

**ESTUDIO SOBRE LA SENSIBILIDAD DEL CACAO (Theobroma cacao L.) A LAS  
RADIACIONES GAMMA**

**Y SU RELACION CON EL DAÑO CAUSADO EN EL NUCLEO CELULAR\***

Por

Fernando Monge Serrano  
Becario de la Organización  
de Estados Americanos.



Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas  
Turrialba, Costa Rica  
Mayo de 1960

\*Trabajo realizado dentro del contrato AT(30-1)-2043 entre la Comisión de Energía Atómica de los Estados Unidos y el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas.

ESTUDIO SOBRE LA SENSIBILIDAD DEL CACAO (Theobroma cacao L.) A LAS  
RADIACIONES GAMMA  
Y SU RELACION CON EL DAÑO CAUSADO EN EL NUCLEO CELULAR\*

Tesis

Sometida al Consejo de Estudios Graduados  
como requisito parcial para optar el grado  
de

Magister Agriculturae

en el

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas

APROBADO:

<u>Carl C. Moh</u>	Consejero
<u>Robin L. Guany</u>	Comité
<u>Albino</u>	Comité
<u>Harold</u>	

Mayo de 1960

A Nidya y nuestro hijo

## AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus más sinceros agradecimientos al Dr. Carl C. Moh por su decidida y constante ayuda en el desarrollo de la presente tesis, así como por sus desinteresados consejos y los conocimientos adquiridos a través del trabajo diario realizado en conjunto.

Extiende también su gratitud a los Doctores Gordon Havord y Robin Cuany, miembros del Comité Consejero, y en particular al Dr. Jorge Soria por su amable cooperación y aporte especialmente en los aspectos relacionados con el conocimiento en si del cacao.

Al Dr. Jorge León, Jefe del Departamento de Fitotecnia, al Dr. Howard Boroughs, Jefe del Proyecto de Energía Nuclear, y en general, a todo el personal del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas que en una u otra forma ha contribuido a la feliz realización de este trabajo, el autor hace llegar su agradecimiento.

Por último, sin deseo de disminuir por esto su importancia, el autor quiere hacer especial mención de la labor educativa que el Programa de Becas de la Organización de Estados Americanos está realizando en América. Deja constancia de sus más fervientes votos porque este Programa continúe en su función de levantar el nivel de vida de los pueblos americanos desde el punto de vista básico: la educación.

## BOSQUEJO BIOGRAFICO

Fernando Monge Serrano nació en Quito, Ecuador, el 27 de Noviembre de 1932. Cursó su Escuela Primaria en el Pensionado Pedro Pablo Borja N<sup>o</sup> 2 de esa ciudad y luego continuó sus estudios secundarios en el Colegio San Gabriel de la misma. Decidió seguir la carrera de Ingeniero Agrónomo y obtuvo el título de Bachelor of Sciences en Agricultura General, en la Universidad de Maryland, Estados Unidos de América. En goce de una beca de la Organización de Estados Americanos vino al Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, Turrialba, Costa Rica, para continuar estudios de nivel postgraduado y obtuvo el título de Magister Agriculturae, para la consecución del cual la presente tesis fué un requisito parcial.

## CONTENIDO

	Página
Lista de Cuadros . . . . .	vii
Lista de Figuras . . . . .	viii
I. INTRODUCCION. . . . .	1
II. REVISION DE LITERATURA. . . . .	2
A. Factores Biológicos que afectan la sensibilidad a las radiaciones . . . . .	2
1) Diferencias de especie vegetal . . . . .	2
2) Control Génico . . . . .	3
3) Tamaño y Número de Cromosomas. . . . .	5
4) Etapas de la División Celular. . . . .	6
5) Edad. . . . .	7
6) Actividad Metabólica. . . . .	7
B. Curvas de Supervivencia. . . . .	8
C. Efecto de la Dosis sobre la frecuencia de Aberraciones Cromosómicas . . . . .	9
III. MATERIALES Y METODOS. . . . .	12
IV. RESULTADOS. . . . .	14
A. Investigación Preliminar . . . . .	14
B. Estudio Comparativo sobre la diferente sensibilidad presentada por los cultivares Matina y UF 613 . . . . .	16
1) Curvas de Supervivencia . . . . .	16
2) Respuesta en Crecimiento. . . . .	18
3) Frecuencia de Puentes Cromáticos. . . . .	18
4) Efecto del Fraccionamiento de Dosis . . . . .	20
V. DISCUSION. . . . .	21
VI. RESUMEN. . . . .	24
SUMMARY. . . . .	26
VII. LITERATURA CITADA. . . . .	27
VIII. APENDICE . . . . .	31

