciones Cromosómicas.
- Mutaciones Génicas.
- Mutaciones Extranucleares.

1.1. MUTACIONES GENOMIALES:

Son arreglos en el genoma (conjunto de cromosomas de la especie), los casos que se presentan son:

1.1.1. Poliploidía.

1.1.2. Gaploidía.

1.1.3. Aneuploidía.

La poliploidía es común en las especies fanerógamas. Las células o tejidos autopoliploides se forman con facilidad después de un tratamiento con ciertos productos químicos como colchicina u óxido nitroso, --

mientras que las formas alopoliploides o anfidiploides surgen después de la hibridación de diferentes especies y de la formación de gametos no reducidos (16).

Kasha y Kaom (16), han obtenido un promedio de 51.5% de semillas haploides inducidas a continuación de cruces entre Hordeum vulgare, diploide y Hordeum bulbosum diploide; a medida que las semillas haploides mostraban síntomas de aborto después de 10 días de crecimiento, se usaron técnicas de cultivo de embriones para obtener las plantas haploides.

1.2. MUTACIONES CROMOSOMICAS.

Los cambios en el orden lineal de los genes están comunmente asociados con rupturas de los cromosomas, los cuales se agrupan en cuatro categorías:

1.2.1. Translocaciones.
1.2.2. Inversiones.
1.2.3. Duplicaciones.
1.2.4. Deficiencias.

1.3. MUTACIONES GENICAS O DE PUNTO.

Son cambios submicroscópicos dentro de la estructura fina del locus de un gen o cistrón. Como se sabe, la información genética es almacenada en cadenas de polinucleótidos que forman la estructura de doble hélice de ADN para los organismos, excepto en virus que es únicamente el ARN. En la síntesis de proteína una secuencia de tres nucleótidos (un codón o tri

plete) generalmente codifica un aminoácido particular, cualquier cambio en uno de los componentes del codón, produce otra clave por lo que la enzima será diferente para sintetizar a un aminoácido diferente. De acuerdo con la taxonomía de Drake (1970) las lesiones mutacionales pueden dividirse en las siguientes categorías:

a. Microlesiones:
   Sustituciones del par de base, transiciones y -- transversiones (a nivel de par de bases), mutaciones por inserciones o eliminaciones de pares de bases.

b. Macrolesiones:
   Eliminaciones, duplicaciones y rearreglos.

1.4. MUTACIONES EXTRANUCLEARES.

Diversos estudios demuestran que existe alguna forma de herencia relacionada con el citoplasma y, por lo menos parcialmente, independiente del núcleo (Oenothera, Lineum, Zea). También se ha encontrado que la herencia en musgos y levaduras, en algunos casos, tienen influencia citoplasmática. En Drosophila y Paramecium muestran que la herencia citoplasmática también es factor de la herencia en los animales.

Las características controladas por el citoplasma incluyen la esterilidad masculina, diferenciación sexual, formación de clorofila y también diferencias de altura y vigor (Michaelis, 1954). Algunas propiedades, como la esterilidad masculina son de importan

cia fundamental para el mejoramiento de plantas. Un aspecto fascinante de la mutación citoplasmática se inició con los descubrimientos en maíz y es la especie que más atención ha recibido en este tipo de trabajos.

Róbbelen (4), irradió con rayos X semilla de Trifolium y determinó que las mutaciones se habían producido en los plastidios. La generación M_1 se analizó mediante muestras intraindividuales y cruzamientos correlacionados, pudiéndose presentar cambios de coloración de las hojas determinados por el plasmon.

2. ORIGEN DE LAS MUTACIONES.

2.1. MUTABILIDAD ESPONTANEA.

Es obvio que la variabilidad para las características cuantitativas que se pueden encontrar en una población debe derivarse del proceso de mutación espontánea y se ha suministrado bastantes evidencias de la mutabilidad espontánea responsable de cambios en caractes cualitativos. Las mutaciones espontáneas ocurren en cualquier gen, en cualquier célula y en cualquier momento, siempre en una forma aleatoria.

Como las mutaciones son eventos aleatorios y raros, pero recurrentes es posible buscar evidencia de ellas en familias, progenies y tanto en poblaciones de laboratorio como naturales. En los humanos y otros organismos diploides las mutaciones más fáciles de detectar son dominantes porque el alelo mutante se expresa aún en heterocigotas.

East en 1935, encontró en tabaco un incremento espontáneo inesperadamente alto de la variabilidad genética para muchas características cuantitativas en materiales especiales obtenidos mediante diploidización de haploides y por lo tanto se esperaba que fueran de alta fecundidad.

2.2. MUTABILIDAD INDUCIDA.

En los últimos 30 años se han obtenido resultados - exitosos en trabajos de inducción de mutaciones. - Esto es posible porque la irradiación cambia en general solamente ciertos aspectos de los caracteres genéticos de la planta. El método puede producir los resultados deseados con mayor rapidez que los métodos tradicionales (17). Hasta ahora se han cultivado en gran escala más de 100 variedades de plantas mutagenizadas. Desde su descubrimiento por Roentgen en 1895, los rayos X se utilizan en muchos experimentos biológicos, limitados, sin embargo, al estudio de las respuestas morfológicas y fisiológicas de los organismos. La posibilidad ofrecida por los agentes mutagénicos para inducir nueva variabilidad genética es de sumo interés, en muchos casos puede ser la única respuesta a problemas que se la presentan al fitomejorador. El hecho de una mutación es en realidad muy importante, aún cuando tenga un efecto muy pequeño para una característica morfológica o fisiológica específica debido a que cambia el balance establecido por la selección natural en los bloques de genes coadaptados y por lo tanto ofrece nuevas situaciones para la selección natural o artificial.

La variabilidad genética inducida ha provocado también ser adecuada para la selección artificial de características cuantitativas y cualitativas específicas. Aparte del interés en la aplicación genética, la inducción de mutaciones junto con las mutaciones espontáneas, han hecho un gran trabajo en esclarecer problemas relacionados a la estructura del gen y su función, organización cromosómica y mecanismos, localización de genes en los cromosomas, efecto de la dosis en el gen, efectos de posición, etc. (9). En muchos países existen en cultivo docenas de mutantes, por ejemplo, los cereales de tallo corto y rígido de alto rendimiento. En Suecia, la cebada "Erectoide" con paja más dura y de espigas compactas. (17).

Los principios más importantes en el fitomejoramiento mutacional, son los siguientes.

a. Una mutación es inducida en una sola célula y expresada en la progenie de esa célula.

b. La expresión de una mutación es influenciada por su naturaleza genética y el sistema de propagación de el organismo.

c. La frecuencia mutacional determina el número de células de la progenie que han sido examinados para detectar una mutación en particular. (4).

Cuando la expresión de la mutación es influenciada por su naturaleza genética y su forma de reproducción las mutaciones dominantes se expresarán como heterocigotos, mientras puedan ser detectadas en la generación M_1 como quimeras provenientes del tratamiento de

un órgano multicelular, tales como semillas y yemas o como individuos homocigotos y órganos provenientes del tratamiento de células individuales. Mutaciones recesivas solamente serán expresadas como homocigosis o hemicigosis. Cuando diploides homocigotos dominantes son mutagenizados, mutantes recesivos serán solamente expresadas después de autofertilización. Ellas pueden ocurrir en la M_2 seguidamente de la autofertilización de plantas M_1. Las especies autoincompatibles de M_2 individual permitirá su expresión en la generación M_3 y mutantes recesivos inducidas en heterocigotos se expresarán como quimeras homocigóticas en la M_1 o como planta completa en M_2. (4).

3. RADIACION MUTAGENICA.

Los átomos con el mismo número atómico pero con peso másico diferente se llama ISOTOPOS, algunos de ellos tienen su núcleo inestable y emiten radiación, ISOTOPOS RADIACTIVOS, RADIOISOTOPOS o RADIONUCLEIDOS; otros isótopos o nucléidos tienen el núcleo estables y no emiten radiaciones espontáneamente y se les denomina ISOTOPOS ESTABLES. La primera práctica de una substancia radiactiva como "trazador" la realizó George de Hevesy, uno de los precursores del empleo de los materiales radiactivos, principalmente para investigaciones biológicas y químicas.

3.1. FUENTES DE RADIACION.

Actualmente se cuenta con varias fuentes de radiaciones ionizantes, tales como rayos "X", Gamma, partículas Alfa y Beta, Protones y Neutrones, además de la

ultravioleta, aunque ésta última no es una radiación ionizante de las longitudes de onda comunmente empledas, pero su uso frecuente en la inducción de mutaciones se le considera en este grupo. Cada una de éstas radiaciones tiene sus características de energía llamadas QUANTOS, ionizaciones o pares de iones que pasan la materia ya sea en menor o mayor facilidad y porcentaje. Las características y su uso de los diferentes tipos de radiación se presentan a continuación:

3.1.1. RAYOS "X":

Los rayos X, Gamma y la Luz Ultravioleta se diferencian por su longitud de onda (10 y - 0.001 nm para rayos X y Gamma respectivamente en comparación con dos o tres mil nm para Luz Ultravioleta) determinan la poca similitud - que existe en su uso práctico. Es deseable usar máquinas que produzcan radiaciones de - onda corta (rayos X duros) ya que su penetración es mayor que la de los rayos X de longitud de onda más larga (16).

Casi inmediatamente después que se descubrió la acción mutagénica de éstos se obtuvo un - mutante de tabaco del tipo Clorina, que se aisló y se usó para la producción de un híbrido F_1 en donde la característica del tipo clorina, deficiencia en clorofila, confiere cierta calidad especial a la hoja del tabaco en su beneficiado, (4).

3.1.2. RADIACIONES GAMMA:

Estos radioelementos tienen una longitud de onda menor que la de los rayos X, que los hacen tener mayor energía por fotón. Son radiaciones de naturaleza electromagnética de longitud de onda entre 10^{10} y 10^{-13} metros, velocidad de propagación de orden 3×10^{8} m/seg. energía comprendida entre 10^{4} a 10^{7} e.v. (equivalente voltio). Entre los nucleidos típicos son el Co-60 y Ce-137, éste último tiene una vida media muchos más grande que el cobalto. Las fuentes de rayos gamma tienen una ventaja para tratamientos prolongados ya que pueden ser colocadas en un invernadero o en el campo de modo que las plantas puedan exponerse a las irradiaciones a medida que se desarrollan por períodos de tiempo prolongados. En la naturaleza el Co-60 se encuentra como Co-59, con un número atómico de 29 y es estable, para convertirlo en nucleido se le hace pasar por fotones o rayos gamma en reactores.

Sarafi en Irán, analizó el contenido de proteína en 6 mutantes de M_3 de dos variedades de frijol, las cuales eran altamente productivas y sus resultados fueron:

a) Algunos mutantes tienen un mayor y menor contenido protéico y semillas más grandes en comparación al testigo.
b) Hubo una correlación positiva y siginificante entre el porcentaje de proteína y el

peso de las semillas de los mutantes (1).

Según B. Donini (9), las mutaciones génicas y cromosómicas pueden ser inducidas por radiaciones ionizantes. Menciona también que las radiaciones ionizantes y mutágenos químicos inducen tanto cambios en genes como cromosómicos, sin embargo, las radiaciones inducen una proporción relativamente mayor (o mucho más grande) en los rearreglos cromosómicos que mutaciones génicas, la mayoría de químicos inducen mutaciones génicas.

3.1.3. RAYOS ULTRAVIOLETA:

Estos tienen una penetración muy limitada en los tejidos, de modo que su uso en experimentos de genética se restringe al tratamiento de esporas o granos de polen. Sin embargo, el uso creciente de células y tejidos en el fitomejoramiento mediante mutaciones podría originar un aumento en su uso, especialmente cuando se trabaja con características controladas por genes individuales (16). La absorción de la luz ultravioleta depende en gran parte de la estructura molecular, las longitudes de onda en el rango de 2500 a 2900 nm son biológicamente más efectivos, ya que es la región de máxima absorción de luz por los ácidos nucleidos.

3.2. RADIOBIOLOGIA.

Los protones de los rayos Gamma y los rayos X, son absorbidos por la materia a través de un proceso donde parte o toda la energía del fotón es transformada en energía cinética de un electrón. El electrón a su vez pierde su energía por interacción con átomos y moléculas, las cuales emiten entonces electrones secundarios.

3.2.1. EFECTOS QUIMICOS DE LAS RADIACIONES IONIZANTES:

En el proceso de ionización se originan iones radicales positivos y electrones libres. En el sistema biológico el electrón es atrapado en los alrededores polares y hay tiempo para el ión radical, el cual es inestable y radioactivo, reaccione con otras moléculas o pase a través de rearreglos internos. En estado sólido donde los movimientos moleculares son restringidos, los radicales inducidos por radiaciones son estables, este es el caso en semillas de bajo contenido de agua. Si el contenido de humedad de las semillas aumenta los radicales se deterioran (Enreberg, 16).

3.2.2. DAÑOS AL ADN:

Las radiaciones producen cambios químicos, ya sea en solución o en estado sólido, pudiéndose determinar la liberación de fosfatos y bases. Las radiaciones ionizantes inducen un gran número de diferentes tipos de cambios -

químicos, cuestión que ha hecho difícil precisar cuáles son las más importantes biológicamente, a esto se añade el hecho de que el espectro original de cambios químicos puede ser modificado por reparación enzimática (19).
La radiación ionizante parece ser el único agente que puede inducir rupturas dobles de cordón por un evento de un sólo golpe, es decir, las rupturas dobles del cordón se forman en cantidades significativas a bajas dosis (16).

3.3. DOSIMETRIA.

3.3.1. DOSIS ABSORBIDA:

En biología cuando se trabaja con radiaciones es deseable relacionar el efecto biológico observado con una cantidad física bien definida que pueda ser fácilmente medible. Generalmente se acepta que es "DOSIS ABSORBIDA" la que mejor satisface esta demanda, y se defina como la cantidad de energía absorbida por unidad de masa irradiada" (ICRU 1964-1971, 2).
Esto se refiere a cualquier radiación ionizante donde la unidad de dosis es el Rad.

1 rad = 100 er/g = 10^{-2} joule/kg.

Es decir, que la unidad de radiación absorbida, establecida por la Comisión Internacional de Protección contra las radiaciones es el RAD, que corresponde a la absorción de 100

ergios de energía radiante por gramo de material irradiado (10). Yunkalov et. al., al - demostrar que la determinación de una correlación directa entre dosis y el porcentaje de mutaciones no quiere decir que se pueda aumentar indiscriminadamente la misma, para obtener un porcentaje mayor de mutaciones, ya que esto está en dependencia de la mayor o menor sensibilidad de las variedades empleadas y la menor efectividad de las dosis más altas (29).

3.3.2. EXPOSICION:

En la mayoría de casos, la dosis absorbida no se mide directamente, sino que se calcula midiendo el número de iones producidos en el - aire por la radiación esta medición se le conoce como "EXPOSICION". La unidad especial de Exposición es el "roentgen" (R)
dode: $1R = 2.85 \times 10^{-4}$ Coulomb/kg aire.

Las unidades usuales de la taza de exposición son R/hr, R/seg.

3.3.3. CONVERSION DE ROETGEN/RAD:

La dosis absorbida, D, en un punto en el aire que tenga una exposición uniforme de determinados roentgens de radiación X o Gamma es de 0.87xrads (ICRU).

La dosis absorbida por otro material sometido a la misma exposición se puede calcular por:

$$D = fx$$

Donde f es el factor de conversión rad/R, este factor depende del material irradiado y de la energía de la irradiación. Para el agua y las radiaciones gamma originadas del Co-60 el factor f es igual a 0.965 (ICRU).

4. IRRADIACION EN LAS PLANTAS.

Todas las partes del vegetal pueden ser irradiadas por cualquier método ya sea semillas y polen, partes tradicionales a ser irradiadas, plantas enteras, cortes, tubérculos, cormos, bulbos, estolones y células de tejidos u órganos mantenidos en cultivos especiales. Al aplicar mutagénesis en plantas propagadas por semillas presentan problemas y métodos muy diferentes a aquellas plantas de propagación vegetativa por la forma diferente de reproducción y grado de heterocigosidad.

4.1. PLANTAS ENTERAS:

Las plántulas se irradian fácilmente en la mayoría de las máquinas de rayos X o con fuentes de rayos gamma (Sparrow) ubicadas en un invernadero o en una sala protegida. Sears, irradió plantas en floración con rayos X antes de la meiosis y consiguió transferir resistencia a la roya de Aegilops umbellulata hacia el trigo común (28).

4.2. SEMILLAS:

Las semillas son el material favorito para la irradiación en muchos experimentos de mutaciones y en trabajos de mejoramiento. Nilán et. al. (1961), han

señalado las ventajas del uso de las semillas, las cuales pueden aplicarse a la mayoría de especies, a saber:

4.2.1. Pueden irradiarse en ambientes físicos que por lo general son únicamente tolerantes por células no vivas.

4.2.2. Se pueden mantener al vacío por largos periodos de tiempo.

4.2.3. Pueden ser desecadas, remojadas, calentadas o congeladas.

4.2.4. También en lugares sin oxígeno o bajo grandes presiones de oxígeno y otros gases.

4.2.5. Mientras están secas, son biológicamente inertes y los cambios ambientales severos señalados no alcanzan a provocarles daños biológicos significantes, también pueden manejarse y transportarse a grandes distancias.

Tulmann Neto, considera que el empleo de semillas - ofrecen un gran número de ventajas, esto no significa necesariamente que sea el mejor método para la inducción de mutaciones. Considera que, particularmente no habrá quimeras, pudiéndose esperar altas frecuencia de mutaciones (28). Briggs reporta que las semillas de maíz son más tolerantes que las de cebada al humedicimiento en agua y al resecado posterior. por lo tanto, probablemente existan diferencias entre las especies en cuanto a su respuesta al humedecimiento de la semilla. Sarafi, concluyó que la longitud del epicotilo y del hipocotilo de la raíz dis-

minuye con la intensidad de los rayos (29).

4 3. GRANOS DE POLEN:

El uso de granos de polen presentan una gran ventaja en relación a la irradiación de semillas o plantas en crecimiento y es el hecho de que raramente producen quimeras. Las plantas M_1 resultantes de la fertilización con polen irradiado serán completamente heterocigotas para cualquier mutación (16). La gran desventaja es que es dificultuoso en algunas especies obtener material suficiente y por la corta viabilidad. Brewbaker y Emery, compararon la radiosensibilidad del polen basándose en su germinación del polen y en los efectos de la desecación (oxígeno y temperatura), describen los tipos de rupturas cromosómicas encontradas después de la irradiación y los efectos del almacenamiento del polen sobre la frecuencia de aberraciones.

4.4. MERISTEMOS:

La irradiación de la semilla consiste esencialmente en un tratamiento de meristemos embrionales, éstas son importantes para los tratamientos mutagénicos de semillas, puesto que determinan si una célula mutada se perderá durante la diferenciación o producirá suficientes progenies celulares al ser encontrados a través de la planta que incluye tejido germinal. - Las semillas de muchas especies tienen embriones - bien diferenciados, por ejemplo, los de la semilla madura del maíz tiene más de 5 hojas primordiales,

depués de la yema axilar y el número de células meristemáticas apicales se han estimado en cinco o - seis (30).

4.5. CELULAS Y/O CULTIVO DE TEJIDOS:

El uso de ambos ofrecen aplicaciones potenciales - atractivas en el fitomejoramiento por mutaciones. - Carlson (1974), trató células haploides de Nicotiana tabacum con Etil-metanosulfanato (EMS), a partir de las cuales fue capáz de aislar mutantes Auxotrópicos. Muchos investigadores han utilizado la misma especie con buenos resultados.

5. CONDICIONES DE TRATAMIENTO.

5.1. RATA DE DOSIS:

Lógicamente, ésta es una de las variables más importantes tanto cualitativa como cuantitativamente, por lo que debe ser cuidadosamente seleccionada y controlada en todo experimento, el cambio de efectividad en un mutagénico con el aumento de la dosis tiene - gran importancia por que eso determina su efectividad biológica. La efectividad menor de las dosis altas se debe al hecho de que en ellas el porcentaje de plantas que mueren aumenta rápidamente, por lo - que se pierden muchas mutaciones (29). Además, concluye que la dosis óptima para cada variedad debe - ser aquella que produzca una supervivencia tal que permita la conservación de un alto porcentaje de mutaciones, a fin de lograr la máxima efectividad mutagénica. Matsumura en 1964 (16), encontró en el caso

de las mutaciones clorofílicas, que había una clara dependencia entre el rango o rata de dosis y la frecuencia de esos mutantes en algunos experimentos con arroz y trigo. En estos experimentos las irradiaciones agudas mostraron en general una frecuencia de mutaciones más alta que las irradiaciones crónicas y que los tratamientos agudos aplicados precisamente antes de la siembra, incrementaban las frecuencias mutacionales en relación lineal con la dosis, (Ver sección 5.2).

5.2. IRRADIACION AGUDA Vrs. CRONICA:

Una exposición será crónica cuando es contínua durante largos periodos de tiempo, generalmente durante todo el desarrollo de la planta y las exposiciones realizadas en minutos o en pocas horas son agudas. Todos los datos disponibles sobre el efecto genético de la irradiación aguda y crónica del estado diploide de la planta, semilla o bulbos muestran que situaciones quiméricas son obtenidas. Según Moh y Alan (21), a través de muchos resultados experimentales han mostrado que cuando las plantas son expuestas a irradiación crónica, la frecuencia de mutaciones inducidas es menor en comparación a la obtenida en - irradiación aguda, por lo tanto, parece que la irradiación crónica no es tan efectiva como la aguda - (19, 21, 22 y 28).

Estudios comparativos llevados a cabo en Japón, sobre los efectos de dosis crónicas y agudas de crecimiento, sobrevivencia, fertilidad, rendimiento e inducción de mutaciones después del tratamiento en -

plantas y semillas con rayos X y Gamma. Las irradiaciones agudas de semillas pueden ser más efectivas en inhibir el crecimiento y reducir la sobrevivencia y fertilidad, debido al fenómeno de recuperación a bajas intensidades de radiación con irradiación crónica (Fuji y Matsumura, 16), además, todas las inflorescencias o flores simples de las plantas M_1 son generalmente homogéneas en sentido genético, completamente una gran población puede ser analizada o todas las mutaciones inducidas son fácilmente aisladas en M_2 debido al gran número de plantas mutantes (9). Konzak y Singleton, irradiando polen y Smith et. al. irradiando semillas, demostraron que la frecuencia de mutaciones inducidas por las radiaciones ionizantes pueden ser directamente proporcionales a las dosis. Tal resultado puede esperarse si las mutaciones así inducidas son causadas por eventos de un "Evento Simple", como deficiencias o delecciones simples de los cromosomas o si son las llamadas mutaciones de punto las cuales se supone sean también eventos simples.

