

Mutaciones clorofilicas inducidas por radiación Gamma en *Phaseolus vulgaris* L.

por

María Eugenia Meoño *

(Recibido para su publicación el 21 de marzo de 1975)

ABSTRACT: In a study of chlorophyll mutants of *Phaseolus vulgaris* L. through Co⁶⁰ gamma radiation, five types of mutants, classified as albino, cream, yellow, yellow-green and light green were obtained; all were lethal; their segregation was always proportionally lower than the Mendelian. Gamma radiation-induced mutations in black beans do not depart significantly from those obtained elsewhere in barley and wheat.

La revisión bibliográfica sobre los efectos de la radiación ionizante en plantas de interés económico muestra que la mayoría de las investigaciones se han realizado con cereales y que no se ha investigado en plantas tropicales. Esta revisión señala también que se han realizado muy pocos trabajos con mutaciones genéticas en dicotiledóneas tropicales.

La mayoría de los trabajos consultados señalan el uso de rayos X, radiaciones gamma y radiaciones de la bomba atómica como fuente mutagénica, mientras que pocos investigadores han estudiado los efectos producidos por compuestos químicos como la acridina, S-amino-etil-isotioronio, solución acuosa de hidracina hidroclicórica y dimetil sulfóxido (1, 16, 18, 19).

Mutaciones clorofilicas han sido estudiadas en cebada (2, 5, 6, 7, 8, 14, 15, 19, 21), trigo (1, 4, 14, 17, 20), avena (3), girasol (12), *Arabidopsis thaliana* (11), *Pisum sativum* (22), *Oenothera berteriana* y *Oenothera odorata* (9) *Lycopersicum pimpinellifolium* (13), *Phaseolus mungo* (10), etc.

STADLER (21) indujo mutaciones clorofilicas en cebada irradiada con rayos X, encontrando que la proporción de las plantas mutantes fue menor del 25%. Además encontró que cerca de un 90% de las mutaciones inducidas por rayos X en cebada se encontraban en estado de plántula. Los hallazgos de Stadler fueron confirmados por GUSTAFSSON (5, 6, 7, 8). MOH y NILAN (15) estudiaron la progenie de cruces de plantas heterocigotas de líneas mutantes de

* Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

cebada con plantas de una variedad normal, concluyendo que la mutación podría estar asociada con aberraciones cromosómicas tales como deficiencias muy pequeñas o duplicaciones.

DOLL (2) estudió la segregación de una muestra de 49 mutantes clorofílicos inducidos por radiaciones gamma en cebada. Estos experimentos dieron base para que se sugiriera que la desviación de la frecuencia de la segregación se debe principalmente a una transmisión reducida del gene mutante por medio del gametófito masculino. Asimismo MOH y SMITH (14) estudiaron mutaciones inducidas por la radioactividad producida por la bomba atómica y rayos X en cebada y trigo. Encontraron que alrededor del 25 por ciento de los mutantes no segregaron en la proporción 3:1.

El objetivo principal de la presente investigación fue estudiar el efecto de la radiación gamma en la producción de mutaciones clorofílicas en *Phaseolus vulgaris*.

MATERIAL Y METODOS

La variedad de frijol usada en este estudio fue la S-182-N (Selección Nº 182 de frijol negro), obtenida en la Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno de la Universidad de Costa Rica. La semilla provino de plantas autopollinizadas durante tres generaciones lo que aseguró su pureza genética.

Se irradiaron 4000 semillas en un pozo de irradiación gamma provisto de una fuente de Co^{60} de una potencia de 2000 curies en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza con sede en Turrialba. Se usó una dosis de 12 Kr.

La semilla irradiada se sembró en el campo en cuatro parcelas de 50 surcos o líneas cada una (20 semillas en cada surco). En una quinta parcela se sembró semilla no irradiada que constituyó el testigo. Las plantas obtenidas en esta primera siembra constituyeron la primera generación o R_1 .

La semilla de la R_1 se sembró siguiendo la misma técnica y en las plantas resultantes de esta siembra o R_2 se observó por primera vez la aparición de mutantes clorofílicos. Solamente la semilla de las plantas R_2 normales y en cuyas líneas se observaron mutantes se colectó individualmente y se identificó con una sigla correspondiente al experimento y a la línea o surco de donde provenía. De las líneas en que se encontraron mutantes se eligieron 50 plantas normales al azar y se tomaron 50 semillas de cada una de ellas para probarlas en el invernadero del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza en Turrialba. La semilla se sembró en cajas de madera con capacidad para 40 surcos cada una. Entre cinco y diez días después de sembrada la semilla, se observó la germinación y aparición de mutantes, ya que algunas mutaciones eran letales.