6. SENSIBILIDAD A LA RADIACION Y FACTORES MODIFICADORES.

La respuesta de las células de plantas superiores a los agentes mutagénicos físicos y químicos resulta influenciada en un grado variable por numerosos factores biológicos, ambientales y químicos. En un experimento con irradiación en frijol tanto aguda como crónica, Moh y Alan, discutieron que cuando la planta es expuesta a radiación crónica durante todo su ciclo vegetativo, el desarrollo de las mismas puede ser dividido en tres partes, pueden tener

radiosensibilidad diferencial afectando el rendimiento de mutaciones, (Ver Cuadro 1).

a. De la germinación de la semilla a la esporogénesis.
b. De la esporogénesis a la fertilización.
c. De la fertilización a la semilla madura.

Los factores importantes en relación a la radiosensibilidad de las semillas no son necesariamente los mismos que deben ser considerados en relación a tejidos vegetales - que se encuentran en crecimiento activo. Los factores - que modifican la respuesta de las semillas a las radiaciones pueden ser agrupadas en dos categorías principales:

i. Factores Ambientales.
ii. Factores Biológicos.

6.1. FACTORES AMBIENTALES:

6.1.1. OXIGENO:

Es un factor modificador muy importante del efecto biológico. El mecanismo mediante el cual el oxígeno acentúa el daño biológico y en consecuencia genético envuelve la interacción entre radicales libres inducidos por radiación y el oxígeno dando origen a productos radioquímicos altamente reactivos y dañinos.

En general, la mayor eficiencia mutagénica - (menos daño en términos al daño en las plántulas y aberraciones cromosómicas en relación a la frecuencia de mutaciones) pueden ser obtenidos si los efectos del oxígeno son minimizados. Lo anterior se puede lograr irradiando

CUADRO No. 1.

Radiosensibilidad de algunas especies a la irradiación con rayos gamma y con neutrones rápidos.

GENERO	ESPECIES	NUMERO DE CULTIVARES PROBADOS[b]	RANGO DE GR_{50}[c] (Krad)	N_{rap}	RANGO DE DOSIS APROVECHABLE EN EL MEJORAMIENTO POR MUTACIONES (Krad)	N_{rap}
Gramineae	Avena sativa	9	20-35	0.8-1.2	10-25	0.3-0.6
	Hordeum vulgare	32	25-40	0.8-14	10-25	0.3-0.6
	Oryza sativa					
	(a) Japónica	28	20-30	2.0-2.8	12-25	1.2-2.0
	(b) Indica	19	25-35	2.5-3.4	15-30	1.5-2.5
	Secale cereale	6	20-30	-	10-20	-
	Sorghum vulgare	5	35-45	1.1-1.5	20-30	0.4-0.7
	Triticale	9	20-30	-	10-25	-
	Triticum aestivum	34	20-35	1.6-2.4	10-25	0.4-0.7
	Triticum durum	7	20-30	1.4-1.9	10-25	0.4-0.7
	Zea mays	12	20-40	-	15-30	-
Solanaceae	Capsicum annum	2	30-40	-	15-25	-
	Lycopersicum esculentum	6	50-60	1.8-2.8	30-40	1.0-2.0
	Nicotiana tabacum	5	40-50	-	20-35	-
	Solanum tuberosum	4	40-60	-	20-40	-
Cruciferae	Brassicanapus oleifera	2	120-140	-	70-100	-
Chenopodiaceae	Spinacia oleracea	2	35-50	-	15-30	-
Umbelliferae	Daucus carota	4	30-40	-	15-25	-
Liliaceae	Allium cepa	3	20-30	0.8-1.1	10-20	0.4-0.6
Cucurbitaceae	Cucumis melo	2	35-50	-	15-30	-
	Cucumis sativus	3	40-60	1.6-2.2	20-35	0.6-1.0
	Cucurbita maxima	4	40-60	-	20-35	-
Leguminosae	Arachis hypogaea	7	35-45	2.2-2.8	20-30	1.0-2.0
	Cajanus cajan	3	15-24	2.5-3.5	8-14	1.0-2.0
	Cicer arietinum	4	18-26	3.5-5.0	12-18	2.0-3.0
	Glycine max	14	15-30	2.0-4.0	10-20	1.0-1.8
	Lens esculenta	3	16-25	0.9-1.4	10-17	0.5-1.0
	Lupinus albus	2	30-40	2.0-3.0	15-35	1.0-1.5
	Medicago sativa	2	75-90		40-60	-
	Melilotus albus	2	80-100	-	50-70	-
	Phaseoltus aureus	4	65-100	5.0-7.5	40-70	3.0-4.5
	Phaseoltus lunatus	3	9-16	1.6-2.7	5-10	0.7-1.6
	Phaseoltus vulgaris	16	15-30	1.7-2.7	8-15	0.9-1.7
	Pisum sativum	11	10-27	0.7-1.5	6-18	0.3-0.7
	Vicia faba major	4	4-6	0.12-0.18	2-4	0.05-0.1
	Vicia faba minor	8	8-14	0.3-0.4	4-8	0.2-0.35
	Vignia unguiculata	5	30-50	2.0-4.0	15-25	1.2-2.5

a. Fuente: H. Brunner, IAEA, Laboratorio de Seibersdorf. (16).

b. Rango de radiosensibilidad del número respectivo de cultivos.

c. GR_{50} = Reducción del 50% del crecimiento de altura de plántulas después de la radiación aguda de semillas latentes homogeneizadas a 13% de humedad con radiación gamma de Co-60 y con Neutrones rápidos derivados de la irradiación de semilla en el SNIF (Standard Neutron Irradiation Facility) de el Astra Swimming Pool Type Reactor.

la semilla en una atmósfera anóxica (nitrógeno o vacío parcial) o ajustando el contenido de agua entre un rango de 12 y 14%.

6.1.2. CONTENIDO DE AGUA:

Este es el factor secundario más importante, varía grandemente pero también es uno de los más fáciles de ajustarlos. Bajo condiciones atmosféricas normales una semilla en reposo con un contenido de humedad menor del 14% aumenta en sensibilidad a las radiaciones X y Gamma. Esto pudiera significar la diferencia entre seleccionar una dosis mutagénica efectiva, una dosis demasiado baja para inducir mutación alguna o una dosis muy alta, originándose una excesiva esterilidad o una muy baja sobrevivencia (16).

Para alcanzar la repetibilidad en experimentos de radiación es esencial controlar, determinar y reportar el contenido de humedad de las semillas especialmente cuando se trabaja con rayos X y rayos Gamma.

6.1.3. TEMPERATURA:

La temperatura de las células vegetales antes, durante y después de la irradiación puede afectar la cantidad total del daño genético inducido por los rayos, sin embargo, el efecto de la temperatura como un factor modificador del daño por las radiaciones, no está claramente

entendido y parece ser muy poco importante para el fitomejorador.

6.2. FACTORES BIOLOGICOS.

Las diferencias varietales y genéticas son los factores biológicos más importantes a considerar en la inducción de mutaciones, aunque hay que considerar siempre el volumen del núcleo y de los cromosomas en Interfase. En el primer grupo, las diferencias en radiosensibilidad entre genetipos de una misma especie han sido reportados y en algunos casos las diferencias son relativamente grandes (16), sin embargo, las diferencias en radiosensibilidad entre genotipos de una especie son usualmente mucho menores que entre especies. Por lo tanto, para los fitomejoradores, los factores del genotipo pueden probablemente ser ignorados ya que la radiosensibilidad de un cultivar en particular, usualmente deberá ser determinado por la conducción de ensayos preliminares sobre respuesta a dosis diferentes.

7. EFECTOS MUTAGENICOS EN LA PRIMERA GENERACION DESPUES DEL TRATAMIENTO DE LA SEMILLA.

7.1. DAÑOS A LA PLANTA Y LETALIDAD:

Básicamente los mutagénicos físicos y químicos ocasionan tres tipos de efectos, los cuales son de interés especial en genética y en fitomejoramiento:

a. Daño fisiológico (daño primario).
b. Mutaciones de factor (mutaciones de punto o génicas).

c. Mutaciones cromosómicas (aberraciones cromosómicas).

Las mutaciones génicas y cromosómicas pueden ser transferidas de la generación M_1 a las siguientes y los daños fisiológicos están generalmente restringidos a la generación M_1.

Las mutaciones génicas no pueden ser detectadas en la M_1 excepto cuando se usan marcadores especiales o cuando los gametos haploides son mutados. Los efectos fisiológicos son de naturaleza muy variable. Ellos representan daños que pueden ser determinados citológicamente, para los efectos de mejoramiento los tratamientos mutagénicos con bajos efectos fisiológicos y fuertes efectos genéticos son los más deseables. El daño fisiológico fija un límite práctico para incrementar la dosis. Un punto final es alcanzado con el 100% de mortandad. Es por esta razón que los mutagénicos deben ser de bajos efectos dañinos a la planta, pero altos en efectos genéticos.

En 1930, Stadler (18) en experimentos en cebada, maíz, trigo y avena, encontró que cerca del 90% de las mutaciones inducidas por los rayos X podían reconocerse en el estado de plántula y que la mayoría de ellas eran cloróticas, indicó también, que las semillas en el estado de germinación mostraban una mayor frecuencia de mutaciones que en el estado de latencia, porque los rayos X intensifican el crecimiento de los tejidos y las semillas germinadas eran más sensitivas al efecto de las radiaciones. Estas aseveraciones fueron confirmadas por Gustafson, Jean (25)

Gunter y Brow (12). Merko Yunkalov en Cuba, investigando la sensibilidad y mutabilidad en dos variedades de frijol encontraron que existe correlación inversa entre la dosis y la supervivencia, y una directa entre la dosis y el porcentaje de mutaciones cloróticas, además, encontraron una correlación inversa entre la supervivencia de las plantas en M_1 y el porcentaje de mutaciones cloróticas en M_2, así como una disminución de la efectividad mutagénica con el incremento de la dosis (29).

El daño causado en la generación M_1 puede ser medido cuantitativamente en varias formas, a saber:

7.1.1. Altura de las plantas.
7.1.2. Longitud de las raíces.
7.1.3. Emergencia bajo condiciones de campo o emergencia en laboratorio.
7.1.4. Número de espigas (inflorescencias) por planta.
7.1.5. Número de florecillas o espiguillas por espiga.
7.1.6. Número de semillas por fruto y/o por planta.

Otros daños ocasionados son el moteado de la hoja y quimeras deficientes en clorofila en forma de manchas, bandas o totales, con el aumento de dosis los valores obtenidos por cada uno de estos criterios biológicos se reducen. Para observar la letalidad aproximada de distintas dosis de rayos X se tomó las recopilaciones hechas por Gustafson y Von Wettstein - donde el porcentaje de inhibición del poder germinativo en varias especies está representado por la Dosis Letal que significa el 50% de semillas no germinadas, abreviándose, LD_{50}.

7.2. EFECTOS CITOLOGICOS:

Las mutaciones cromosómicas son cambios bien definidos, los cuales pueden ser observados en mitosis y meiosis. Rubaihayo obtuvo mutantes en frijol de cubierta de la semilla color blanco y flor blanca, menciona que estos caracteres están controlados por diferentes genes con efecto pleiotrópico. También encontró claramente que tanto el rendimiento de semilla y el porcentaje de proteína pueden ser mejorados simultáneamente. La anterior conclusión es muy sobresaliente, ya que es contraria a la situación reportada normalmente de correlación negativa (24).

7.3. ESTERILIDAD:

La reducción de la capacidad reproductiva inducida por mutaciones comprende varios fenómenos y fuentes, según Sparrow (14), estas fuentes son:

7.3.1. Enanismo severo o inhibición del crecimiento que evita la floración.

7.3.2. Las flores están formadas pero faltan las estructuras reproductivas necesarias.

7.3.3. Las estructuras reproductivas están formadas pero el polen es abortado.

7.3.4. La fertilización ocurre pero los embriones son abortados antes de la maduración.

7.3.5. Las semillas se forman pero fallan para germinar adecuadamente o mueren después de la germinación.

Lo más común es la ocurrencia de gametos no funcionales y las mutaciones cromosómicas son probablemente

el principal origen de la esterilidad inducida por mutagénicos. Como ocurre con el daño fisiológico inducido, la esterilidad puede fijar un límite práctico a cualquier probable aumento de la dosis. Según Müller el aumento de frecuencia de mutaciones está limitado por el aumento de la letalidad en M_1. Para propósitos de mejoramiento los tratamientos mutagénicos que provocan baja esterilidad y alta frecuencia de mutaciones vitales son las más deseables. Gaul y Mittelstenscheid presentaron evidencias de que la esterilidad por radiación en la M_1 es parcialmente transferida en generaciones posteriores (16)

7.4. QUIMERAS:

En la mayoría de las plantas propagadas sexualmente con un ciclo de vida corto, la inducción de mutaciones para propósitos de fitomejoramiento es preferiblemente tratar semillas, para plantas leñosas tales como coníferas, pueden tratarse las yemas, en ambos casos pueden desarrollarse plantas que están compuestas de tejido genéticamente diferente los que son llamadas "Quimeras". Después de la irradiación puede esperarse, por lo tanto, que la planta M_1 lleve una mutación solamente en ciertas partes del brote, siendo las otras partes normales o mutadas diferentemente. El fenómeno de la competición celular, primero llamada Selección Intrasómica y más tarde conocida como Selección Diplóntica (9) ha sido investigada intensamente, ya que las mutaciones son en su mayoría recesivas y son inducidas en el estado heterocigoto, ellas no son visibles en la generación tratada,

pero lo serán en M_2 como homocigotos recesivos probablemente las células referidas fueron las progenitoras de un tejido esporogénico. El quimerismo en la M_1 influye sobre la frecuencia de mutaciones descubribles por factores tales como:

7.4.1. Tamaño limitado de la progenie, cuando hay dificultades estadísticas para su medición.

7.4.2. Selección Diplóntica.

7.4.3. Selección Haplóntica.

7 4.4. Quimerismo dentro de una unidad de autopolinización (flores).

7.5. MANCHAS O RAYAS EN LAS HOJAS:

En las primeras hojas que se desarrollan de semillas irradiadas pueden observarse algunas manchas y rayas, la frecuencia de estas depende, aparentemente, de la dosis (16), aunque el origen genético de las manchas no es conocido exactamente, se han hecho algunas sugerencias al respecto, por ejemplo: Kaplan, mostró que el número de manchas foliares aumenta exponencialmente con la dosis. El valor que pueda tener el uso de manchas foliares en estudios de la acción mutagénica ha ido en aumento, Blixt et. al. mostraron una correlación estrecha entre manchas foliares en M_1 y mutaciones clorofílicas en M_2, mientras que Moutschem-Dahmen concluyó que este tipo de mutantes en M_2 pueden ser causados por mecanismos similares a las manchas en las hojas.

8. EFECTOS MUTAGENICOS EN LA SEGUNDA GENERACION.

Se puede esperar que la población M_2 esté formada por tres tipos de plantas:

8.1. Plantas con características agronómicas indeseables, éstas podrán ser desechables.

8.2. Plantas mostrando fenotipos característicos, los cuales pueden ser asociados con el incremento en la calidad y cantidad de proteína, por ejemplo, el aumento en el tamaño de la semilla.

8.3. Plantas normales, algunas de las cuales pueden llevar mutantes útiles.

La selección del grupo "b" podrán ser seleccionadas al azar o bien, plantas con características especiales (mutantes) podrán ser llevadas hacia adelante, familia M_3, para la evaluación de la cantidad y calidad de proteína, análisis bromatológicos y químicos de las mutantes (15).

9. INDUCCION DE MUTACIONES EN EL CULTIVO DEL FRIJOL.

De toda la literatura consultada respecto a los estudios de los diferentes agentes mutagénicos sobre inducción de variabilidad con esta leguminosa, todos han sido enfocados básicamente a la forma en que los agentes mutagénicos afectan al desarrollo de la planta, posibilidades de uso de las mutaciones clorofílicas para estimar mutabilidad, frecuencia de mutaciones inducidas por diferentes agentes mutagénicos, respuestas biológicas así como inducción de mutantes de color de la semilla, contenido de proteína, entre otras. A continuación se describen algunas de estas características:

9.1. COLOR DEL PERICARPIO:

Luis Delgado, trabajó con dos variedades de frijol obteniendo cambios en la coloración del episperma de las semillas, blancas y bayo, las cuales presentaron cambios en su hipocotilo, verde, y de flores blancas. El cambio de las semillas de negro a blanco probablemente se debe a:

9.1.1. Ausencia del gen básico P de pigmentación, - con o sin la presencia de los genes complementarios, y

9.1.2. Presencia del gen P y pérdida de los genes - complementarios.

Concluyó que entre estas posibilidades, la que tiene mayor probabilidad de ocurrir fue la primera, porque es menos probable que en forma simultánea todos los genes complementarios cambien a su forma recesiva (8). Moh, evaluando la efectividad de la radiación Gamma y EMS, obtuvo mutantes de color de la semilla, entre los cuales cuatro fueron inducidos por radiación Gamma y dos por EMS (23). Hussein y Disouki, en Egipto (13), seleccionaron mutantes para coloración de la testa en dos variedades de frijol con Co-60. Primero marcaron las plantas M_2 que presentaron desviaciones de color de flor respecto al testigo y cosechadas individualmente y se encontró que el color de la testa, también era diferente que las variedades progenitoras correspondientes, se fueron seleccionando durante otras dos generaciones, algunas familias eran regresivas y se eliminaron, al final se seleccionaron los mutantes diferentes en co-

lor de testa, con los mejores rendimientos, y otras características importantes en la práctica dentro y entre los mutantes fue practicada de la M_3 en adelante.

9.2. MUTANTES DE RENDIMIENTO:

La producción de semillas de la generación M_1 es muy variada en todo trabajo mutagénico. Carl Moh y Alan, trabajando con frijol, encontraron en la M_1 una gran variación, desde menos de 10 g por planta hasta más de 80 g debido a la radiación. De las semillas de mayor producción tomaron 50 semillas de cada planta, al ser cosechadas hicieron una selección con base a la capacidad de producción, la producción de cada planta fue pesada y se seleccionó solo aquellas plantas M_2 con una producción mayor que la media, siguieron una selección masal en generaciones siguientes, M_3 y M_4 (22).

9.3. MUTANTES EN CONTENIDO DE PROTEINA:

Las proteínas como un principal constituyente del valor nutritivo de las plantas en leguminosas ha entrado recientemente como un caracter de importancia en el mejoramiento de las plantas y en la inducción de mutaciones es la meta de muchas investigaciones. -- Hussein y Disouski encontraron mutantes en contenidos de proteína relativamente mayor que sus correspondientes líneas iniciales, tomaron en cuenta la cantidad de proteína por unidad de peso en la semilla, es decir, 100 g de harina. Concluyeron que el

aumento en producción de proteína por unidad de área depende parcialmente pero directamente sobre el porcentaje de proteína por unidad de peso de la semilla e indirectamente sobre el aumento de rendimiento por planta (13). Resultados similares han sido reportados en Pisum sativum por Gottchalk y Müller (12). - Muy poca información es disponible acerca del número de genes que controlan la calidad y cantidad de proteína en semilla o la frecuencia mutacional de estos genes, alguna referencia es reportada por Doll et. al. (18), quien ha inducido mutantes de alto contenido de lisina en cebada, mostrando que varios genes pueden ser mutados al producir genotipos altos en - lisina.

Para la calidad, el fitomejorador debe tomar en cuenta las posibilidades de mejorarlas dependiendo de - sus composiciones químicas y los requisitos, tanto del consumidor como el manejo y procesamiento industrial. Para determinar la calidad los exámenes deben ser rápidos, sencillos, baratos, lo suficientemente simples y requerir poco material para las primeras generaciones, para las otras generaciones; análisis químicos más vigorosos y precisos para finalizar con pruebas sobre el propósito del producto -- (aceptación del consumidor, como parte de mezcla de alimento para animales, presentación, etc.).

El anterior problema es de particular interés en leguminosas porque sus cotiledones contienen grandes cantidades de proteína. Crocomo et. al. al analizar los cotiledones de una variedad de frijol, encontra-

ron que contenía el 25% de la proteína total, la testa con 6%, la testa constituye el 10.5% y el embrión 1.5%, mientras que los cotiledones cerca del 88% del peso de la semilla (15). Para determinar la cantidad de proteína un número de métodos son disponibles basados sobre la determinación de nitrógeno (Kjeldahl, Biuret, Dumas) y algunos de ellos han sido más o menos automatizados, por lo general, el uso de estos métodos han sido un factor limitante en un programa ambicioso de mejoramiento, sin embargo, métodos más rápidos han sido ensayados por ejemplo: teñir en bandas como una significativa medida (16).

De acuerdo a Gottschalk, cuando se analiza la línea inicial y los "mutantes proteínicos", deberíamos considerar, que las deficiencias en el contenido de proteína entre genotipos analizados no se deben solamente a la genética, sino también por factores ambientales. El límite entre estos dos principios no pueden ser separados confiablemente, pero no hay duda que el contenido de proteína de la harina de la semilla puede ser cambiada considerablemente bajo la influencia de genes mutantes, tanto en dirección negativa como positiva (12). Los problemas para mejorar la calidad de proteína (rangos de aminoácidos) son diferentes. Respecto a los aminoácidos sulfurados (Metionina y cisteína) los cuales son los primeros aminoácidos escenciales limitantes del valor de la proteína en granos de legumbres.

Algunos trabajos encontraron una buena correlación entre el contenido de azufre total en la semilla y

El contenido de aminoácidos azufrados. Silbernagil (7), sugiere el incremento de la proteína es bueno alrededor del 30%, pero debe de ir acompañado de la eliminación de substancias tóxicas de esa manera aumentaría la digestibilidad y bajaría los elementos flotulantes. Gómez Brenes (11), sugiere que la prioridad debería ser dada a la selección de contenido de proteína, sus aminoácidos escenciales, así como lisina y triptófano (aminoácidos limitantes en el maíz) los cuales se combinan con el frijol en muchas dietas. Otra dieta común en Guatemala es la de arroz con frijol, la cual podría tener el mismo enfoque. Adams (7), sugiere que desde que existe una correlación negativa entre el rendimiento y el contenido de proteína, el mejorador no deberá seleccionar contenidos mayores del 22%, pero a la vez de aceptar este nivel, se debe tratar de incrementar metionina, cisteina y otros factores de la producción.

Algo muy importante a considerar es el siguiente experimento: Rubaihayo, obtuvo mutantes de alto contenido protéico, los cuales fueron definidos como aquellos mutantes que dieron mayor rendimiento de proteína por unidad de áreas que la línea inicial en base al rendimiento de la semilla estimada, fue hecha en base al tamaño de la parcela y el número de plantas por parcela (26). En algunos cereales existe una correlación entre el tamaño de la semilla y el contenido de proteína en la harina de la semilla, el grano más pequeño contiene más proteína.

9.4. TECNICAS DE SELECCION:

En la mayoría de los programas de mejoramiento las características agronómicas, son consideradas antes que la calidad, esto no quiere decir que sea el único camino, porque depende del interés del fitomejorador. El conocimiento de las características de la variabilidad inducida en las primeras generaciones después del tratamiento mutagénico es de suma importancia cuando se tiene propósitos de selección. Las poblaciones en generaciones avanzadas. serán muy grandes y óptimas para realizar selección, pero por razones prácticas serán difíciles de manejar, por lo cual se ha recurrido a la seleccción de las mismas, en generaciones tempranas. Aunque a la fecha existen algunas divergencias, pero sólo en cuanto al método de selección a seguir después del tratamiento mutagénico (23).

Sarafi, irradió 400 semillas de frijol con Co-60, en la primera generación efectuó una selección familiar, las cuales sembró por surco y al momento de la cosecha seleccionó el 10% de las líneas, es decir, una presión de selección del 40% y en todas fueron tres plantas seleccionadas, para la generación M_3 se obtuvieron 40 familias y de éstas se seleccionaron tres líneas promisorias en productividad, por último seleccionó de cada una 5 líneas para analizar el peso de la semilla y el contenido de proteína en forma completamente al azar. Dos muestras de 10 g por cada planta fueron seleccionadas para medir el porcentaje de proteína, para medir el tamaño de la semilla

fueron pesadas 100 de ellas.

Gregory, aplica la selección en M_3; Rawling, Hanway en M_2. En trigo varios investigadores la aplican en M_2. Trujillo y Méndez lo hacen para compararlos, al azar y por buen tipo agronómico (23). Rubaihayo, - irradió semilla de frijol blanco con 6 dosis de Co-60, la primera generación la cosechó en forma masal, en M_2 bajo una selección individual, según los caracteres deseados (tipo arbústico, crecimiento vigoroso y mejor rendimiento); ya cosechado, midió tamaño de la planta, número de semillas por vaina, peso de 100 semillas y rendimeinto de semillas por planta. Estas fueron sembradas en surcos (familiarmente) hasta la M_5 en bloques completamente al azar.

V. MATERIALES Y METODOS.

1. MATERIALES.

1.1. VARIEDADES DE FRIJOL:

Se emplearon dos variedades comerciales de frijol cultivadas principalmente en la región oriental de Guatemala. Estas variedades son:

A. SUCHITAN: Variedad mejorada por el ICTA. Hábito de crecimiento indeterminado-arbustivo, altura hasta 0.60 m, vaina color morado a la madurez fisiológica, floración a los 40 días, flor color lila, semillas negras opacas, tolerancia al mosaico dorado y a la roya.

B. CUARENTEÑO: Variedad muy precoz, nativa del oriente de Guatemala, crecimiento semi-arbustivo, altura 0.5 a 0.6 m, vainas color café claro, flor lila, semillas negras opacas y grandes, hojas pequeñas.

1.2. LOCALIZACION:

El experimento se realizó en los campos experimentales de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos, en la Ciudad de Guatemala. Condiciones ambientales (Ver Apéndice 1). Con una área de 1,344 m^2 para M_1 y 1,920 m^2 en M_2, contando con riego. A las dos generaciones se les hicieron las prácticas culturales comunes:

Desinfección, fertilización (uno completo al momento de la siembra y después con Urea), control de plagas y enfermedades.

1.3. IRRADIACION:

Las semillas a usar fueron estandarizadas a un 12% de humedad. Se irradiaron alrededor de 800 semillas por tratamiento en un Irradiador Dynarad 5L con un núcleo de Cobalto-60, el cual posee una actividad de 290 Krad/hora. Esta fuente se encuentra en la Dirección de Energía Nuclear del Ministerio de Energía y Minas de Guatemala.

2. METODOS

2.1. DOSIFICACION:

En estos trabajos las dosis se miden por medio del tiempo de exposición de la muestra en la fuente 1 rad es igual a 100 ergios de energía absorbida por gramo de material irradiado. Se utilizaron diez dosis diferentes de irradiación a un intervalo de 3 kr, así:

DOSIS (Krad/hr)	TIEMPO DE EXPOSICION
0	0 minutos
3	0 min. 36 seg.
6	1 min. 15 seg.
9	1 min. 52 seg.
12	2 min. 30 seg.
15	3 min. 06 seg.
18	3 min. 44 seg.
21	4 min. 21 seg.
24	4 min. 58 seg.
27	5 min. 31 seg.

Se escogieron estas dosis para observar la correlación de los efectos de una dosis con otra a intervalos constantes. Además, diversas investigaciones han demostrado que dosis mayores de los - 30 Kr/hr son mucho más dañinas a las plantas, muy pocas veces se han obtenido mutaciones con interés práctico, (Ver Apéndice 3).

2.2. PRIMERA GENERACION (M_1):

La siembra de la generación M_1 se efectuó dos días después de la irradiación bajo un diseño de Bloques al Azar, con cuatro repeticiones para cada variedad, con distancias de 0.60 m entre surcos y 0.10 m entre plantas (Ver Apéndice 2). Cada parcela estuvo formada por 4 surcos, dos de ellos de borde. A las dos generaciones se les realizó las

prácticas agronómicas convenientes. Durante el desarrollo de la planta se observaron los cambios fenotípicos de tipo fisiológicos que se presentaron con relación al testigo. Las características que se evaluaron fueron:

a. PORCENTAJE DE GERMINACION: Conteo de número de semillas germinadas en el campo a los 10 días de siembra.

b. QUIMERAS CLOROFILICAS: Número de plantas cloróticas por tratamiento, total o parcialmente.

c. HABITO DE CRECIMIENTO: En el momento de la cosecha se tomaron el número de nudos, y se clasificaron de acuerdo a las normas del CIAT (5), así:

   Tipo I = Arbustivo-determinado.
   Tipo II = Arbustivo-indeterminado.
   Tipo III = Postrado-indeterminado.
   Tipo IV = Trepador-indeterminado.

   Bajo condiciones ambientales similares, el número de nudos se puede considerar como una característica de poca variabilidad dentro de un material genético.

d. NUMERO DE SEMILLAS POR VAINA: Promedio del total de vainas de las plantas seleccionadas.

e. NUMERO DE SEMILLAS POR PLANTA: También fue - promedio en las plantas seleccionadas.

f. PORCENTAJE DE PLANTAS SOBREVIVIENTES: Tomado al momento de la cosecha, este valor fue comparado con el porcentaje de germinación para ver el grado de letalidad, es decir, la severidad de los daños causados por las radiaciones ionizantes al embrión y al desarrollo de la planta.

Es necesario mencionar que en la generación M_1 se esperaba la presencia de quimeras diferentes a las de la M_2 por lo que los parámetros a medir sólo variaron en las nuevas características observadas.

2.3. SEGUNDA GENERACION (M_2):

Se sembraron 15 semillas de cada planta seleccionada en la M_1, usando el método de Planta por Surco (16), empleándo el mismo diseño experimental y el número de repeticiones de la primera generación (Ver Apéndice 2). Las distancias de siembra fueron 0.2 m entre plantas y 0.6 m entre surcos. Cada planta M_1 seleccionada fue identificada con un número de acuerdo al tratamiento a que pertenece y a su ubicación en el surco, por ejemplo: "101-4" significa que esa planta proviene de la repetición 101 y es la planta número 4 seleccionada, identificación convencional en fitomejoramiento. Como en la M_1 se tuvieron 80 parcelas y en cada una se seleccionaron las 10 mejores plantas, para la M_2 se sembraron 800 familias o entradas.

Varios trabajos han demostrado que en la segunda generación se presenta un número mayor de mutaciones que en M_1, ésto debido a que la radiación a generado un mayor o menor grado de heterocigosis en las plantas M_1 los que al autofecundarse incrementarán la homocigosis en la M_2 haciéndo así aparecer un sin número de caracteres que en la M_1 - estaban ocultos, genes recesivos. Los parámetros a evaluar fueron similares a los de la primera - generación, pero además se evaluaron:

a. COLOR PREDOMINANTE DE LA FLOR: Siempre bajo la clasificación del CIAT:

   Tipo I = Lila.
   Tipo II = Blanca.
   Tipo III = Rosada.
   Tipo IV = Blancas con aristas lila.

b. COLOR DE LA SEMILLA:

   Tipo 1 = Negra.
   Tipo 2 = Blanca.
   Tipo 3 = Roja.
   Tipo 4 = Otro.

c. COLOR DE LA VAINA MADURA:

d. HOJAS DIFERENTES: Se refiere a hojas más grandes, corrugadas, más gruesas o ásperas.

e. PESO DE 100 SEMILLAS: Mismas semillas que se utilizaron en el análisis de proteína.

f. PORCENTAJE DE PROTEINA: De las plantas seleccionadas, por el método micro-Kjeldahl, (Ver Apeńdice 4).

2.4. METODOLOGIA DE SELECCION:

Debido a que el frijol es una planta autógama, a que se usó una irradiación aguda y a que se usó un diseño de Bloques al Azar con cuatro repeticiones, permitió hacer selección en las primeras generaciones sin que se perjudicara severamente la eficiencia en la obtención de genotipos superiores, esto confirmado por varios autores (7,9,16). Por ejemplo: Sarafi, efectuó una selección familiar en M_1, una presión de selección del 10% en la M_2 y en M_3 seleccionó 3 líneas promisorias de las 40 familias.

Lo anterior también se hace para reducir el efecto de pendiente y problemas de error estadístico. En M_1 se seleccionaron individualmente las 10 mejores plantas en los dos surcos centrales de cada parcela y 15 semillas de cada una se sembraron en un surco, teniendo de esa manera 800 familias. Esta selección se realizó, Planta por Surco, porque el frijol no tiene una dominancia apical considerablemente más alta que los ápices laterales que pudiera afectar un mayor porcentaje de mutaciones en los primeros primordios y porque existieron casos de plantas con pocas semillas producidas, (16).

En cada una de las 800 líneas se cosecharon toda la semilla de las plantas que presentaron apariencia normal, es decir, que toda planta virótica o severamente dañada por enfermedades o plagas fueron eliminadas. Aquellas mutaciones específicas dentro de una línea, como cambio de color del grano, tamaño de hoja, cambio de color de vaina, también fueron cosechados separadamente del resto de las plantas. (Gráfica 1).

2.5. ANALISIS DE PROTEINA:

El contenido de proteína puede estimarse a través del contenido de Nitrógeno Total, el cual se medirá por Análisis MICRO-KJELDAHL, según la metodología de la American Organization of Annalitic Chemestry (AOAC), pero con algunas modificaciones hechas por el Laboratorio de ANACAFE en el proceso de digestión y en nuestro laboratorio para la - destilación. El análisis se realizó en los Laboratorios de Química de la Facultad de Agronomía (Ver Apéndice 4).

Las 100 semillas pesadas fueron secadas en horno, éstas provenían de líneas previamente seleccionadas según su rendimiento por surco, se reconoce que lo ideal hubiera sido analizar todas las muestras, pero por limitaciones de espacio y recursos económicos se tuvieron que reducir a 400 entradas.

2.6. MODELO ESTADISTICO:

Para las M_1 se distribuyó al azar los tratamientos

entre el bloque y los 4 bloques o tratamientos en el campo. El análisis de varianza se hizo en función del modelo estadístico siguiente:

$Yij = \mu + \beta i + \tau j + \xi ij$

Yij = Observación en la unidad experimental del bloque j con el tratamiento i.

μ = Efecto de la media general.

βi = Efecto del i-ésimo tratamiento.

τj = Efecto del j-ésimo bloque.

ξij = Error experimental en la unidad experimental del bloque i con el tratamiento j.

2.7. ANALISIS DE DATOS:

Para llevar un mejor ordenamiento de esta discusión, los resultados se agruparon de la siguiente forma:

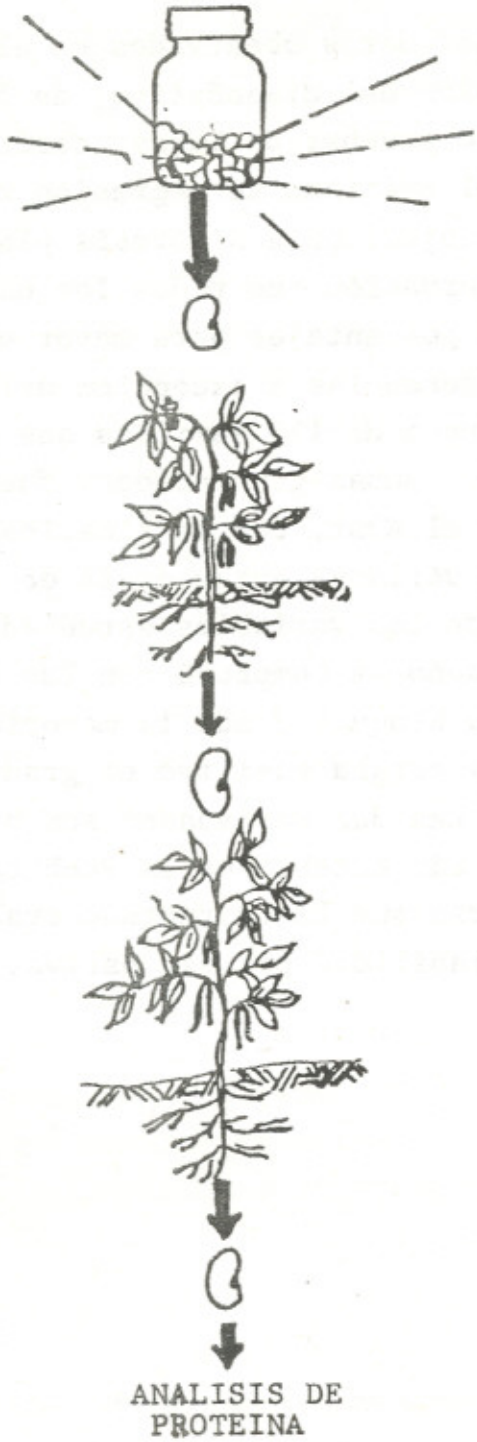
-- Generación M_1: Variables agronómicas.

-- Generación M_2: Variables agronómicas y variables cualitativas.

Las variables agronómicas, comprenden el número de semillas germinadas, número de semillas/vaina, número de vainas llenas y vanas/planta, sobrevivencia, porcentaje de proteína y peso de cien semillas. El segundo grupo, las variables cualitativas comprende cambios de color de flor, de semillas, plantas cloróticas, cambios morfológicos en la hoja, tipo de crecimiento y precocidad.

Discutiremos los datos observados en el siguiente orden: discusión del diagnóstico, de los Andevas, de las medias o pruebas de Tukey, coeficiente de variación y del análisis de regresión relacionándolos con los objetivos e hipótesis planteadas. Se hace la observación que todos los datos son presentados en porcentajes para mayor visualización de las diferencias a excepción del contenido de proteína y peso de 100 semillas que están en valores reales. Ambas generaciones fueron sembradas en Bloques al Azar, con la finalidad de hacer el análisis de varianza entre dosis de irradiación para cada una de las variables estudiadas, la necesidad del diseño se comprobó con las reglas de decisión de los bloques donde la mayoría tuvo significancia y estaba positivo el gradiente de la pendiente. Las dos variedades son homocigotas, la de genotipo más estable es la Suchitan por ser mejorada mientras que la Cuarenteño era de esperarse gran variabilidad por ser nativa.

GRAFICA 1. Proceso de Selección y Análisis de Proteína en Inducción de Mutaciones.



VI. PRESENTACION DE RESULTADOS Y DISCUSION.

1. ANALISIS ANATOMICOS Y FISIOLOGICOS EN LA PRIMERA GENERACION (M_1).

En toda generación M_1 el porcentaje de germinación de la semilla recien irradiada va ha ser menor porque al aumentar la dosis decrece la germinación. Esto es porque los rayos antes de llegar al embrión pasan afectando los cotiledones, el epicotilo e hipocotilo, éstos últimos al germinar serán deficientes en la suministración de alimento además de bajar la producción de auxinas, afectando los meristemos apicales, principalmente del coleóptilo donde actúan como estimulantes; todo esto debido a las fallas provocadas en la mitosis. Tanto la sobrevivencia, el número de semillas/planta y semillas por vaina fueron altamente significativas, como era de esperarse, al ser irradiadas las semillas con dosis altas se producen mayor cambio al ADN, bajando su promedio marcadamente las dosis de 24 y 27 Kr, mientras que las que se mantuvieron más o menos estables al testigo fueron de 3 a 15 Kr. En la sobrevivencia las dosis de 18 y 21 Kr aumentaron levemente al testigo en ambas variedades. Estos caracteres determinan la letalidad de las dosis, que son más deletéreas a partir de 24 Kr (Ver Cuadro 2).

De acuerdo a la prueba de Tukey el testigo se mostró diferente manteniéndose arriba de los lotes irradiados mientras aumenta la dosis disminuye el número de semillas/vaina y por tanto el número de semilla total a

excepción de la sobrevivencia donde no hubo una dosis con una media significativa, ya que todas las dosis se mostraron similares en las dos variedades. Para Suchitán el porcentaje de letalidad en 27 Kr fue de 40% y en Cuarenteño para la misma dosis fue de 25%, pero no llegaron a los niveles críticos de LD_{50} o Gr_{30-50}. Los coeficientes de variación se mantuvieron aceptables para las dos variables estudiadas, no así con semillas por planta para las dos variedades y sobrevivencia para Suchitán donde pasaron levemente lo permitido, es decir, que existió alta variación en estas características (Ver Cuadro 2). La prueba de Tukey confirmó que el testigo se mantuvo estable y arriba de todos los tratamientos. 21 Kr en el Cuarenteño produjo bastantes vainas pero poca semilla/vaina, teniendo mayor porcentaje de semillas/planta que el testigo lo que indica baja fecundidad por tener muchas vainas vanas. Todas estas alteraciones son daños primarios o fisiológicos, según Gaul (16), las mutaciones no pueden ser detectadas en la M_1 excepto cuando se usan marcadores o mutan gametos haploides.

La sobrevivencia dio resultados menores que la germinación porque la muerte puede ocurrir en cualquier momento después de haber germinado. Se presentaron también plantas cloróticas, en mayor número entre 21 y 27 Kr (Foto 1), si observamos el porcentaje de sobrevivencia, encontramos que ambas características guardan una correlación inversa, como es reportado por Yunkalov - (29). Los efectos quiméricos se encontraron en algunas plantas con hojas cotiledonares más grandes, deformes, con nervadura morada y menor cantidad de clorofila.

CUADRO No. 2.

Resumen de los Análisis de Varianza para las características cuantitativas observadas en las variedades Suchitan y Cuarenteño de Frijol en la Primera Generación (M_1).

CARACTERISTICA	VARIEDAD	PROMEDIO	VALOR DEL TESTIGO (0 Kr)	MINIMO		MAXIMO		REGLA DE DESICION	
				VALOR	DOSIS	VALOR	DOSIS	Fc	Ft
Número de Semillas/Vaina.	Suchitan.	81.50	100	65	24,27	100	0	5.715	3.15 **
	Cuarenteño.	88.00	100	73.8	24	106.25	3	3.895	3.15 **
Número de Semillas/Planta.	Suchitan.	74.51	100	39.83	27	100	0	3.412	3.15 **
	Cuarenteño.	89.69	100	62.2	27	117.4	12	3.282	3.15 **
Número de Plantas/Surco. (Sobrevivencia)	Suchitan.	108.53	100	68.8	27	146.83	18	3.364	3.15 **
	Cuarenteño.	103.97	100	84.58	27	121.35	21	2.197	2.20 *

NOTA: Todos los valores están expresados en porcentaje para hacer comparaciones más precisas entre características.

2. ANALISIS DE LAS CARACTERISTICAS CUALITATIVAS DE LA SEGUNDA GENERACION (M_2).

En la segunda generación, las características del grupo dos, variables cualitativas, demuestran que a medida que aumenta la irradiación van aumentando la frecuencia de mutaciones hasta determinada dosis, se aclara que la aparición de mutantes dominantes son acontecimientos - muy raros (16). Entre el rango de 12 a 21 Kr se manifestaron mutaciones convenientes agronómicamente hablando, por ejempl: aumento de precocidad (relacionada con la floración), tipo de crecimiento, especialmente del Tipo I que aparecieron en mayor número que el Tipo IV. Es necesario mencionar que todas las plantas Tipo I produjeron semillas; en las plantas cloróticas (Tipo clorina) donde la máxima frecuencia está en 24 y 27 Kr se presentó letalidad, la formación de éstos mutantes se ha reportado que se deben a cambios en el material extranuclear o citoplasmática (14). La presencia de este tipo de plantas fue mayor en la M_1 que en esta generación (Ver Cuadro 3) debido a la misma selección natural. Al hacer correlaciones resultó ser directa ésta característica con el aumento de la dosis.

Tambien se presentaron cambios en el tamaño de la hoja en 9 Kr (Foto 2y4) siendo más grandes y gruesas que el testigo asumiéndose mayor capacidad fotosintética. En 18 y 27 Kr se presentaron aisladamente plantas con hojas corrugadas y más ásperas. El color de las semillas confirmó estar directamente relacionada con el color de la flor ya que al cambiar el color de la segunda varió el de la semilla, al menos ese evento se esperaba.

Estos cambios están controlados por varios genes y se debe, según Delgado (8) a la ausencia o presencia de ellos o bien por genes complementarios o con efectos pleiotrópicos y según varios autores, entre ellos Hussein y Disouki (13) estos cambios de color pueden ser regresivos.

Según la clasificación presentada en la metodología, el color de flor lila, tipo I, fue el generalizado. - En 15, 18 y 21 Kr se presentaron flores blancas, tipo 2, (foto 3) y en 6,9, 24 y 27 Kr flores muy similares al tipo 3, rosada, aunque hubo una planta en el testigo, esto sucedió en el Cuarenteño. En Suchitán los - cambios fueron a algunas flores rosadas tipo 3. En - Cuarenteño entre 15 1 21 Kr aparecieron plantas con semillas rojas (tipo 3) (Foto 3), estas tuvieron flor blanca, lo que demustra la existencia de un mayor potencial de variabilidad en las variedades criollas. Las dos variedades presentaron semilla morada (tipo 4) la Cuarenteño siempre con mayor número y en mayor amplitud de dosis, lo mismo se puede apreciar con los - cambios de color de la vaina, aunque no existe correlación con las variables anteriores (Ver Cuadro 3).

Se presentaron algunas plantas muy susceptibles a plagas y enfermedades, principalmente a la Roya (Uromices phaseoli) · mientras las plantas y/o surcos vecinos estaban sanos, éstas eran fuertemente atacados aunque su número no fue significativo, como se puede apreciar en la foto 5. Otra característica que varió fue el tamaño de la planta, las repeticiones 2 y 3 de 6 Kr de la variedad Suchitán crecieron notablemente en follaje y altura en comparación a las otras dosis y testigo.

CUADRO No. 3.

Resumen de las mutaciones Cualitativas observadas en la M_2 de las dos variedades.