Un promedio de diez plantas normales de la tercera generación (R_3), provenientes de los surcos en que se observaron mutantes, se trasplantaron y sembraron en macetas, permaneciendo en el invernadero hasta que se recogió la semilla que constituyó la R_4 .

La clasificación de los mutantes clorofílicos en tipos específicos fue arbi-

traria. Muchos mutantes eran formas intermedias entre dos tipos y algunos variaban solamente en la intensidad del color de la hoja, según fueran las condiciones de desarrollo, o bien la edad de la planta cuando se hicieron las observaciones. Estas se clasificaron en cinco tipos:

- | | |
|---------------------|-------|
| 1— albino | (a) |
| 2— amarillo | (am) |
| 3— amarillo verdoso | (a-v) |
| 4— crema | (c) |
| 5— verde claro | (v-c) |

RESULTADOS Y DISCUSION

Como resultado de la irradiación se obtuvieron 47 líneas con mutantes clorofílicos, 2 líneas de mutantes clorofílicos espontáneos fueron halladas entre las plantas del grupo testigo.

Los resultados experimentales obtenidos en las generaciones tercera (R_3) y cuarta (R_4), así como las del testigo, se resumen en los cuadros 1 y 2. En el Cuadro 1 se tabulan los resultados obtenidos en las generaciones R_3 y R_4 así como los del tratamiento testigo. En el Cuadro 2 se han resumido los subtotaes obtenidos en el Cuadro 1 para cada uno de los diferentes tipos de mutantes R_3 y R_4 , así como los del tratamiento testigo.

Los datos tabulados en el Cuadro 1 muestran que para cada tipo de mutante el promedio de la frecuencia de segregación fue más bajo que el 25 por ciento, excepto en las líneas con mutantes crema, en que la población obtenida fue muy pequeña, lo que impidió un análisis estadístico preciso. Asimismo, puede observarse que la frecuencia de segregación en las dos líneas pertenecientes al testigo fue de 22 por ciento.

Es interesante hacer notar que los mutantes inducidos segregaron con una frecuencia promedio del 21% siendo más baja que la mendeliana, lo que concuerda con los resultados obtenidos en cebada y trigo por MOH y SMITH (14) quienes obtuvieron una frecuencia promedio del 20 por ciento. DOLL (2), trabajando con mutantes clorofílicos de cebada, obtuvo una frecuencia promedio de 22.4 por ciento.

Para probar estadísticamente cuáles líneas con mutantes mostraron segregación 3:1, se utilizó la prueba de "ji" cuadrado. Como resultado de estos cálculos, los mutantes de 47 líneas estudiadas fueron clasificados en tres grupos, a saber:

- 1— Los que presentan un porcentaje más alto del 25 por ciento estadísticamente significativo.
- 2— Los que presentan un porcentaje más bajo del 25 por ciento estadísticamente significativo, y
- 3— Los que presentan un porcentaje aproximado del 25 por ciento estadísticamente no significativo.

CUADRO 1

Resumen de resultados obtenidos al someter semillas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) a irradiación gamma

Número del mutante	Tipo de mutante	Plantas heterocigotas		Mutantes		X ²
		Total	Descendencia	No.	%	
1	crema	7	301	81	26.91	0.590
18	crema	2	89	20	22.47	0.303
Subtotal		9	390	101	25.90	1.674
2	amar. verd.	5	201	42	20.90	1.8050
6	amar. verd.	9	397	79	20.84	0.0605
8	amar. verd.	8	320	67	20.94	2.817
9	amar. verd.	10	375	46	12.27	32.428**
15	amar. verd.	3	136	38	27.94	0.628
22	amar. verd.	2	50	7	14.00	3.227
23	amar. verd.	7	308	66	21.43	2.0950
27	amar. verd.	5	219	49	22.37	0.8051
29	amar. verd.	11	490	119	24.29	0.1330
30	amar. verd.	5	159	35	22.01	0.7570
36	amar. verd.	8	267	66	24.72	0.0112
46	amar. verd.	8	275	10	3.64	66.940**
Subtotal		81	3179	624	19.63	48.913**
4	verde claro	3	115	27	23.48	0.1419
10	verde claro	14	486	130	26.75	0.7939
11	verde claro	10	402	86	21.39	2.7893
12	verde claro	5	199	61	30.65	3.3919*
13	verde claro	22	709	127	17.91	18.9944**
14	verde claro	6				
19	verde claro	7	332	51	15.36	16.4497**
20	verde claro	6	188	50	26.60	0.2553
21	verde claro	3	83	21	25.30	0.0040
25	verde claro	3	73	19	26.03	0.0409
40	verde claro	6	200	52	26.00	0.1067
42	verde claro	19	784	202	25.77	0.2449
44	verde claro	10	464	100	21.55	2.9425
Subtotal		114	4314	970	22.48	14.553**
Total		428	15.424	2.239	21.00	131.629**
Testigo						
1	amarillo	5	167	38	22.75	0.4491
2	amar. verd.	10	392	85	21.68	2.2993
Total		15	559	123	22.00	2.6760

CUADRO 1 (Cont.)

Número del mutante	Tipo de mutante	Plantas heterocigotas		Mutantes		X ²
		Total	Descendencia	No.	%	
5	albino	8	364	30	8.24	54.520**
24	albino	6	130	18	13.85	8.625**
26	albino	17	600	133	22.17	2.569
32	albino	18	478	156	32.64	14.865**
34	albino	15	565	72	12.74	45.268**
37	albino	6	198	57	28.79	1.515
39	albino	25	678	134	19.76	2.047
Subtotal		95	3013	600	19.91	41.570**
3	amarillo	13	462	43	9.31	60.66 **
7	amarillo	4	130	33	25.38	0.0103
16	amarillo	3	83	16	19.28	1.449
17	amarillo	2	116	31	26.72	0.184
28	amarillo	15	605	90	14.88	33.0716**
31	amarillo	3	100	14	14.00	6.453 *
33	amarillo	6	179	53	29.61	2.028
35	amarillo	15	391	99	25.32	0.0213
38	amarillo	15	400	101	25.25	0.004
41	amarillo	25	999	46	4.60	221.63 **
43	amarillo	3	91	17	18.68	1.937
45	amarillo	22	801	208	25.97	0.399
47	amarillo	4	171	34	19.88	2.3879
Subtotal		130	4528	785	17.34	141.824 **

* Valor de X² significativo al 5%.** Valor de X² significativo al 1%.

CUADRO 2

Resumen de los subtotales obtenidos en el Cuadro 1

Tipo de mutante	Nº	Plantas heterocigotas		Mutantes		X ²
		Total	descendencia	Nº	%	
crema	2	9	390	101	25.90	1.674
amar. verd.	12	81	3179	624	19.63	48.913*
albino	7	95	3013	600	19.91	41.570*
amarillo	13	130	4528	785	17.34	141.824*
verde claro	13	114	4314	970	22.84	14.553*
Total	47	428	15424	3239	21.00	131.629*
Testigo						
amarillo	1	5	167	38	22.75	0.4491
amar. verd.	1	10	392	85	21.68	2.2993
Total	2	15	559	123	22.00	2.6760

* Valor de X² significativo al 5%

Los resultados obtenidos en los grupos 1 y 2 son similares a los obtenidos por MOH y SMITH (14) en sus trabajos con cebada y trigo. Estos autores concluyeron que los promedios de segregación aberrantes pueden producir una transmisión desigual de los cromosomas normales y los mutados. Si un cambio génico como una deficiencia se indujera en un mismo cromosoma y por este motivo las microsporas resultaran no funcionales, entonces podría producirse una transmisión reducida del gene mutante y se obtendría una frecuencia de segregación menor del 25 por ciento. Si ese cambio génico se indujera en cromosomas diferentes del mismo par homólogo, el porcentaje de la progenie de mutantes sería mayor del 25 por ciento. Lo anterior fue comprobado por MOH y NILAN (15) al cruzar plantas heterocigotas de las líneas mutantes de cebada con plantas de una variedad normal. Como resultado de estos cruces, el gene mutante fue transmitido más o menos por un 50 por ciento de los gametos femeninos pero sólo por un 10 por ciento de los gametos masculinos, cuando se esperaba un 50 por ciento. MOH y NILAN sugieren que la mutación podría estar muy asociada con aberraciones cromosómicas tales como deficiencias pequeñas o duplicaciones. Por lo tanto, aquellos gametos portadores de tales aberraciones no podrían competir con los gametos normales a la hora de la fertilización y entonces el mutante sería transmitido en una frecuencia baja. DOLL (2) en sus trabajos con mutaciones clorofílicas en cebada comprobó lo que concluyeron MOH y SMITH (14) y sostuvo, asimismo, que el porcentaje de mutaciones clorofílicas es generalmente más bajo del 25 por ciento debido a la presencia de genes productores de deficiencias clorofílicas inducidas por irradiación.

Los resultados obtenidos en la presente investigación concuerdan con las observaciones hechas por los autores consultados (2, 14, 15, 21) y permiten concluir que los efectos producidos por las irradiaciones gamma en frijol son similares a los que se producen en cebada y trigo.

AGRADECIMIENTO

Agradezco al Dr. Carl C. Moh su gran ayuda y orientación a la hora de realizar la investigación de este trabajo.