CARACTERISTICAS		VARIEDAD	DOSIS (Kr) 0	3	6	9	12	15	18	21	24	27	# DE MUTACIONES POR CARACTERISTICA	
Tipo de Crecimiento IV		Suchitan.	-	10	-	5	12	--	--	--	--	--	27	52
		Cuarenteño	-	3	13		--	3	4	--	2	--	25	
Tipo de Crecimiento I		Suchitan	-	7	20	10	--	4	2	9	7	3	62	187
		Cuarenteño	4	-	-	31	12	28	--	17	33	--	125	
Cambios color de semilla	Morada.	Suchitan.	-	4	-	-	--	1	6	1	6	--	18	42
		Cuarenteño.	-	4	5	-	5	--	10	--	--	--	24	
	Roja	Suchitan.	-	4	-	-	--	--	--	--	--	--	4	40
		Cuarenteño.	-	-	-	-	--	25	6	5	--	--	36	
Cambio de Color de Vaina.		Suchitan.	-	-	-	-	--	1	2	1	--	--	4	93
		Cuarenteño.	-	1	23	3	6	33	12	--	5	6	89	
Cambio de Color de la Flor		Suchitan.	-	-	1	-	4	5	10	--	3	--	23	68
		Cuarenteño.	-	-	2	2	7	11	15	4	2	2	45	
Precocidad.		Suchitan.	2	1	6	3	8	8	3	1	--	--	32	97
		Cuarenteño.	1	3	8	3	12	15	16	6	1	--	65	
Plantas Cloróticas.		Suchitan.	1	2	-	6	--	1	6	5	7	8	36	101
		Cuarenteño.	1	-	7	2	3	3	4	12	14	19	65	
Hojas Diferentes.		Suchitan.	-	1	1	5	2	5	1	8	14	3	40	81
		Cuarenteño.	2	-	2	5	3	3	5	4	8	9	41	
Total Mutaciones		Suchitan.	3	29	28	29	26	25	30	25	35	14	246	
		Cuarenteño.	8	11	60	46	48	121	72	48	65	36	515	

3. ANALISIS DE LAS CARACTERISTICAS AGRONOMICAS DE LA SEGUNDA GENERACION (M_2).

Para las características cuantitativas el número de semillas germinadas y el número de vainas vanas/planta para Suchitán fueron No Significativas, lo cual solo se esperaba en mayor proporción en M_1, por lo que no hay alta letalidad, ya que es un daño fisiológico que pasa por selección natural en dichas generación. También no hubo diferencia en el número de vainas llenas y vanas por planta y sobrevivencia para Cuarenteño. Sin embargo, según Tulmann (28) al aumentar la dosis hay disminución del número de vainas/planta y el número de semillas/vaina lo cual fue corroborado ya que - después de un aumento entre 15 a 21 Kr, hubo una disminución en las dos variedades. Se comprueba que mientras las intensidades de irradiación aumentan, ellas se vuelven más dañinas al genotipo (Ver Cuadro 4)

Se observó que los valores máximos para las características estudiadas vuelven a oscilar entre 12 y 18 Kr - excepto el número de vainas vanas que tienen su valores máximos entre 24 y 27 Kr. Con Tukey se comprueba que las dosis de 12 a 21 Kr tienden a ser diferentes a las demás dosis, superando al testigo. Se mostró mucha variación en las siguientes características: número de vainas llenas y vanas/planta en ambas variedades, el porcentaje de germinación y sobrevivencia variaron solo en Cuarenteño, debiéndose a la mayor variabilidad, característica de las variedades criollas. Esto guarda relación directa con el aumento de dosis y el aumento de letalidad (Cuadro 4).

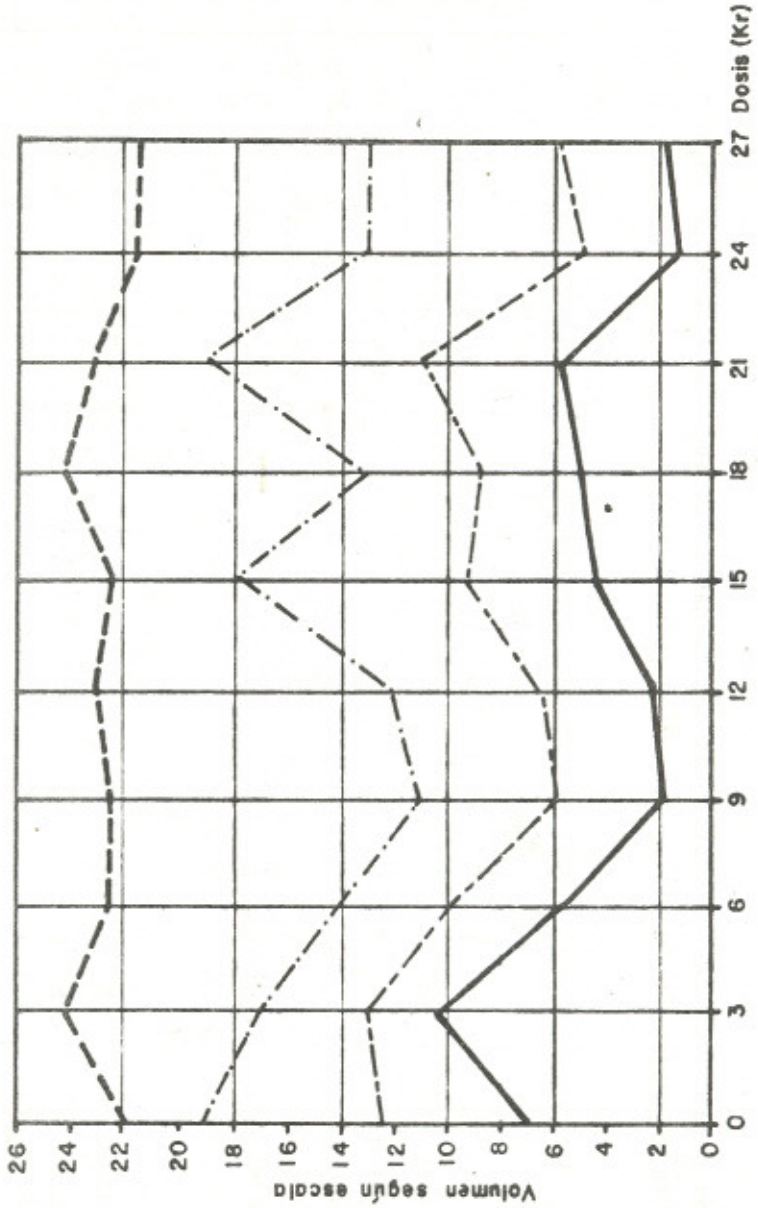
El peso de cien semillas en seco, no tuvo un comportamiento uniforme. Por ejemplo en Cuarenteño aumentó definitivamente siendo el testigo el más bajo (21.39g) y 3 Kr el más alto promedio, existiendo una diferencia significativa de 2.66 aunque su C.V. fue realmente bajo; mientras que entre bloques no la hubo; las dosis responsables de esa variación son principalmente 18, 21, 12 y 9 Kr en orden descendente (Apéndice 5). Las medias estuvieron muy cerca de los máximos aunque el número de casos no varió mucho (Ver Gráfica 2). En - Suchitán la situación varió un poco, ya que el testigo posee una de las medias más altas, superada únicamente por 24 y 15 Kr no mostrando una diferencia significativa disminuyendo su variación en forma negativa (Apéndice 5). En la gráfica 3 se observa claramente la disminución en 27 Kr y su influencia negativa. (Gráfica 3).

CUADRO No. 4.

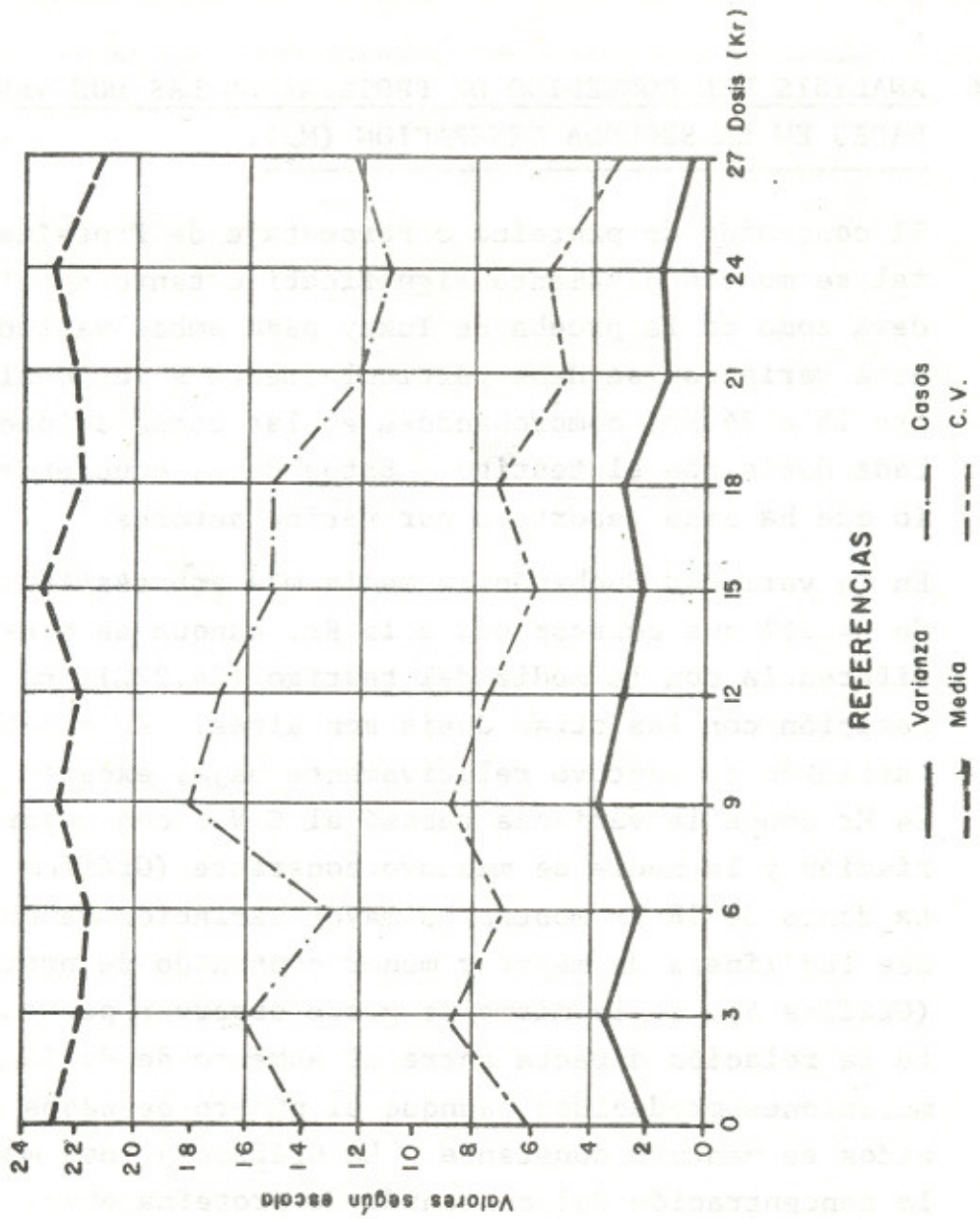
Resumen de Andevas de las características cuantitativas analizadas en la segunda generación (M_2) de las variedades Suchitan y Cuarenteño de frijol común (en porcentajes).

CARACTERISTICAS	VARIEDAD	PROMEDIO VALOR	VALOR DEL TESTIGO (0 Kr)	MINIMO		MAXIMO		F_c	F_+	
				VALOR	Kr	VALOR	Kr			
Peso de 100 Semillas (grs)	Suchitán.	22.31*	22.93	18.90	3	26.80	9	0.98	2.25	N.S.
	Cuarenteño.	22.75*	21.26	11.50	0	35.00	3	0.49	2.25	N.S.
Número de Semillas Germinadas	Suchitán.	94.18	100	71.585	27	104.358	12	2.303	2.25	N.S.
	Cuarenteño.	131.07	100	100.00	0	187.83	15	2.5998	2.25	*
Número de Semillas por vaina	Suchitán.	136.83	100	100.00	0	162.50	12	3.2802	3.15	**
	Cuarenteño.	133.79	100	78.333	27	178.75	15	5.7678	3.15	**
Número de Vainas llenas por Planta	Suchitán.	120.69	100	76.59	27	201.12	15	3.4680	3.15	**
	Cuarenteño.	94.85	100	52.21	27	130.41	15	1.4145	2.25	N.S.
Número de Vainas Vanas por Planta	Suchitán.	157.50	100	100.00	9	200.00	24,27	0.5392	2.25	N.S.
	Cuarenteño.	87.92	100	52.77	9	147.223	27	1.7422	2.25	N.S.
Sobrevivencia.	Suchitán.	100.58	100	69.695	6	130.553	15	3.5469	3.15	**
	Cuarenteño.	116.26	100	90.91	27	156.25	15	1.587	2.25	N S.
Porcentaje de Proteína Total.	Suchitán.	23.23*	24.22	21.08	6	24.76	15	3.20	2.50	**
	Cuarenteño.	22.17*	20.40	20.00	27	24.66	3	2.66	2.41	**

* = Valores reales de proteína.



INDUCCION DE MUTACIONES	COMPORTAMIENTO ESTADISTICO PESO 100 SEMILLAS VARIEDAD CUARENTEÑO	FIGURA No 2
		PAGINO No 62



INDUCCION DE MUTACIONES	COMPORTAMIENTO ESTADISTICO PESO 100 SEMILLAS VARIEDAD SUCHITAN	FIGURA No 3
		PAGINA No 63

4. ANALISIS DEL CONTENIDO DE PROTEINA EN LAS DOS VARIEDADES EN LA SEGUNDA GENERACION (M_2).

El contenido de proteína o Porcentaje de Proteína Total se mostró altamente significativo tanto en el Andeva como en la prueba de Tukey para ambas variedades, esta variación se debe particularmente a las dosis entre 15 a 24 Kr, comprobándose en las comparaciones de cada dosis con el testigo. Estos datos concuerdan con lo que ha sido reportado por varios autores.

En la variedad Suchitán la media más sobresaliente es de 24.76% que corresponde a 15 Kr, aunque es poca la diferencia con la media del testigo (24.22%), en comparación con las otras dosis son altas. En general la variación se mantuvo relativamente baja, excepto la de 24 Kr donde la varianza rebazó al C.V., con mayor variación y la media se mantuvo constante (Gráfica 6). La dosis de 18 Kr mostró la mayor variación ya que posee las líneas de mayor y menor contenido de proteína (Gráfica 5), en la misma se puede observar perfectamente la relación directa entre el aumento de dosis y de mutaciones producidas, aunque el número de casos analizados se mantuvo constante. La Gráfica 4, nos muestra la concentración del contenido de proteína entre 20 a 26.0% en todas las dosis. La dosis de 6 Kr produjo valores más bajos que los del testigo, 12 Kr tiende a una disminución mientras que 15 es totalmente contrario, tendiendo a aumentar; la distribución de 21 es la más reducida así como la de 27 Kr.

En el caso de la variedad Cuarenteño la media mayor la

produjo la dosis de 3 Kr bastante distante a la del testigo, disminuyendo severamente en 6 Kr aunque tuvo un número elevado de casos analizados, 9 Kr fue lo inverso y de 12 a 21 Kr se mantuvieron arriba del testigo (gráfica No. 9), 15 Kr posee la línea de mayor contenido protéico (33.97%) y un 27 Kr con la más baja (11.31%), dosis que produjo una media menor que la del testigo, resultados descritos por otros investigadores. (7, 8, 19). Crece el rango de máxima concentración, de 20 a 28%, por su mismo origen (gráfica 8) sólo 24 Kr disminuyó su rango de distribución. El testigo tiene una amplia distribución normal concentrada entre 14 y 26% de proteína. 3 Kr presentó casos con tendencia a aumentar hasta 34%, 6 se concentró en el porcentaje normal al igual que las dosis de 9, 12, 21 y 24 Kr. Mientras que 15 y 18 se dirigieron más al incremento (34%) sólo 27 fue marcadamente inferior en su contenido protéico. (Cuadro 5).

Si bien no se aprecia el aumento de casos analizados (Gráfica 8). El C.V. fue muy oscilante pero siempre manteniéndose arriba de las varianzas. 3 Kr fue la más próxima al comparador y fue la más estable (C.V. 11.97%) mientras las de mayor variabilidad fue la de 15 Kr. En 21 Kr se observó la línea 143-1 con 41.1% de proteína. Las líneas 166-5 y 166-10 de 27 Kr tuvieron porcentajes de proteína de 43.38 y 43.24 respectivamente, al repetir el análisis siempre fue alto, y aunque no se incluyeron en el análisis estadístico se volvieron a sembrar para ver su comportamiento. Hay que aclarar que estos cambios de proteína están altamente influenciados por el medio ambiente, por ser una

característica cuantitativa. En la gráfica 10 se observa las frecuencias de distribución del contenido proteína, sigue una tendencia de curva normal.

En el Cuadro 6, se observa las dosis que provocaron la varianza en las andevas de la variedad Suchitán y las dosis más adecuadas en esta generación.

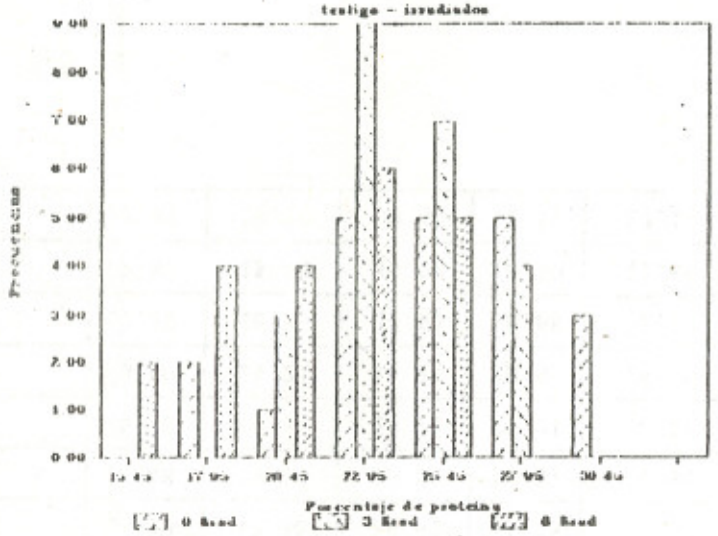
CUADRO No. 5.

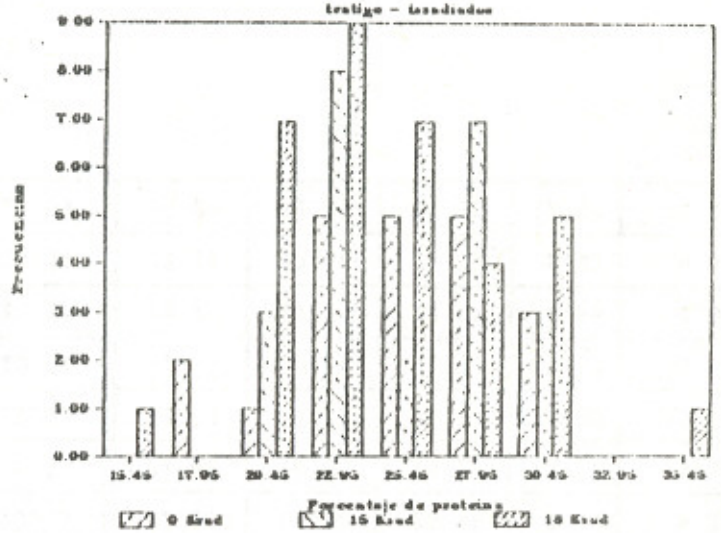
Información estadística del efecto de Irradiación sobre el contenido de proteína en las dos Variedades de Frijol común.

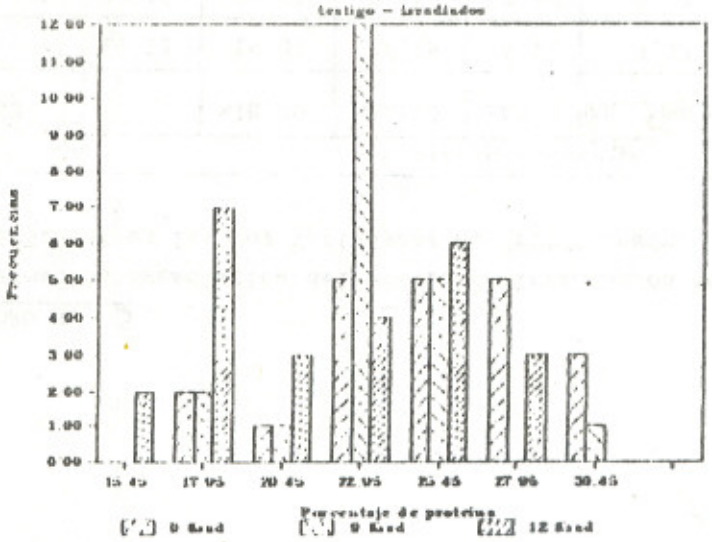
DOSIS	VARIEDAD SUCHITAN						VARIEDAD CUARENTENO					
	X	MINIMO	MAXIMO	RANGO	VARIANZA	C.V. (%)	X	MINIMO	MAXIMO	RANGO	VARIANZA	C.V. (%)
0	24.22	19.07	28.78	9.71	7.72	11.47	20.40	13.45	27.46	14.01	11.89	16.90
3	24.15	20.00	27.80	7.80	3.07	7.25	24.66	17.40	33.27	15.87	23.05	19.47
6	21.08	15.63	25.29	9.66	5.36	10.98	20.35	13.05	23.70	10.65	5.93	11.97
9	22.90	17.68	28.93	11.25	5.40	10.15	22.19	17.20	26.94	9.74	8.35	13 02
12	21.48	15.69	27.06	11.37	9.34	14.23	22.48	14.60	28.17	13.57	9.58	13.77
15	24.76	19.54	29.75	10.21	8.61	11.85	23.13	13.47	33.97	20.50	17.51	18.09
18	23.60	14.21	34.84	20.65	14.10	15.91	23.59	19.27	32.30	13.03	15.95	16.93
21	23.20	16.75	27.43	10.68	8.15	12.30	22.79	17.89	27.55	9.66	7.01	11.62
24	22.87	15.40	34.00	18.60	21.69	20.36	22 11	17 48	26 90	9 42	6 45	11.49
27	23.99	18.10	30.00	11.90	13.11	15.09	20.00	11.31	24.20	12.89	10 12	15.90

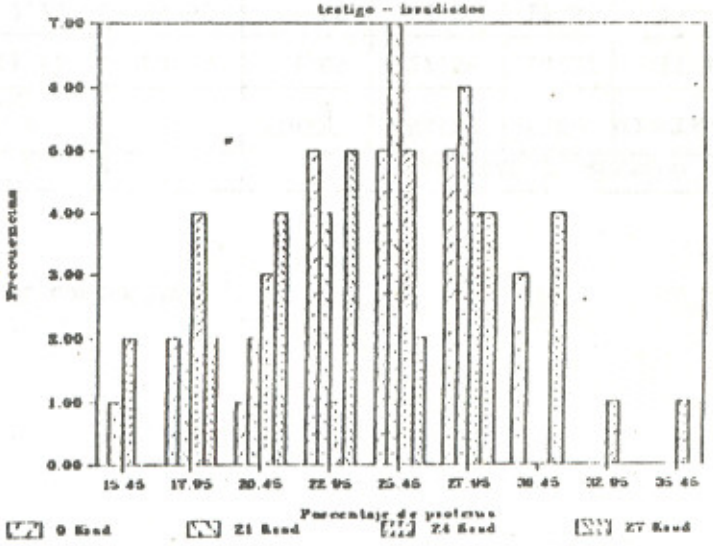
Gráfica 4.

Comparaciones de las frecuencias del porcentaje de proteína entre dosis (Krad) y el testigo. Variedad Suchitán. (M_2).



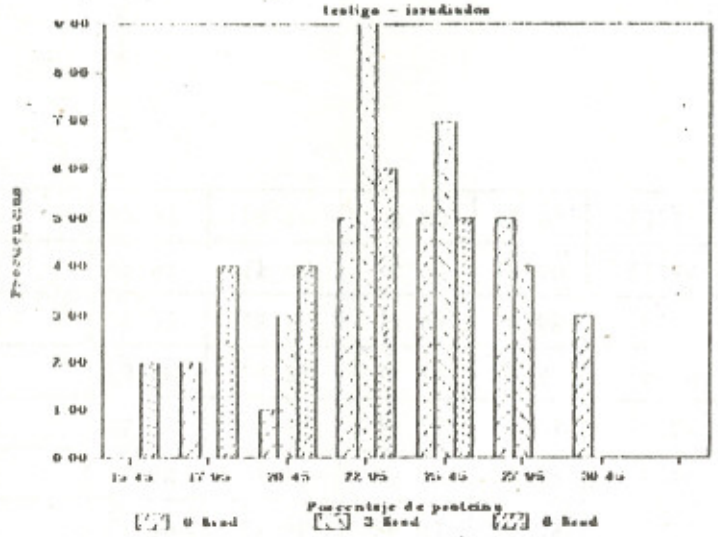


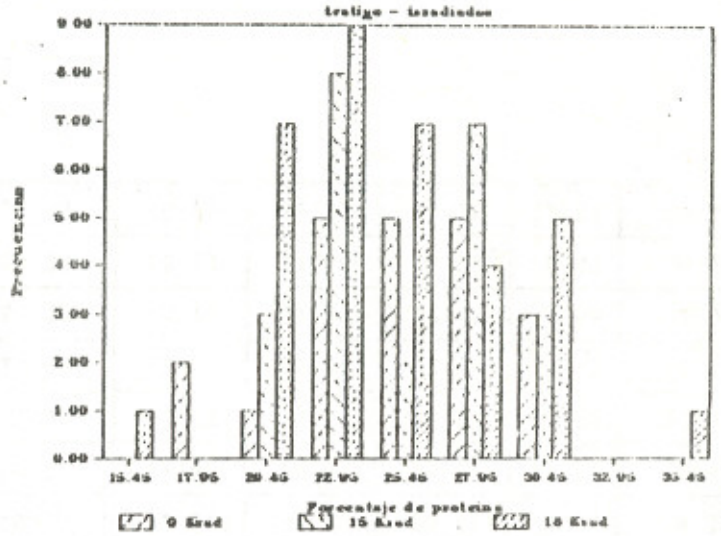


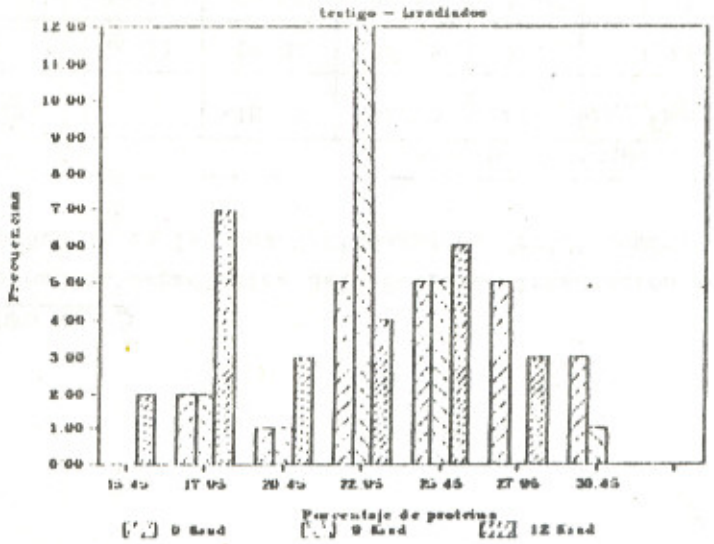


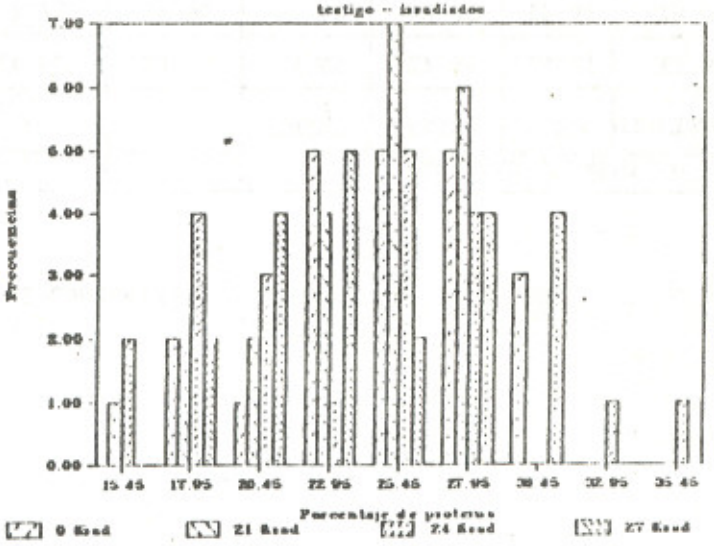
Gráfica 4.

Comparaciones de las frecuencias del porcentaje de proteína entre dosis (Krad) y el testigo. Variedad Suchitán. (M_2).



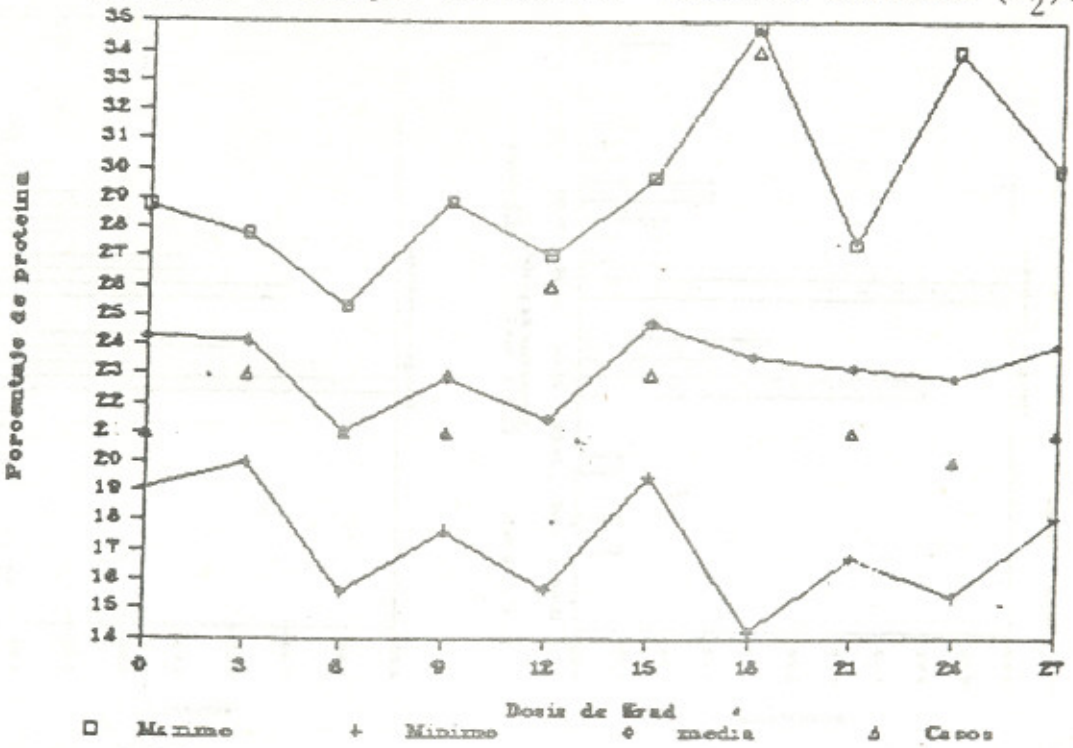






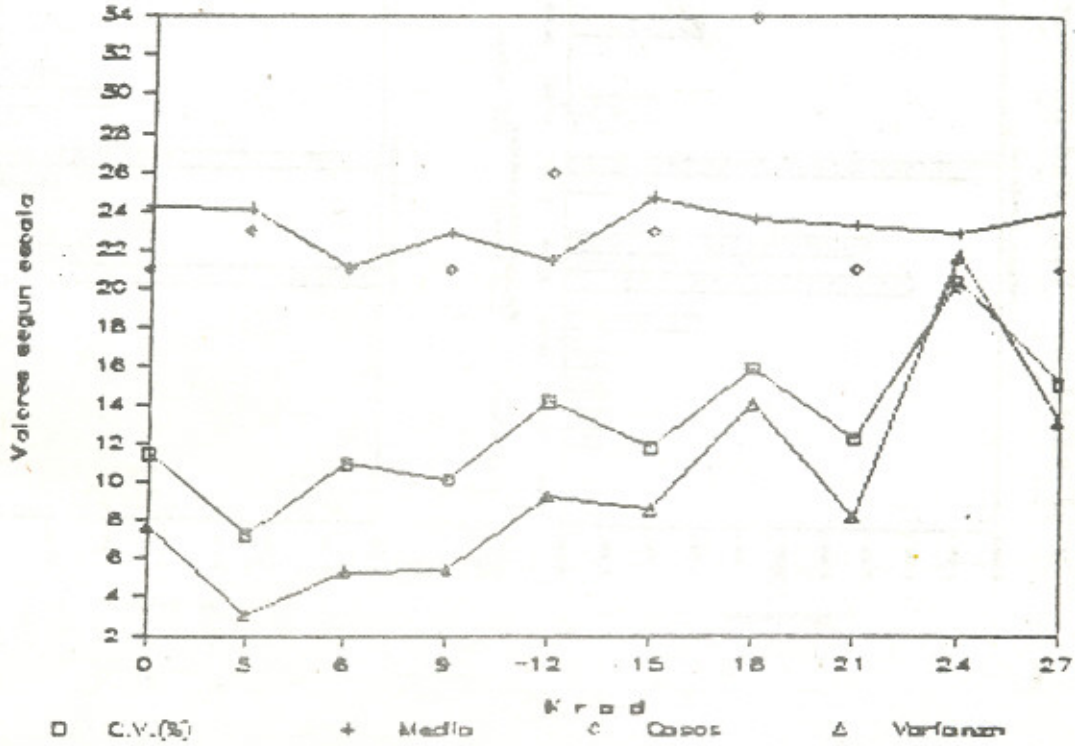
Gráfica 5.

Comportamiento de la Media Muestral del contenido de proteína en frijol irradiado. Variedad Suchitán (M_2).



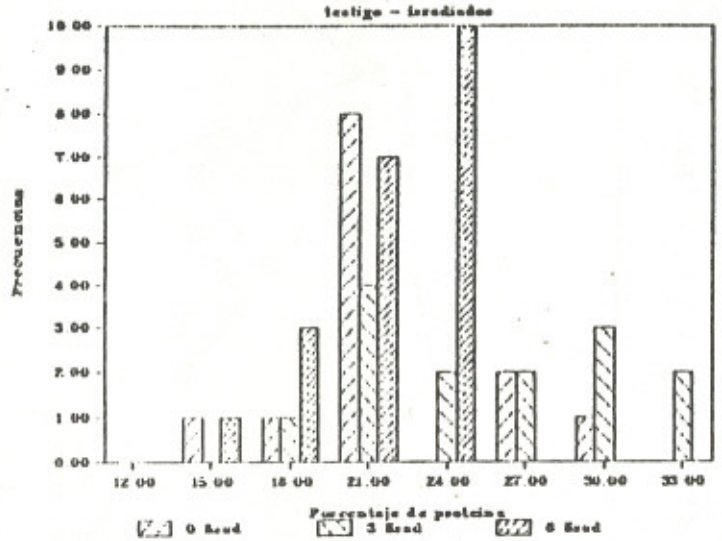
Gráfica 6.

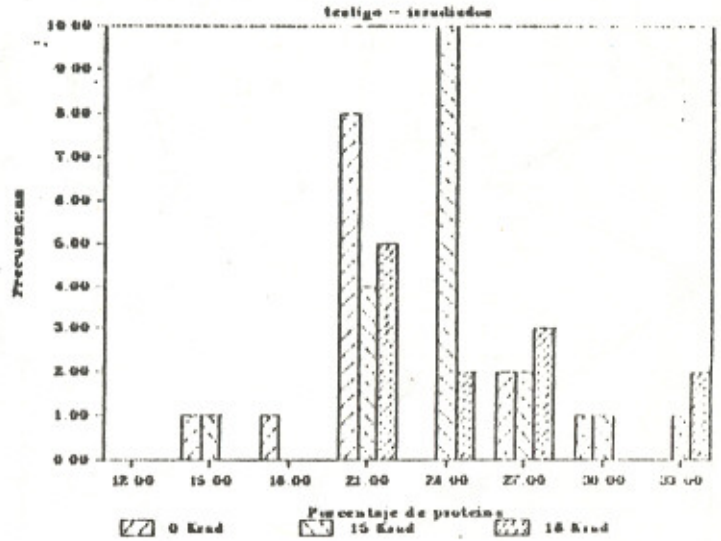
Valores estadísticos (coeficiente de variación, media, casos y varianza) del contenido de proteína. Variedad Suchitán. (M_2)

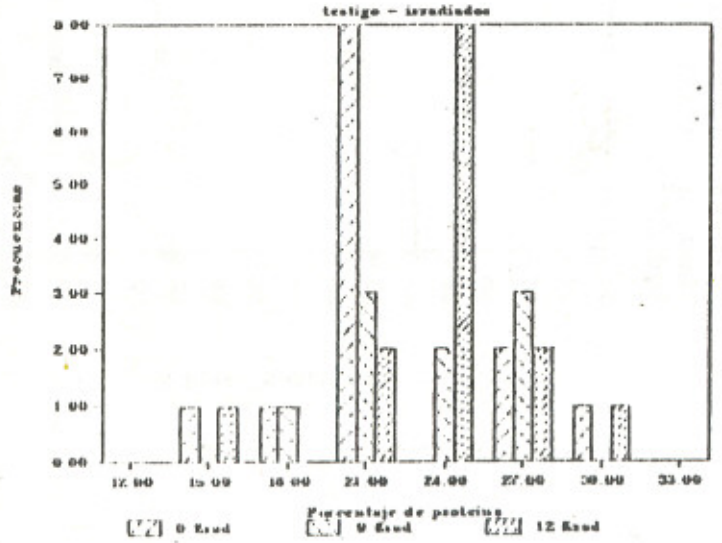


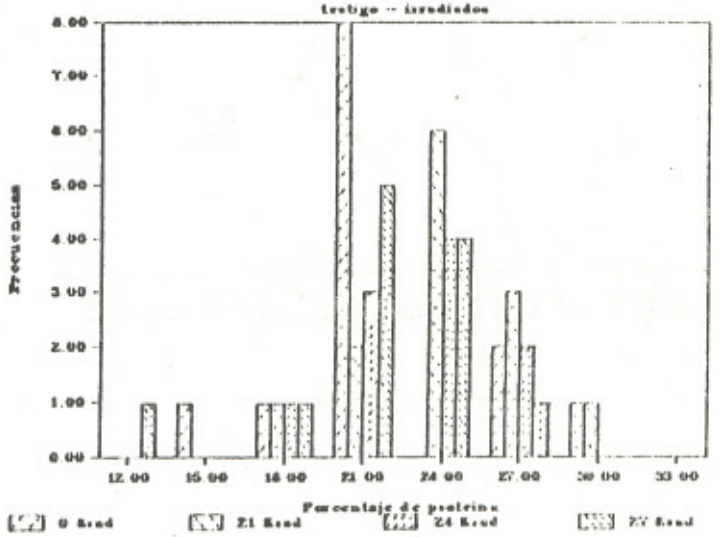
Gráfica 7.

Comparaciones de las frecuencias del porcentaje de proteína entre dosis (Krad) y el testigo. Variedad Cuarenteño. (M_2).



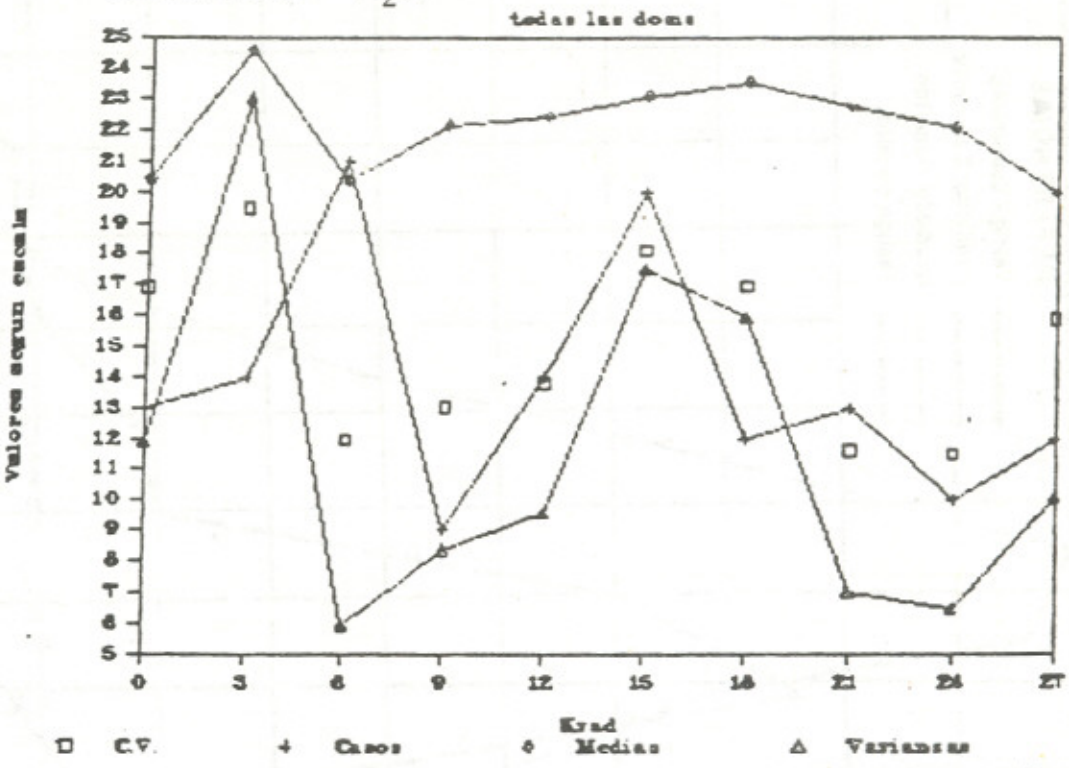






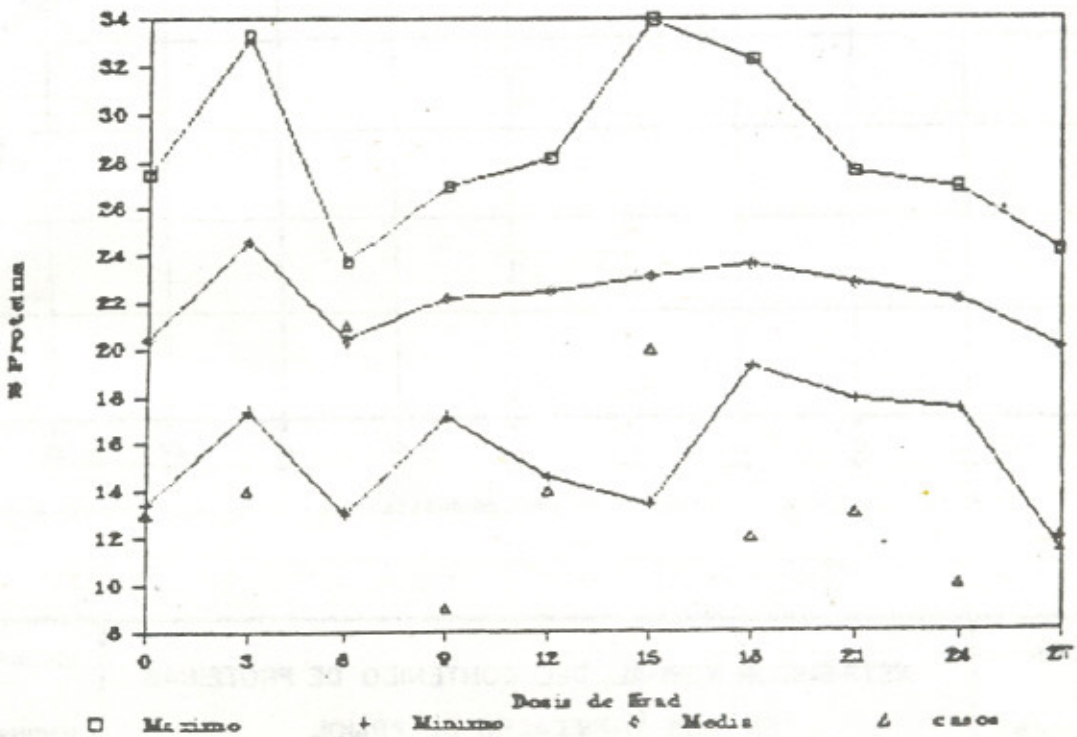
Gráfica 8.