RESUMEN

Esta investigación se dedicó a la obtención de mutantes clorofílicos en *Phaseolus vulgaris* L., inducidos por radiación gamma de una fuente de Co^{60}

Se obtuvieron cinco tipos diferentes de mutantes clorofílicos: albino, crema, amarillo, amarillo verdoso y verde claro. Todos estos mutantes fueron letales y segregaron en una proporción más baja que la mendeliana.

Los resultados obtenidos permiten concluir que los efectos producidos por las radiaciones gamma en frijol negro son similares a los que se producen en cebada y trigo, como ha sido demostrado en experimentos anteriores.

REFERENCIAS

1. D'AMATO, F.
1951. Mutazioni clorofilliane nell'orzo indotte da derivati acridinici. *Caryologia*, 3: 211-220.
2. DOLL, H.
1968. Segregation frequencies of induced chlorophyll mutants in barley. *Hereditas*, 59: 464-272.
3. FRÖIER, K.
1948. The oat chlorophyll mutations alboriscens, luteomaculata and tigrina-1. *Hereditas*, 34: 60-82.
4. FUJÜ, T.
1962. Chlorophyll mutations induced by radiation in einkorn wheat and their occurrence in clusters. *Rep. Kibara Inst. Biol. Res.*, 14: 1-11.
5. GUSTAFSSON, A.
1938. Studies on the genetic basis of chlorophyll formation and the mechanism of induced mutating. *Hereditas*, 24: 33-93.
6. GUSTAFSSON, A.
1941. Mutation experiments in barley. *Hereditas*, 27: 255-242.
7. GUSTAFSSON, A.
1946. The origin of albina and xantha mutations in barley. *Acta Radiol.*, 227: 300-307.
8. GUSTAFSSON, A.
1947. Mutations in agricultural plants. *Hereditas*, 33: 1-99.
9. HAUSTEIN, E.
1956. Die Mutante chlorina der *Oenothera berteriana*. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, 69: 143-148.
10. JANA, M. K.
1963. X-ray induced mutations in *Phaseolus mungo* L. I. Chlorophyll mutations. *Caryologia*, 16: 685-692.
11. KAS'YANENKO, A. G., & P. D. USMANOV
1968. Indutsirovannnye gamma-luchami Co⁶⁰ allel'nye mutatsii *Arabidopsis thaliana*. *Dokl. Akad. Nauk Tadzijsk. SSR*, 11: 69-73.
12. LYASHCHENKO, I. F.
1964. Khlorofill'nye mutatsii u podsolnechnika. *Bjull. Moskovsk. Obsc. Isp. Priro. Otd. Biol.*, 69: 141.
13. MERTENS, T. R., A. B. BURDICK, & F. R. GOMEZ
1956. Phenotypic stability in rate of maturation of heterozgotes for induced chlorophyll mutations in tomato. *Genetics*, 41: 791-803.
14. MOH, C. C., & L. SMITH
1951. An analysis of seedling mutants (spontaneous, atomic bom-radiation and X ray induced) in barley and durum wheat. *Genetics*, 36: 629-640.

15. MOH, C. C., & R. A. NILAN
1956. Reduced gene transmission in radiation-induced mutant barley. *J. Heredity*, 47: 129-131.
16. NAYAR, N. M., & P. J. JACHUCK
1969. Reduction in chlorophyll mutation frequency in rice when dimethyl sulphoxide is added to chemical mutagens. *Indian J. Genet. Pl. Breed.*, 29: 312-315.
17. NISHIYAMA, I., & S. ICHIKAWA
1961. Radiobiological studies on plants, IV. Gamma ray-induced chlorophyll mutations and mutation frequencies in wheat and oats. *Jap. J. Genet.*, 36: 175-183.
18. PANOYAN, R. E.
1970. Combined effect of the radioprotectorant S, B-amino-ethylisothiuronium and gamma irradiation for obtaining chlorophyll mutations in barley. *Radiobiologiya*, 9: 328-329.
19. ROSEN, G. VON
1942. *Pisum sativum* mutations induced by X rays. *Hereditas*, 28: 313-338.
20. SHANGIN-BEREZOVSKII, G., T. ORAV, & I. ORAV
1970. Vliyanie predposevnoi obrabotki semyan M₂ gamma oblechunnogo yachmenya solyanokislym gidrazinom na chastotu i spektr khlorofill'nykh mutatsii. *Izv. Akad. Nauk Estonsk. SSR, ser. Biol.*, 18: 29-39.
21. SMITH, L.
1952. A rare dominant chlorophyll mutant in durum wheat induced by atomic irradiation. *J. Heredity*, 43: 124-128.
22. STADLER, L. J.
1930. Some genetic effects of X rays in plants. *J. Heredity* 21: 3-19.