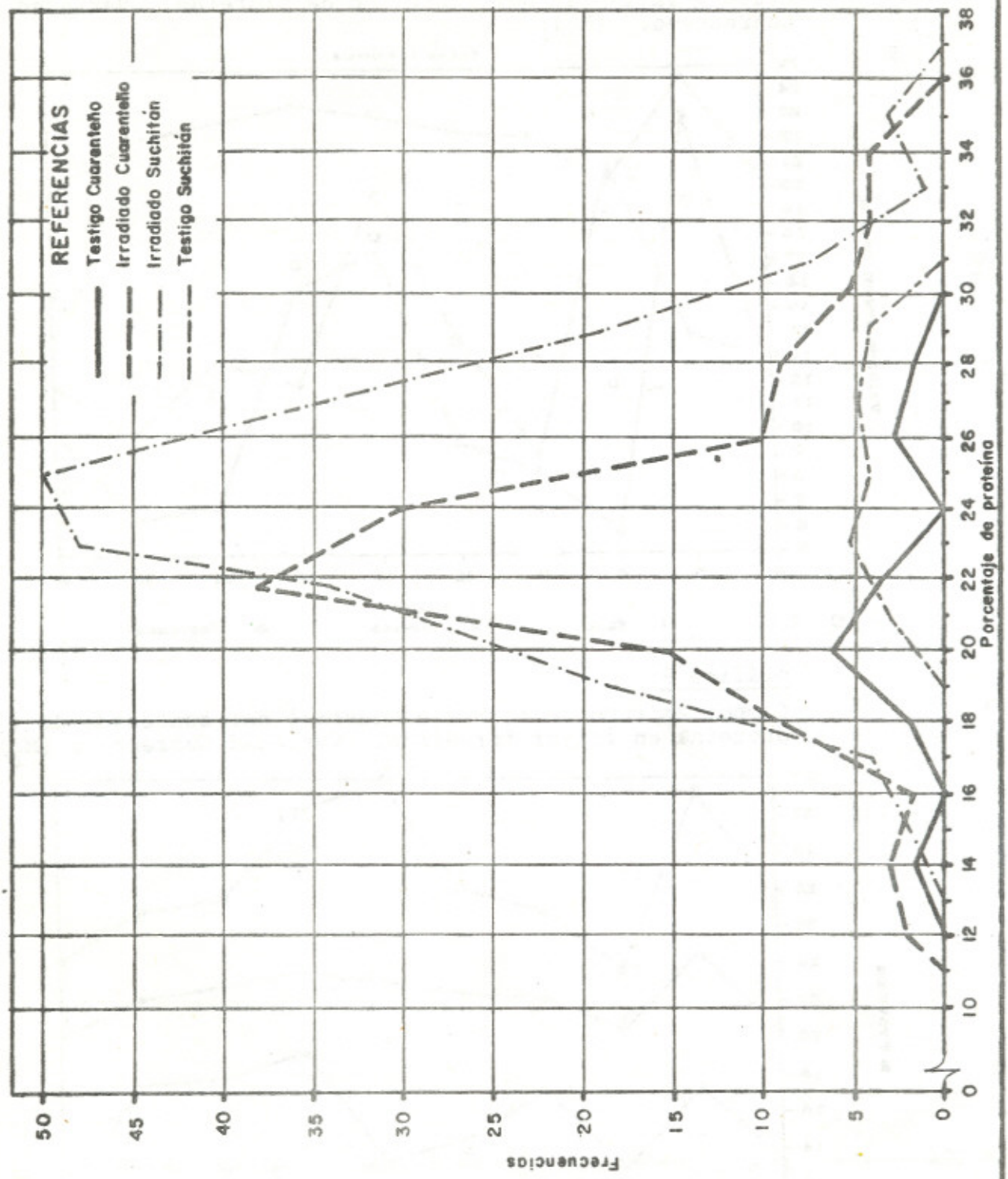
Valores estadísticos (coeficiente de variación, media, casos y varianza) del contenido de proteína. Variedad Cuarenteño. (M_2).



Gráfica 9.

Comportamiento de la Media Muestral del contenido de proteína en frijol irradiado. Variedad Cuarenteño (M_2).





INDUCCION DE MUTACIONES	DISTRIBUCIÓN NORMAL DEL CONTENIDO DE PROTEINAS EN DOS VARIEDADES DE FRIJOL	FIGURA No 10 PAGINA No 72

CUADRO No. 6 .

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

M_2 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

5. ANALISIS DE REGRESIONES Y CORRELACIONES.

La correlación de semillas germinadas vrs. plantas por surco (sobrevivencia) para ambas variedades, fueron altas (81.38% Cuarenteño y 75.08% Suchitán) esto se esperaba, ya que dependiendo del número de semillas germinadas así será el número de plantas a cosechar. La variación que se da es debido al efecto de la irradiación post germinación como: plantas cloróticas, suceptibilidad a enfermedades pero siempre se mantuvo la regresión lineal (Gráficas 11 y 12).

Para Dosis (Krad) vrs. número de vainas/planta no existe dependencia entre ellas, recordemos que el andeva de Suchitán tuvo significancia dada por las dosis intermedias de 15 a 21 Kr, para Cuarenteño, ningún modelo matemático utilizado se adaptó, aunque su tabla de frecuencias manifestó ligero aumento de producción en las mismas dosis intermedias. Además, las pruebas de F de regresión no indicaron diferencia significativa y ningún modelo muestra un buen grado de determinación (Apéndice 6).

Al comparar el efecto de la radiación (dosis) en la producción de semillas por vaina, sabiendo de antemano que sus andevas fueron altamente significativas debido al aumento en las dosis de 12 a 21 Kr para después descender, se adaptó a los modelos cuadráticos y de raíz cuadrada. En Cuarenteño, la correlación tuvo una alta significancia, es decir, que la variación total se debe principalmente a la regresión. En Suchitán además de ser significativa en los mismos modelos se presentó también en el logarítmico y con una aceptable probabi-

lidad de presición (Apéndice 6). Indicándonos que a dosis bajas hay aumento rápido de producción de semillas, disminuyendo lentamente al incrementar la dosis.

Para la correlación Dosis vrs. Peso de Cien Semillas se tomó el valor del coeficiente de variación (CV) del peso de la semilla porque fue muy estable y de valores bastante adecuados en el andeva. En ambas variedades el coeficiente de correlación fue muy bueno en todos los modelos, excepto el logarítmico. Podemos decir que al aumentar la dosis se puede esperar aumento de peso y como es reportado por varios autores se puede esperar también aumento de tamaño. Las F calculadas indican buena diferencia significativa, la variación no es debida al error, además el grado de determinación o de predicción es bueno, principalmente en el modelo lineal (Apéndice 6).

Al comparar el efecto de la irradiación (dosis) con el contenido de proteína, se observó que en Suchitán si hubo una muy buena correlación arriba del 73%, con un alto grado de confiabilidad. Exceptuando el modelo logarítmico, la F calculada indican diferencia significativa, la variación se debe al efecto de la regresión y la probabilidad de predecir el incremento de proteína por Krad (de 3 en 3) es confiable en su comportamiento lineal y geométrico, el incremento alrededor del 0.7394% de nitrógeno es válido hasta determinada dosis (21 Kr) donde comienza a descender. La variedad Cuarenteño no tuvo el mismo comportamiento, ningún modelo matemático manifestó correlación alguna, creemos que se debe a la gran variabilidad que mantuvo el C.V. en cada

tratamiento, no olvidemos la heterocigosidad de la variedad (Apéndice 6).

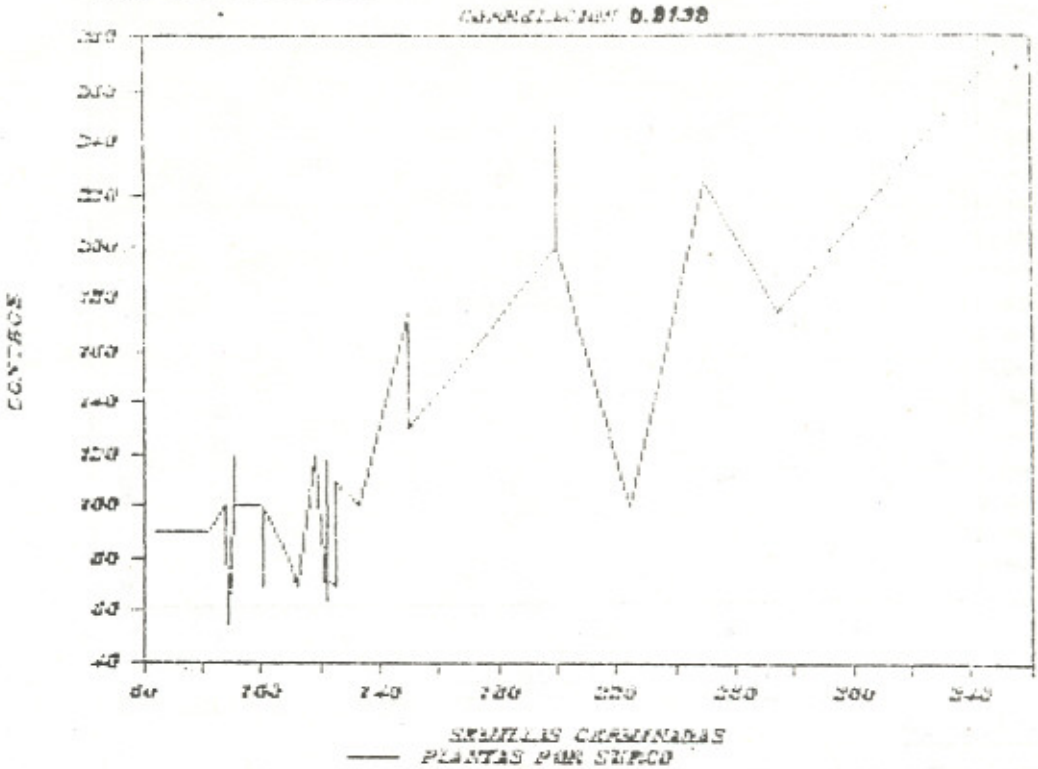
No hay correlación Sobrevivencia vrs. semillas/vaina en las dos variedades. Tampoco existe un buen grado de determinación, únicamente en los modelos logarítmicos y goemétricos de Cuarenteño se manifestó significancia (Apéndice 6).

Las gráficas 13 y 14 nos muestra con mayor precisión los análisis anteriores. Todas las características siguen una tendencia de curva normal en donde en los extremos se puede hacer alguna presión de selección y - algo más importante, la determinación de las dosis óptimas, entre 15 a 21 Kr, donde hay aumento en los componentes básicos de rendimiento, del porcentaje de proteína y menor daño en la sobrevivencia.

Por último las Gráficas 15 y 16 muestran perfectamente la distribución normal de cuadro variables, mientras aumenta la dosis hay un cambio en el número de casos mutantes presentados.

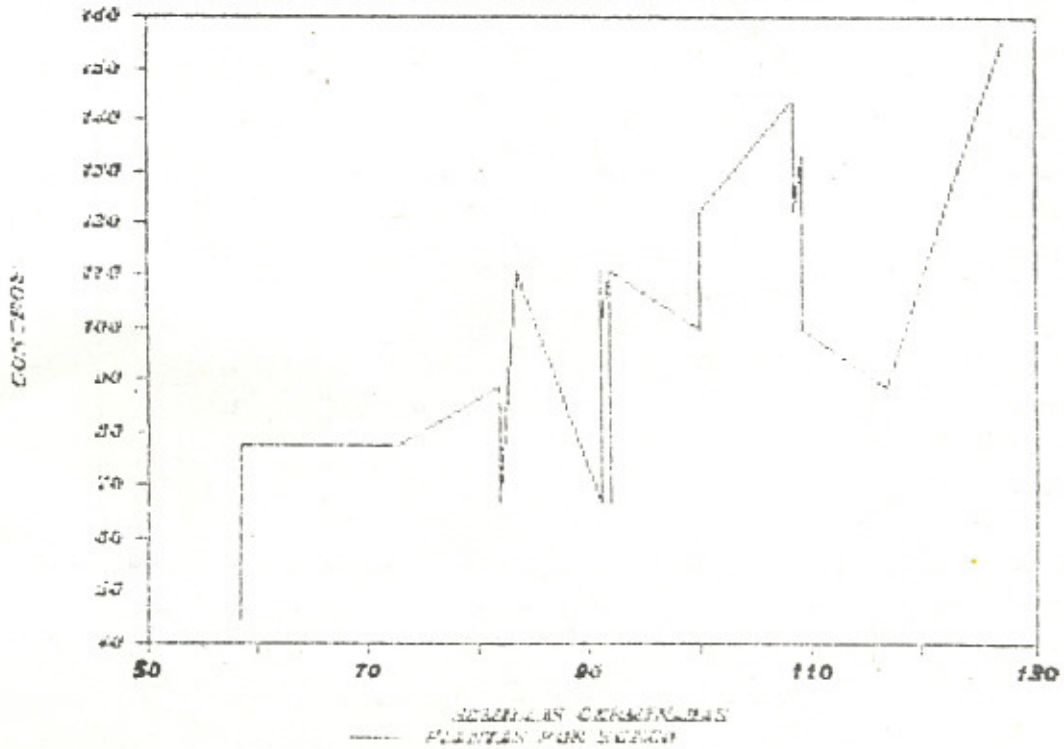
Gráfica 11.

Comportamiento de la correlación semillas germinadas vrs. sobrevivencia. Variedad Cuarenteño.



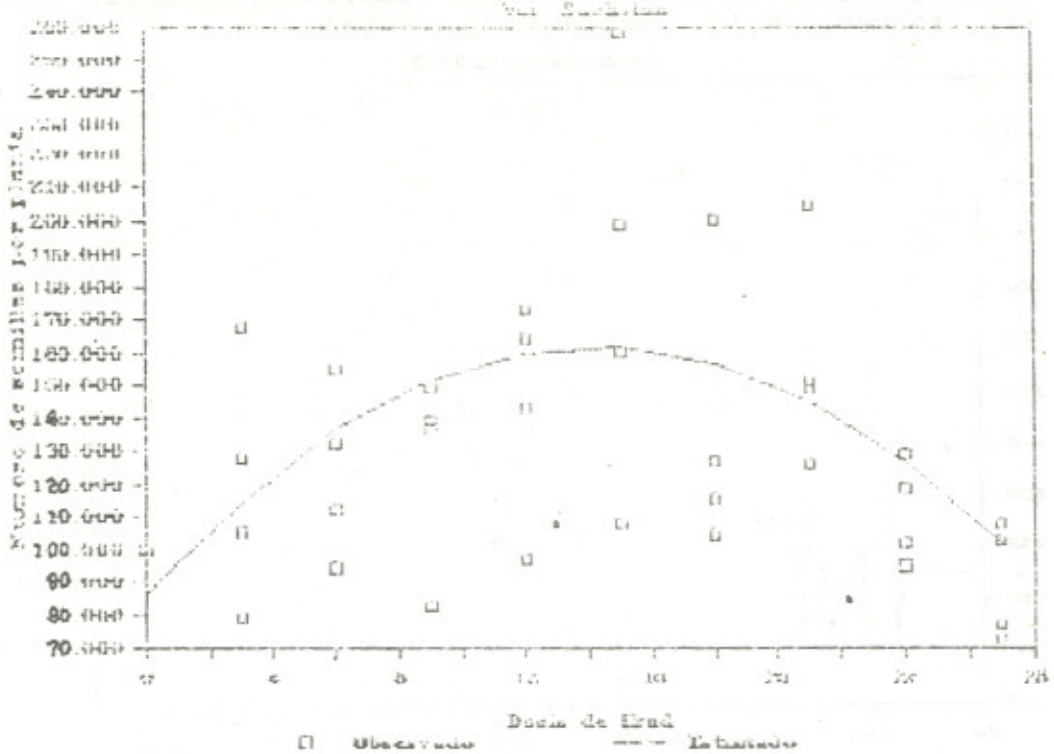
Gráfica 12.

Comportamiento de la correlación semillas germinadas vrs. sobrevivencia. Variedad Suchitán.



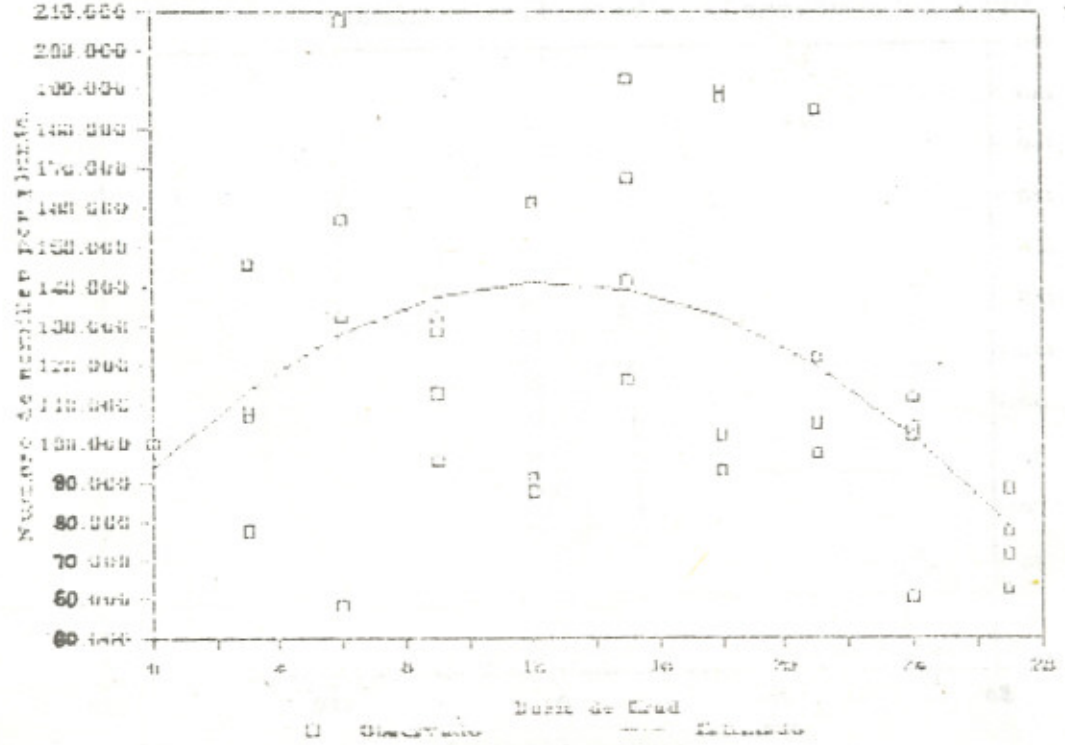
Gráfica 13.

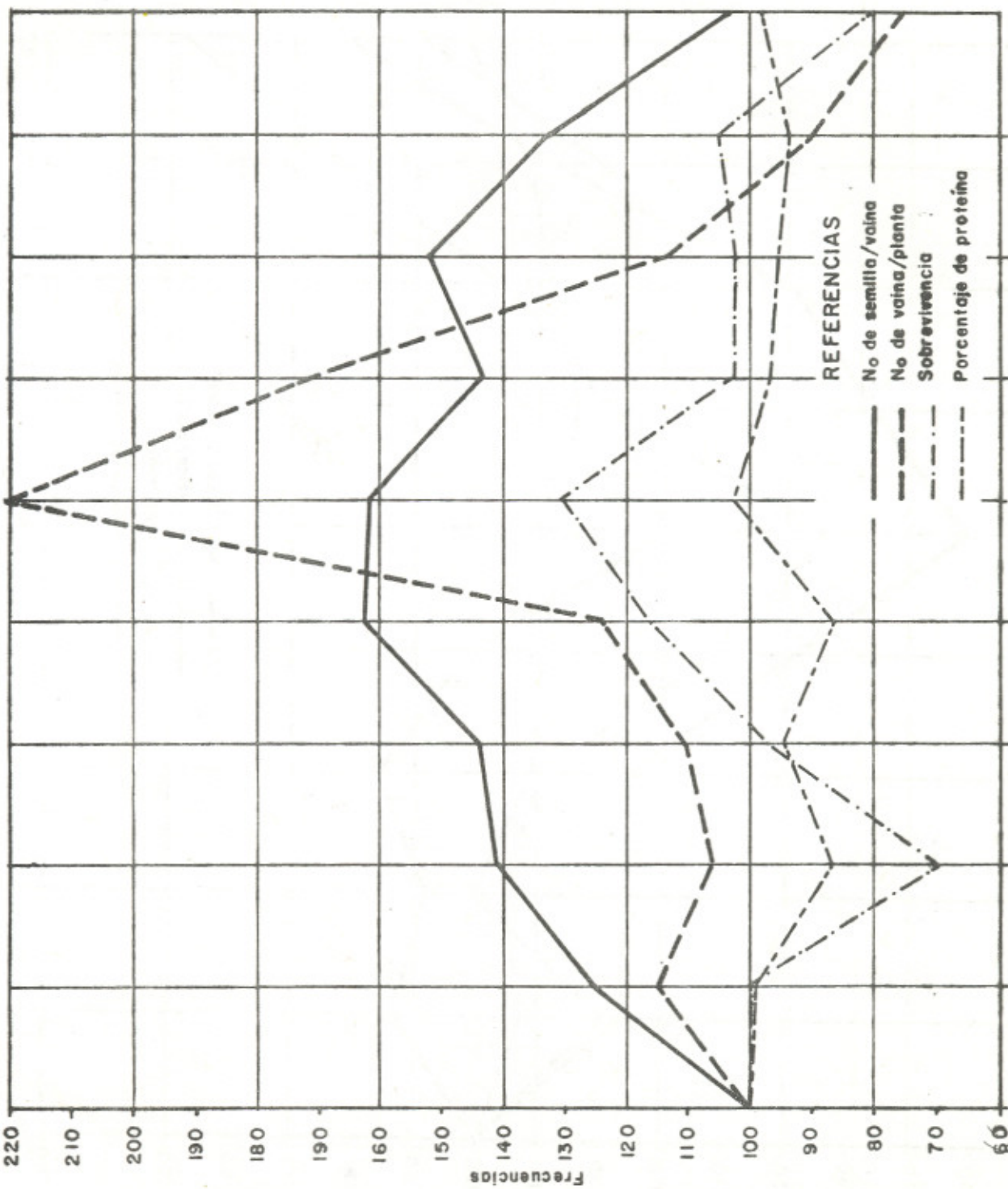
Comportamiento esperado de producción (semillas por planta) vrs. contenido de proteína, según modelo cuadrático. Variedad Suchitán.



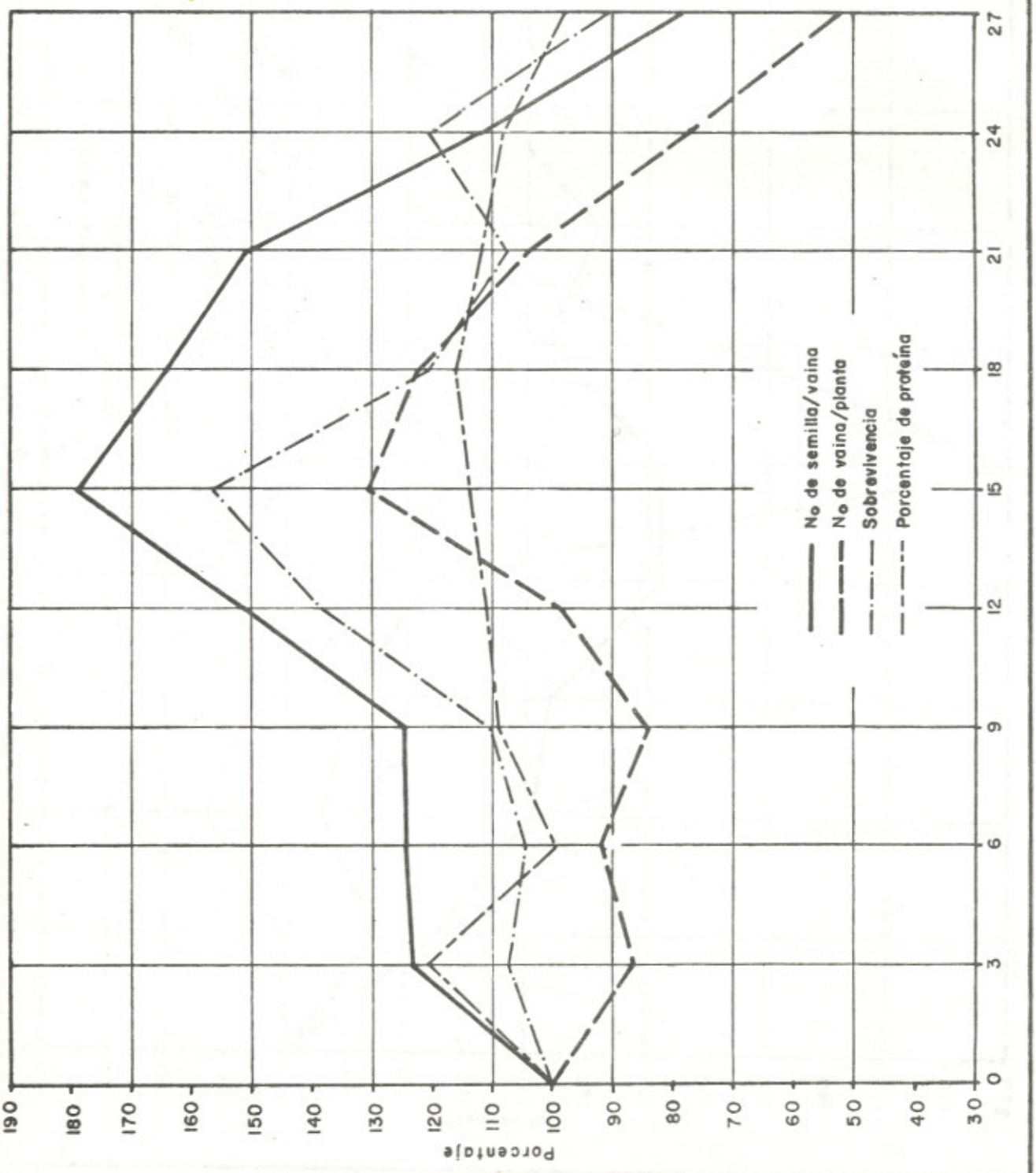
Gráfica 14.

Comportamiento esperado de producción (semillas por planta) vrs. contenido de proteína, según modelo cuadrático. Variedad Cuarenteño.





INDUCCION DE MUTACIONES	RELACION DE CUATRO CARACTERISTICAS Y DOSIS DE IRRADIACION EN M_2 VARIEDAD SUCHITAN	FIGURA No 15
		PAGINA No 79



INDUCCION DE MUTACIONES	RELACION DE CUATRO CARACTERISTICAS Y DOSIS DE IRRADIACION EN M_2 VARIEDAD CUARENTEÑO	FIGURA No 16
		PAGINA No 80

VII. CONCLUSIONES.

1. La irradiación aumenta variabilidad en el comportamiento fisiológico y morfológico de las plantas, en la primera generación son más comunes la quimeras - mientras que en M_2 por presentarse tipos mutantes homocigotos y por ser autofecundados se manifiestan algunos genes recesivos como plantas cloróticas y crecimiento indeterminado.

2. En forma general las dosis pequeñas producen un incremento en la característica, después se estabiliza levemente, hasta determinado punto, para luego descender y probablemente sus efectos se vuelven deletéreos agronómicamente como lo indican las correlaciones, - por ejemplo los parámetros básicos de producción. -- (Ver Gráficas 11 - 16).

3. Entre 12 a 21 Kr en la variedad Suchitán se manifestó un aumento sensible en el promedio del contenido de nitrógeno, ya que entre 15 a 24 Kr hubieron líneas - con un incremento considerable. Podemos decir que - por cada incremento del rango de dosis, hay un aumento constante alrededor de 0.7394% de nitrógeno, al menos en las primeras generaciones, hasta que se explota la variabilidad disponible.

4. La correlación existente entre el incremento de dosis con el daño que se produce a la semilla es positivo. La dosis de 27 Kr fue la que presentó mayores daños tanto fisiológicos como agronómicos, mientras que el

mayor número de cambios de características agronómicamente deseables se manifestaron entre 12 a 21 Kr.

Las poblaciones tienen un comportamiento normal, es decir, que para propósitos de mejoramiento, estos tratamientos mutagénicos provocaron baja esterilidad y alta frecuencia de mutaciones vitales. Según los rangos iniciales de proteína en las dos variedades, el estudio demuestra que el efecto de la irradiación está en función de la variabilidad disponible, cuya magnitud de mutación hacia valores altos depende del potencial genético inicial.

5. La inducción de mutaciones usando radiaciones gamma (Co-60), es una herramienta útil en la obtención de variabilidad para el mejoramiento de plantas por contenido de proteína total.

VIII. RECOMENDACIONES.

1. Es necesario para futuros trabajos de fitomejoramiento por radiaciones, que se utilicen materiales genéticos mejorados y purificados por lo menos en una generación y no variedades criollas porque al ser irradiadas no se sabe si se debe a la variabilidad propia o a la inducida.

2. Se demostró que para 27 Kr las alteraciones mutagénicas son moderadas, porque sobreviven y se reproducen pero provoca muchas características deletéreas. Por lo que se recomienda usar dosis más bajas si se desea obtener efectos más adecuados.

3. Es recomendable el uso de esta técnica en cultivos de poca variabilidad en Guatemala, que sean introducciones, esto no indica que se excluyen a los cultivos criollos, por las ventajas de manejo y rapidez que ofrece esta técnica.

4. Es necesario hacer análisis químicos y bromatológicos en las siguientes generaciones para tener otras características de selección: tales como porcentaje de proteína, digestibilidad, porque las proteínas del frijol no se absorben con facilidad por el cuerpo, principalmente cuando se consumen solas; contenido de aminoácidos azufrados, ya que las proteínas vegetales pueden ser incompletas, y tiempo de cocción, tanto en los materiales con contenidos bajos, medianos y altos de proteína para ver cuál pueda ser el efecto de la radiación en estos tres niveles.

IX. APENDICE.

Apéndice 1.

CONDICIONES CLIMATICAS QUE PREVALECEN EN EL VALLE DE GUATEMALA.

Altura	= 1502.32 m.s.n.m.
Precipitación anual (Promedio)	= 1048.1 mm.
Humedad relativa	= 77.6%
Temperatura media	= 18.7°C.

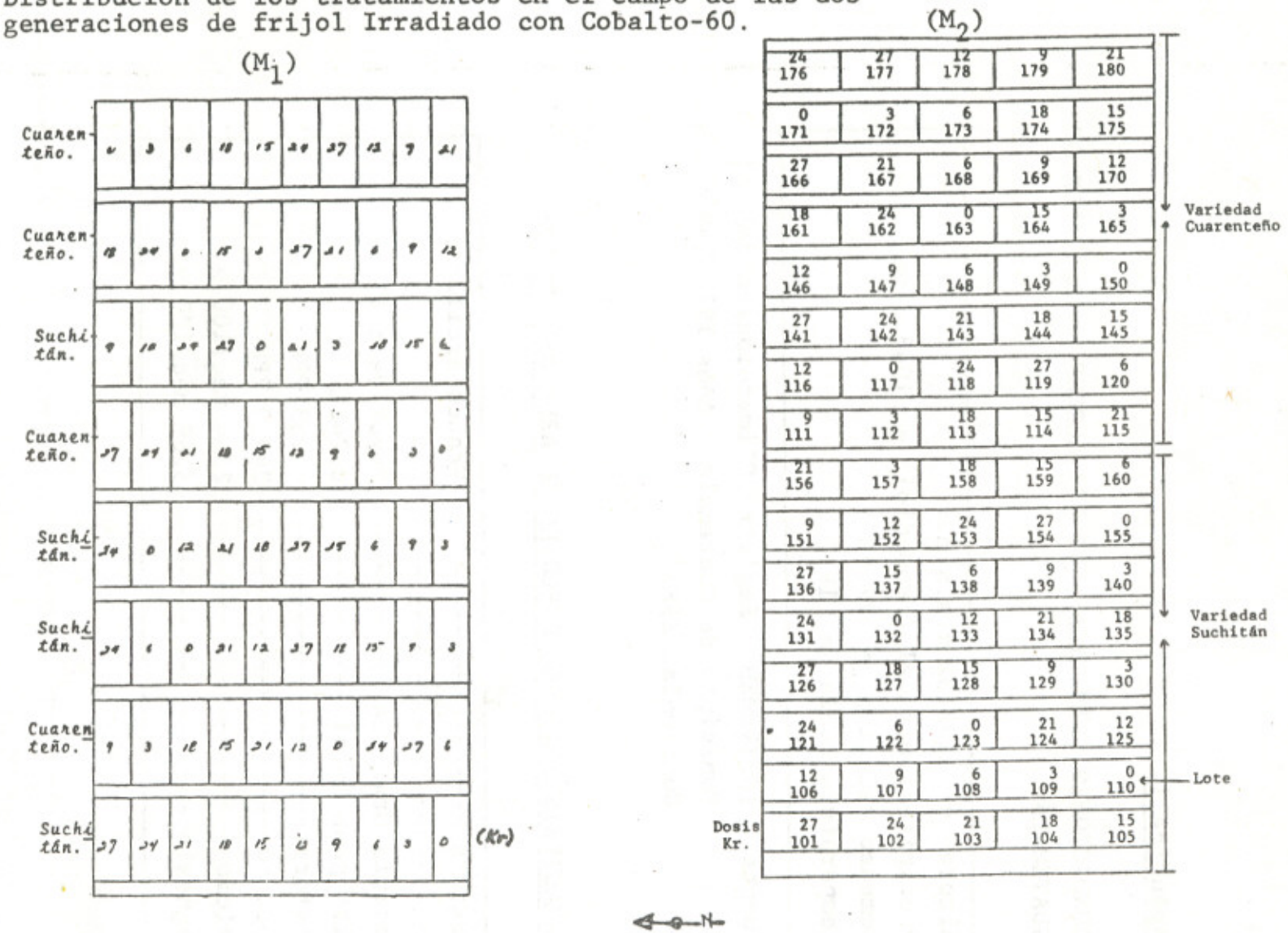
Fuente: INSIVUMEH. Registro Climatológico del Municipio de Guatemala. Años 1973-1982. Guatemala. 1983.

CARACTERISTICAS DEL SUELO EN EL AREA DEL ENSAYO.

Textura	Franco Arcilloso
pH	6.4
Materia Orgánica	Mayor de 6.8%
Nitrógeno Total	0.245%
Fósforo	48.33 PPM
Potasio	349.0 PPM
Calcio	22.4 meq/100 g.
Magnesio	3.69 meq/100 g.

Apéndice 2.

Distribución de los tratamientos en el campo de las dos generaciones de frijol Irradiado con Cobalto-60.



Apéndice. 3.

Método para obtener el tiempo de exposición en un Irradiador Dynarad 50L con un núcleo de Co-60.

Para encontrar la intensidad del radiador en un momento dado y con este dato obtener el tiempo de exposición, se utiliza la siguiente fórmula:

$$A = A_o \, e^{-\gamma t}$$

Donde:

A = Actividad actual al irradiar nuestra semilla el irradiador tenía una intensidad a 290 Krad/hora.

A_o = Actividad inicial, a la fecha que se le efectuó análisis de desintegración radiactiva, al Dynarad, para el 8 de Agosto de 1981, era de 325 Krad/hora.

e = Base de logarítmo natural.

γ = Constante de desintegración, depende del radioisótopo utilizado (Co-60).

t = Tiempo transcurrido entre las actividades medias (meses).

La constante de desintegración depende del tiempo en que el átomo puede atravezar la materia, así:

$$\gamma = \frac{0.693}{T}$$

T = vida media del radioisótopo el Co-60, según tablas, es de 5.26 años.

$$\gamma = \frac{0.693}{5.26} = \frac{0.693}{5.26 \times 12 \text{ meses}} = 0.010979/\text{mes}$$

Entonces:

$$A = 325 \text{ Krad/hr} \quad e^{-\gamma t} \left(- \frac{0.693}{T\ 0.5} \times 12 \text{ meses}\right)$$

$$A = 290 \text{ Krad/hr.}$$

Apéndice 4.

METODO MICRO-KJELDAHL.

Es un método de digestión de los más usados para materiales biológicos y puede ser considerado como referencia estandar al cual otros métodos son comparados. Esto depende de la conversión que se da de nitrógeno o sales de amonio, cuando la muestra es calentada agregándole ácido sulfúrico concentrado y una mezcla de catalizador. El amonio puede ser determinado por su destilación con ácido bórico y nitrificación con un ácido estandar. Por nitrificación colorimétrica dirigida hacia la digestión y la reacción con varios colorantes, produciendo reagentes para permitir una estimación fotométrica por procedimientos manuales o automáticos. La metodología seguida es la siguiente:

1. DIGESTION:

   1.1. Moler las semillas secadas a 70°C por 24 horas, pasadas por un tamiz.

   1.2. Pesar 100 mgr de harina de frijol y transferirlo a un balón de 30 ml.

   1.3. Agregar 1.1 g de muestra digestora triturada:

   K_2SO_4 + $FeSO_4$ + $CaSO_4$ en una relación 1:0.1:0.05

   Otra opción es K_2SO_4 + HgO relación 1:0.1.

   1.4. Agregar 2.5-3 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado.

   1.5. Agregarle 4-8 perlas de vidrio para homogenizar la ebullición.

1.6. Colocarlo en el digestor, mejor si ya está caliente (# 3 de temperatura) a los 15 minutos subir a # 5 y dejarlo durante 1.5 hr hasta que esté cristalina la solución.

2. DESTILACION

2.1. La solución digerida se enfría y se coloca en el destilador Micro-Kjeldahl, asegurándose que la llave de desagüe esté cerrada.

2.2. El agua destilada del balón debe estar caliente para que inicie con facilidad la ebullición.

2.3. Lavar bien el balón con agua destilada y colocarla en el vasito del aparato, esperar que caiga toda la muestra y se le añade 10 ml de solución alcalina -- (500 g NaOH + 128 g $Na_2S_2O_3$), se debe de hacer con sumo cuidado ya que la reacción que se produce es - muy violenta y puede ocasionar la pérdida de la muestra.

2.4. Se cierra el escape de vapor y se inicia la destilación, recibiendo el destilador en 15 ml de ácido - córico (H_3BO_3) al 40% con 5-10 gotas de indicador para recibir la muestra de nitratos destilados. El indicador está formado de:
0.5 g verde bromocresol + 0.1 g rojo de metilo en solución alcalina, esto se logra con alcohol metílico.

2.5. Colectar alrededor de 40 ml del amoníaco desprendido, tener cuidado que no se escape vapor al iniciar la

condensación porque es muy significativo. Debe variar el ácido de morado a celeste sucediendo a los 5-10 minutos del viraje.

3. TITULACION:

3.1. Titular la muestra colectada con ácido clorhídrico 0.01-0.4 N hasta que vire a color salmón, solución nuevamente ácida. La cantidad gastada de HCl corresponde indirectamente al contenido de nitrógeno porque se está cuantificando la cantidad de amoníaco - desprendido.

3.2. Calcular el Porcentaje de Nitrógeno Total.

$$\%N = \frac{V\ (N * M)}{\text{peso muestra}} * 100$$

Donde:

% N = Porcentaje de Nitrógeno Total.
V = ml gastados de ácido clorhídrico.
M = Peso atómico del Nitrógeno (14.007).
N = Normalidad del ácido.
Peso de la muestra en mgrs.

3.3. Cálculo de la Proteína.

Consiste únicamente en multiplicar el resultado de Nitrógeno Total por la constante 6.25, porcentaje promedio de Nitrógeno en las especies biológicas.

Apéndice 5.

Estadísticos descriptivos de peso de cien (100) semillas.
Variedad Suchitán.

Krad	SUMA	MEDIA	VARIANZA	CASOS	MAXIMO	MINIMO	DESV.	C.V.
0	321.00	22.93	1.93	14	26.10	21.30	1.89	6.06
3	349.70	21.86	3.42	16	26.00	18.90	1.85	8.46
6	282.80	21.75	2.81	18	25.20	20.00	1.52	6.99
9	409.40	22.74	3.71	18	26.80	20.60	1.93	8.46
12	375.10	22.06	2.98	17	26.50	20.10	1.72	7.82
15	350.70	23.38	2.10	15	25.90	20.70	1.45	6.20
18	380.20	22.01	2.77	15	25.20	19.60	1.66	7.55
21	265.10	22.09	1 34	12	24.30	20.50	1.16	5.24
24	253.00	23.00	1.52	11	25.50	21.10	1.23	5.36
27	255.20	21.27	0 53	12	22.30	20.00	0.72	3.41

Estadísticos descriptivos de peso de cien (100) semillas.
Variedad Cuarenteño.

Krad	SUMA	MEDIA	VARIANZA	CASOS	MAXIMO	MINIMO	DESV.	C.V.
0	404.00	21.26	6.85	19	23.50	11.50	2.62	12.31%
3	412.12	24.24	10.50	17	35.00	20.80	3.24	13.37%
6	521.50	22.67	5.49	28	27.40	17.28	2.84	10.33%
9	249.90	22.72	1.90	11	25.10	20.20	1.38	6.07%
12	277.60	23.13	2.22	12	25.40	20.40	1.49	6.44%
15	406.49	22.58	4.36	18	27.90	20.40	2.09	9 25%
18	314.80	24.22	4.88	18	29.50	21.00	2.20	9.08%
21	441.86	23.26	5.59	19	29.65	19.20	2.36	10.16%
24	283.00	21.77	1.26	13	24.20	20.00	1.12	5.15%
27	280.83	21.60	1.44	13	23.80	20.00	1.20	5.56%

APENDICE. 6 .

MODELOS MATEMATICOS DE LAS CORRELACIONES MAS SOBRESALIENTES ENTRE VARIABLES.

6.1. Var. X: Dosis de Krad en Suchitán., Var. Y: Número de vainas por planta. Variedad Suchitán.

$Y = b_o + b_1 * X$ Modelo Lineal.

Coeficientes:

$b_o = 123.2150$ $b_1 = -0.1818$

Parámetros:

F calculada = 0.0331, Correlación = 0.02951,
Determinación = 0.00087.

$Y = b_o + b_1 * X + b_2 * X^2$ Modelo Cuadrático.

Coeficientes:

$b_o = 82.2777$ $b_1 = 10.0525$ $b_2 = -0.3790$

Parámetros:

F calculada = 70,547.8120, Correlación = 0.46785,
Determinación = 0.21889.

$Y = b_o + b_1 * X + b_2 * X$ Modelo Raíz Cuadrada.

Coeficientes:

$b_o = 86.0296$ $b_1 = -6.1151$ $b_2 = 35.0745$

Parámetros:

F calculada = 27,513.0117, Correlación = 0.29217,
Determinación = 0.08536.

6.2. Var. X: Dosis de Krad de Cuarenteño, Var Y: vainas por Planta.

$Y = b_o + b_1 * X + b_2 * X^2$ Modelo Cuadrático.

Coeficientes:

$b_o = 85.1704$ $b_1 = 3.2562$ $b_2 = -0.1379$

Parámetros:

F calculada = 9,746.2354, Correlación = 0.23609,
Determinación = 0.05574.

$Y = b_o + b_1 * X\ b_2 * X$ Modelo Raíz Cuadrada.

Coeficientes:

$b_o = 91.8861$ $b_1 = -1.7728$ $b_2 = 7.7152$

Parámetros:

F calculada = 2,772.3381, Correlación = 0.12592,
Determinación = 0.01586.

6.3. Var. X: Krad de Cuarenteño, Var Y: semillas por vaina.

$Y = b_o + b_1 * X + b_2 * X^2$ Modelo Cuadrático.

Coeficientes:

$b_o = 95.5305$ $b_1 = 10.1481$ $b_2 = -0.3830$

Parámetros:

F calculada = 77,482.0390, Correlación = 0.50176,
Determinación = 0.25176.

$Y = b_o + b_1 * X + b_2 * X$ Modelo Raíz Cuadrada.

Coeficientes:

$b_2 = 90.2024$ $b_1 = -7.6427$ $b_2 = 44.0403$

Parámetros:

F calculada = 46,509.2930, Correlación = 0.38875,
Determinación = 0.15112.

$Y = b_o * \exp. (b_1 * X) * X^{b_2}$ Modelo Gamma.

Coeficientes:

$b_o = 152.4382$ $b_1 = -0.0146$ $b_2 = 1.0189$

Parámetros:

F calculada = 1.8801, Correlación = 0.31703,
Determinación = 0.10051.

6.4. Var. X: Krad en Suchitán, Var Y: semillas por vaina.

$Y = b_o * X \ b_1$ Modelo Logarítmico.

Coeficientes:

$b_o = 132.7192$ $b_1 = 0.0122$

Parámetros:

F calculada = 5.5240, Correlación = 0.35626,
Determinación = 0.12692.

$Y = b_o + b_1 * X + b_2 * X^2$ Modelo Cuadrático.

Coeficientes:

$b_o = 99.7800$ $b_1 = 8.5926$ $b_2 = -0.3058$

Parámetros:
F calculada = 109,531.3980, Correlación = 0.5551,
Determinación = 0.30815.

$Y = b_o + b_1 * X + b_2 * X$ Modelo Raíz Cuadrada.

Coeficientes:
$b_o = 92.2509$ $b_1 = -6.1867$ $b_2 = 38.2570$

Parámetros:
F calculada = 78,227.2270, Correlación = 0.46918,
Determinación = 0.22008.

$Y = b_o * \exp. (b_1 * X) * X^{b_2}$ Modelo Gamma.

Coeficientes:
$b_o = 143.8460$ $b_1 = -0.0060$ $b_2 = 1.0163$

Parámetros:
F calculada = 2.8255, Correlación = 0.38948,
Determinación = 0.15169.

6.5. Var. X: Dosis de Krad., Var. Y: C.V. del peso de 100 semillas. Variedad Cuarenteño.

$Y = b_o + b_1 * X$ Modelo Lineal.

Coeficientes:
$b_o = 11.6984$ $b_1 = -0.2168$

Parámetros:
F calculada = 7.0442, Correlación = 0.68428,
Determinación = 0.46828.

$Y = b_o * b_1 X$ Modelo Geométrico.

Coeficientes:
$b_o = 11.6752$ $b_1 = 0.9754$

Parámetros:
F calculada = 6.3706, Correlación = 0.66581,
Determinación = 0.44331.

$Y = b_o + b_1 * X + b_2 * X^2$ Modelo Cuadrático.

Coeficientes:
$b_o = 12.4056$ $b_1 = -0.3936$ $B_2 = 0.0065$

Parámetros:
F calculada = 221.6609, Correlación = 0.70203,
Determinación = 0.49285.

$Y = b_o + b_1 * X + b_2 * X$ Modelo Raíz Cuadrada.

Coeficientes:
$b_o = 12.8444$ $b_1 = -0.0339$ $b_2 = -1.0810$

Parámetros:
F calculada = 224.2434, Correlación = 0.70611,
Determinación = 0.49859.

$Y = b_o * \exp. (b_1 * X) * X^{b_2}$ Modelo Gamma.

Coeficientes:
$b_o = 11.3740$ $b_1 = -0.0230$ $b_2 = 0.9968$

Parámetros:
F calculada = 2.8186, Correlación = 0.66956,
Determinación = 0.44831.

6.6. Var. X: Dosis de Krad., Var. Y: C.V. del peso de 100 semillas. Variedad Suchitán.

$Y = b_o + b_1 * X$ Modelo Lineal.

Coeficientes:
$b_o = 8.1545$ $b_1 = -0.1185$.

Parámetros:
F calculada = 6.3983, Correlación = 0.66662,
Determinación = 0.44438.

$Y = b_o * b_1 X$ Modelo geométrico.

Coeficientes:
$b_o = 8.4264$ $b_1 = 0.2792$

Parámetros:
F calculada = 6.9639, Correlación = 0.68219,
Determinación = 0.46538.

$Y = b_o + b_1 * X + b_2 * X^2$ Modelo Cuadrático.

Coeficientes:
$b_o = 6.7054$ $b_1 = 0.2438$ $b_2 = -0.0134$

Parámetros:
F calculada = 168.9851, Correlación = 0.87899,
Determinación = 0.77262.

$Y = b_o * \exp. (b_1 * X) * X^{b_2}$ Modelo Gamma.

Coeficientes:
$b_o = 9.7980$ $b_1 = -0.0321$ $b_2 = 1.0213$

Parámetros:
F calculada = 4.6509, Correlación = 0.84286,
Determinación = 0.71042.

6.7. Var. X: Dosis de Krad., Var. Y: C.V. del porcentaje de proteína. Variedad Suchitán.

$Y = b_o + b_1 * X$ Modelo Lineal.

Coeficientes:
$b_o = 0.9813$ $b_1 = 0.2946$

Parámetros:
F calculada = 9.6463, Correlación = 0.73036,
Determinación = 0.54665.

$Y = b_o * X^{b_1}$ Modelo Logarítmico.

Coeficientes:
$b_o = 12.5137$ $b_1 = 0.0062$

Parámetros:
F calculada = 0.2656, Correlación = 0.17926,
Determinación = 0.03213.

$Y\ b_o * b_1\ X$ Modelo Geométrico.

Coeficientes:
$b_o = 9.1604$ $b_1 = 1.0234$

Parámetros:
F calculada = 9.8976, Correlación = 0.74365,
Determinación = 0.55301.

$Y = b_o + b_1 * X + b_2 * X^2$ Modelo Cuadrático.

Coeficientes:
$b_o = 9.3813$ $b_1 = 0.1946$ $b_2 = 0.0037$

Parámetros:
F calculada = 711.5166, Correlación = 0.74271,
Determinación = 0.55162.

$Y = b_o * Exp. (b_1 * X) * X^{b_2}$ Modelo Gamma.

Coeficientes:
$b_o = 8.3054$ $b_1 = 0.0303$ $b_2 = 0.9068$

Parámetros:
F calculada = 5.1300, Correlación = 0.80942,
Determinación = 0.65516.

6.8. Var. X: Dosis de Krad., Var. Y: C.V. de porcentaje de proteín proteína. Variedad Cuarenteño.

$Y = b_o + b_1 * X$ Modelo Lineal.

Coeficientes:
$b_o = 16.2949$ $b_1 = -0.1021$

Parámetros:
F calculada = 0.9085, Correlación = 0.31984,
Determinación = 0.10198.

$Y = b_o * b_1 \ X$ Modelo Geométrico.

Coeficientes:
$b_o = 16.0552$ $b_1 = 0.9933$

Parámetros:
F calculada = 0.8632, Correlación = 0.31207,
Determinación = 0.09739.

$Y\ b_o + b_1 * X + b_2 * X^2$ Modelo Cuadrático.

Coeficientes:
b_o = 17.1058 b_1 = -0.3047 b_2 = 0.0075.

Parámetros:
F calculada = 114.2606, Correlación = 0.36567,
Determinación = 0.13372.

$Y = b_o + b_1 * X + b_2 * X$ Modelo Raíz Cuadrada.

Coeficientes:
b_o = 17.4420 b_1 = 0.0809 b_2 = -1.0820

Parámetros:
F calculada = 112.6301, Correlación = 0.86306,
Determinación = 0.13181.

$Y = b_o * Exp.\ (b_1 * X) * X^{b_2}$ Modelo Gamma.

Coeficientes:
b_o = 15.6612 b_1 = -0.049 b_2 = 0.9965

Parámetros:
F calculada = 0.4305, Correlación = 0.33320,
Determinación = 0.11102.

6.9. Var. X: Sobrevivencia de Suchitán., Var. Y: Semillas por Vaina.

$Y = b_o + b_1 * X$ Modelo Lineal.

Coeficientes:
$b_o = 105.1667$ $b_1 = 0.3249$

Parámetros:
F calculada = 1.6718, Correlación = 0.20528,
Determinación = 0.04214.

$Y = b_o * b_1^X$ Modelo Geométrico.

Coeficientes:
$b_o = 102.1649$ b_1 1.0026

Parámetros:
F calculada = 2.1476, Correlación = 0.23128,
Determinación = 0.05349.

$Y = b_o + b_1 * X + b_2 * X$ Modelo Raíz Cuadrada.

Coeficientes:
$b_o = 66.4376$ $b_1 = -0.0924$ $b_2 = 8.1023$

Parámetros:
F calculada = 16,008.3965, Correlación = 0.20668,
Determinación = 0.04272.

$Y = b_o * Exp. (b_1 * X) * X^{b_2}$ Modelo Gamma.

Coeficientes:
$b_o = 59.5020$ $b_1 = 0.0010$ $b_2 = 1.1672$

Parámetros:
F calculada = 1.0600, Correlación = 0.23288,
Determinación = 0.05423.

6.10. Var. X: Sobrevivencia Cuarenteño., Var. Y: Semillas por Vaina.

$Y = b_o + b_1 * X$ Modelo Lineal.

Coeficientes:
$b_o = 97.5575$ $b_1 = 0.2998$

Parámetros:
F calculada = 4.0780, Correlación = 0.31131,
Determinación = 0.09692.

$Y = b_o * X^{b_1}$ Modelo Logarítmico.

Coeficientes:
$b_o = 14.9690$ $b_1 = 0.4513$

Parámetros:
F calculada = 9.0640, Correlación = 0.43885,
Determinación = 0.19259.

$Y = b_o + b_1 * X + b_2 * X^2$ Modelo Cuadrático.

Coeficientes:
$b_o = 36.7024$ $b_1 = 1.2413$ $b_2 = -0.0030$

Parámetros:
F calculada = 45,891.2300, Correlación = 0.35932,
Determinación = 0.12911.

$Y = b_o + b_1 * X + b_2 * X$ Modelo Raíz Cuadrada.

Coeficientes:

$b_o = -151.7477$ $b_1 = -1.5164$ $b_2 = 43.5723$

Parámetros:

F calculada = 48,181.5270, Correlación = 0.36817,
Determinación = 0.13555.

$Y = b_o * Exp. (b_1 * X) * X^{b_2}$ Modelo Gamma.

Coeficientes:

$b_o = 0.4063$ $b_1 = -0.0071$ $b_2 = 4.0492$

Parámetros:

F calculada = 5.0634, Correlación = 0.48261,
Determinación = 0.23292.

Apéndice 7.

TABLAS DE LAS LINEAS CON LOS RESULTADOS MAS SOBRESALIENTES PARA CADA UNA DE LAS VARIABLES ANALIZADAS, PARA UNA POSIBLE SELECCION EN LA GENERACION M_2.

1. ALTA PRODUCCION DE VAINAS/PLANTA.

VARIEDAD SUCHITAN		VARIEDAD CUARENTEÑO	
LINEAS	DOSIS (Kr)	LINEAS	DOSIS (Kr)
105	15	114-10	15
109-1	3	116-8	12
125-2	12	119-2	27
125-7	12	172-7	3
125-5	12	180-1	21
125-3	12		
125-1	12		
129-9	9		
130-1	3		
152-9	12		

2. CAMBIO DE COLOR DE LA SEMILLA.

2.1. COLOR MORADA:

VARIEDAD SUCHITAN		VARIEDAD CUARENTEÑO	
LINEAS	DOSIS (Kr)	LINEAS	DOSIS (Kr)
104-8	18	113-9	18
104-5	18	148-3	6
104-9	18	116-6	12
105-6	15	116-7	12
130-8	3	144-5	18
131-3	24	112-5	3
131-4	24	168-1	6
131-10	24	172-8	3
131-2	24	172-7	3
		173-2	6

2.2. COLOR: ROJA:

Solo en la variedad Cuarenteño se presentaron estas mutaciones en las siguientes líneas:

15 Kr: 145-3, 145-5, 145-9, 145-6, 145-4, 164-4, 175-6, 175-4, 175-2, 175-1, 175-3.

18 Kr: 174-3 y 144-5.

21 Kr: 115-8 y 115-1.

3. PORCENTAJE DE PROTEINA. (mayores de 25.00%).

VARIEDAD CUARENTEÑO		
LINEA	PORCENTAJE DE PROTEINA	DOSIS (Kr)
166-5	43.38	27
166-10	43.24	27
143-1	41.10	15
114-2	33.97	15
112-9	33.27	3
144-9	32.30	18
112-4	31.27	3
114-3	30.57	18
113-6	30.02	21
114-1	29.76	18
112-8	29.70	3
116-8	28.17	12
112-7	28.07	3
115-10	27.55	21
112-6	27.49	3
117-6	27.46	0
111-10	26.94	9
142-4	26.90	24
116-5	26.63	12
112-5	26.60	3
112-2	26.53	3
113-9	26.24	18
115-1	26.05	21
115-4	25.92	21
117-3	25.40	0
113-2	25.35	18
114-5	25.11	15

VARIEDAD SUCHITAN					
LINEA	PORCENTAJE DE PROTEINA	DOSIS (Kr)	LINEA	PORCENTAJE DE PROTEINA	DOSIS (Kr)
135-7	34.84	18	134-10	26.80	21
153-2	34.00	24	104-5	26.60	18
102-1	31.39	24	103-1	26.58	21
101-8	30.00	27	102-1	26.36	24
105-7	29.75	15	105-8	26.18	15
105-6	29.61	15	155-3	26.18	0
154-9	29.28	27	109-8	26.15	3
104-6	29.17	18	155-8	26.10	0
104-9	29.06	18	101-4	26.08	27
154-3	29.00	27	104-9	26.00	18
139-7	28.93	9	106-3	25.97	12
155-4	28.78	0	132-4	25.90	0
155-1	28.49	0	110-2	25.85	0
105-9	28.42	15	135-1	25.84	18
135-3	28.41	18	137-7	25.63	15
110-4	28.35	0	109-5	25.62	3
104-8	28.19	18	103-10	25.58	6
104-7	28.02	18	130-5	25.57	3
154-1	27.80	27	130-9	25.54	3
157-1	27.80	3	106-4	25.51	12
105-5	27.67	15	103-4	25.46	21
105-1	27.50	15	104-6	25.45	18
101-8	27.50	27	104-4	25.44	18
102-9	27.47	24	109-1	25.44	3
155-5	27.45	0	104-8	25.31	18
156-5	27.43	21	152.8	25.31	12
101-10	27.35	27	130-4	25.29	3
105-2	27.23	15	108-1	25.29	6
105-3	27.10	15	110-1	25.14	0
106-2	27.06	12	102-2	25.12	24
102-2	26.89	24	129-2	25.10	9
103-1	26.86	21	152-4	25.10	12
105-4	26.83	15	103-10	25.05	21
109-7	26.83	3	109-3	25.03	3

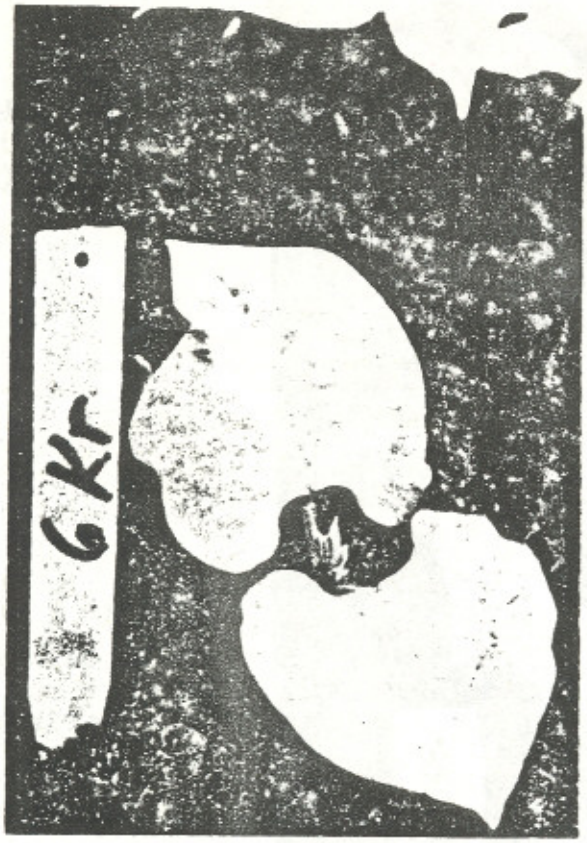


Foto 1.

Planta deficiente en clorofila (Tipo Clorina) en 6 Kr Variedad Suchitán (M_2).

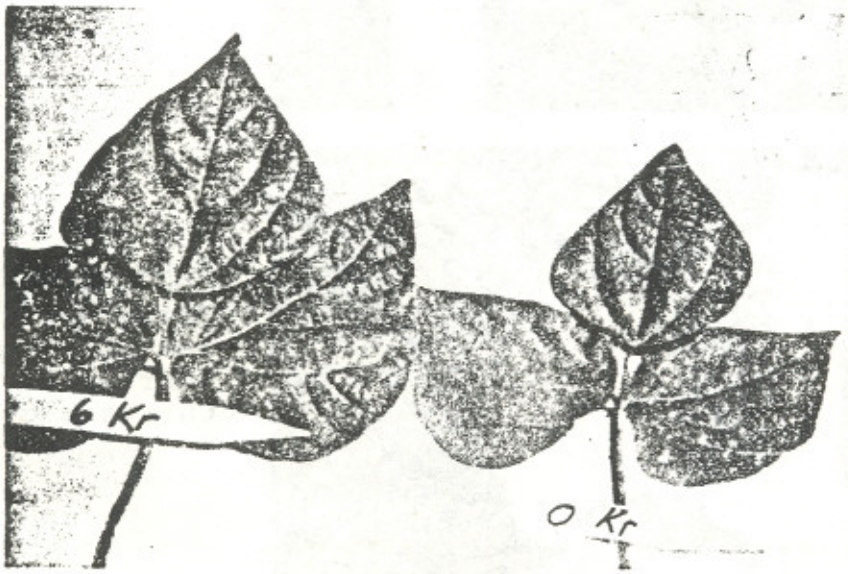


Foto 2.

Comparación del tamaño de hoja entre 0 Kr y 6 Kr. Variedad Suchitán (M_2).



Foto 3.

Cambios de coloración de la flor en Variedad Cuarenteño. (M_2).



Foto 4.

Hojas deformes y ásperas con 27 Kr. Variedad Suchitán.

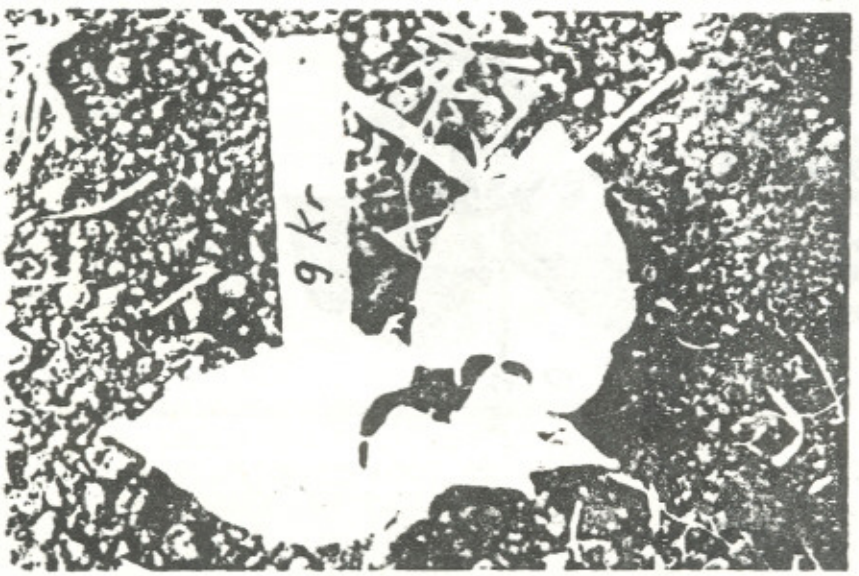


Foto 5.

Hojas cotiledonares cloróticas de 9 Kr en Variedad Cuarenteño.

X. BIBLIOGRAFIA.

1. ALLARD, R.W. Principios de la mejora genética de las plantas. Traducción J. Montoya, 3a. ed. Barcelona, Omega, 1978. pp. 20-31 y 453-463.

2. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC. 13th. ed. USA, 1980. 858 p.

3. AVERS, C.J. Genetics. New York, Van Nostrand, 1980. 17 p.

4. BROCK, R.O. Mutation plant breeding for seed protein improvement. Seed protein improvement. Viena, International Atomic Energy Agency, 1979. pp. 43-55.

5. CONN, E.E. y STUMPF, P.K. Bioquímica fundamental. - 3a. ed., México, Limusa, 1977. pp. 180-200.

6. COSTA RICA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA. - DIRECCION DE INVESTIGACION AGRICOLAS. UNIDAD DE SUELOS. Metodología para análisis de suelos, plantas y aguas. Compilado por Schweizer, S.; Coward, H.; Vásquez, A. Boletín Técnico no. 68. 1980. - 32 p.

7. CROCOMO, O.J., et al. Breeding for improved protein - content and quality in the bean (Phaseolus vulgaris L.) II. Further work in selections from spontaneous variation, Viena, International Atomic - Energy Agency, s.f. pp. 207-222.

8. DELGADO DE LA FLOR BADARACCO, L.F. Frecuencia de mutaciones inducidas por radiación gamma y metanosulfonato de etilo en la semilla de frijol (Phaseolus vulgaris L.). Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, IICA, 1970. 26 p.

9. DONINI, B. Problemas and methods of applied mutagenesis in sexually propagated plants. Maracaibo, Venezuela, Universidad del Zulia, 1980. 19 p. Regional Training Course on the use of induced mutations in plant breeding, 3 Nov-5 Dic. 1980.

10. FERNANDEZ, J. y AGUIRRE, A. Estudio del contenido de aminoácidos libres y proteícos en tubérculos de patata por cuatro métodos de conservación y almacenados durante cinco meses. Madrid, Junta de - Energía Nuclear, 1976. 15 p.

11. GOTTSCHALK, W. The influence of mutated genes on quantuty an quality of seed proteins. Indian Agric. - 19(2):205-223. 1975.

12. HUSSEIN, H.A.S. y DISOUKI, I.A.M. Mutation breeding experiments in Phaseolus vulgaris L. Zeitschrift für Pflanzenzüchtung 76:190-199. 1976.

13. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Effects of ionizing radiations on seeds. Proceedings of a symposium. Viena, 1961. pp. 103-116.

14. _____. Induced mutation in cross breeding. Vienna, 1976. 32 p.

15. _____. Manual on mutation breeding. Tecnical reports. 2a. ed. Vienna, 1977. 288 p. Series no. 119.

16. LOS ISOTOPOS EN la vida cotidiana. Vienna, Agencia Internacional de Energía Atómica, 1981. 24 p.

17. MICKE, A. Genetics aspects of selection for protein after mutation induction. Improving plant protein by nuclear techniques. Vienna, IAEA, 1970. 229 p.

18. MOH, C.C. Efecto de radiaciones ionizantes en las plantas superiores. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. Boletín Técnico no. 3. 1958. 22 p.

19. _____. Bean mutant induced by ionizing radiation III. Wrinkled leaf. Turrialba (Costa Rica) 18(2):181-182. 1968.

20. _____. y ALAN, J.J. A comparative study of the mutation frecuency and genetic behavior of mutans induced by acute an chronic gamma irradiation in commun beans (Phaseolus vulgaris L.). s.n.t. pp. 85-93.

21. _____. Análisis de los mutantes y mejoramiento mutagénico en frijoles. In Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. Aplicación de la energía nuclear a la agricultura. Informe Anual Julio 1, 1965. Turrialba, Costa Rica, 1965. pp. 39-41.

22. OSPINA Q., H.F. Morfología de la planta de frijol común (Phaseolus vulgaris L.). Guía de estudio. Cali, Colombia, CIAT, s.f. 49 p.

23. PEREZ, G. , TRUJILLO, F.R., MARTINEZ GARZA, A. Componentes de rendimiento y comparación de métodos de selección en frijol (Phaseolus vulgaris L.) después del tratamiento mutagénico (radiación gamma Co-60). Agrociencia (México), no. 25:45-64. 1976.

24. RABAIHAYO, P.R. Gamma-ray induced mutation in Phaseolus vulgaris L. East African Agricultural an Forestry Journal 41(2):134-138. 1975.

25. _____. The use of gamma-ray induced mutations in Phaseolus vulgaris L. Zeitschrift für Pflangenzüchtung 75(3):257-261. 1975.

26. SARAFI, A. Utilization de rayons ionizantes dars l'amélioration du haricot (Phaseolus vulgaris L.). Annales de l'amélioration des plantes 23(1):77-81. 1973.

27. TULMANN, N.; ANDO, A. y MENTEN, J. Obtençao de linhagens melhoradas de feojoeiro (Phaseolus vulgaris L) como primeira etapa em éstudis de induçao de mutacoes. Energ. Nucl. Agric. (Brasil) 1(2):102-107. 1979.

28. TULMANN, N. et al. Efeitos da radiacao-gamma em plantas de feojoeiro (Phaseolus vulgaris L.) em florescimento. Energ. Nucl. Agric. (Brasil) 2(2): 133-138.. - 1980.

29. YANKULOV, M.T.; ISASI, E.M. y ABREU FERRER, S. Algunos aspectos sobre la sensibilidad y mutabilidad de dos variedades de frijol por influencia de rayos gamma Co-60 y etil-metan-sulfonato. Ciencias de la Agricultura (Cuba). nov. 7:59-64. 1980.

30. WEIR, E.; STOCKING, R. y BARBOUR, M. Botánica. 5a. ed. México, Limusa, 1980. pp. 109-160.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
FACULTAD DE AGRONOMIA
Centro de Documentación é Información Agrícola

Vo Bo
Olga Ramírez