## LISTA DE CUADROS

Cuadro N <sup>o</sup>	Página
1. Efecto de las radiaciones gamma en el crecimiento y supervivencia de cinco cultivares de cacao . . . . .	15
2. Efecto de las radiaciones gamma en el crecimiento y supervivencia de los cultivares Matina y UF 613 . . . . .	17
3. Frecuencia de puentes cromáticos inducidos por las radiaciones gamma en puntas de raíz de dos cultivares de cacao UF 613 y Matina . . . . .	19
4. Efecto del fraccionamiento de dosis en el crecimiento de los cultivares UF 613 y Matina . . . . .	20
5. Crecimiento longitudinal y diametral del tallo en plantas provenientes de semillas irradiadas a diversas dosis de rayos gamma. (Se usaron 40 semillas del clon UF 613 por tratamiento). . . . .	34

## LISTA DE FIGURAS

Figura N <sup>o</sup>	Página
1. Plántulas provenientes de semillas irradiadas a diversas dosis de radiación gamma. Los cultivares incluidos fueron de izquierda a derecha: UF 613, UF 221, UF 676, CC 40 y MATINA. . . . .	35
2. Relación entre supervivencia y dosis, en dos cultivares de cacao. . . . .	36
3. Relación entre altura del hipocotilo y dosis en dos cultivares de cacao, Matina Y UF 613. . . . .	37
4. Relación entre dosis y puentes por célula, en dos cultivares de cacao (Los datos son promedio de dos experimentos). . . . .	38
5. Crecimiento longitudinal del tallo. Plantas de cacao provenientes de semillas irradiadas a diversas dosis de rayos gamma. (Clon: UF 613). . . . .	39
6. Crecimiento diametral del tallo. Plantas de cacao provenientes de semillas irradiadas a diversas dosis de rayos gamma. (Clon: UF 613). . . . .	40



## I. INTRODUCCION

Uno de los problemas confrontados por los radiobiólogos del momento es la diferente sensibilidad a las radiaciones ionizantes existente entre organismos afines. Muchos factores afectan la radiosensibilidad; sin embargo, los factores biológicos son, ciertamente, de importancia fundamental. En plantas, por ejemplo, se ha encontrado diferencias en sensibilidad, no solamente entre las diferentes especies vegetales y variedades, sino aún entre diferentes líneas de una misma variedad.

Numerosos investigadores (2, 3, 4), han realizado extensos trabajos sobre la sensibilidad a las radiaciones en plantas principalmente de las zonas templadas. La información sobre la sensibilidad de especies tropicales es extremadamente escasa. En este trabajo se trata de investigar si hay diferencias en sensibilidad a las radiaciones gamma entre diversos cultivares de cacao. De encontrarse, es más importante estudiar el mecanismo que las causa. Siendo el núcleo celular uno de los sitios más sensibles a la radiación, parece conveniente investigar si las diferencias en sensibilidad están asociados con daños causados en el núcleo. Datos sobre el crecimiento de plantas provenientes de semillas irradiadas se presentan al final, en un Apéndice.

## II. REVISION DE LITERATURA

La literatura acerca de los efectos biológicos de la radiación, comenzó a aparecer un año después del descubrimiento de los rayos X por Roentgen (1896). El número de publicaciones en este campo ha aumentado desde entonces especialmente en los últimos diez años, debido al resurgimiento del interés general en materias de Radiobiología (1). No es el propósito de la presente revisión el cubrir completamente toda la literatura existente en esta rama de la ciencia, sino solamente incluir aquellas publicaciones directamente relacionadas con el problema, objeto de esta investigación.

A.- Factores Biológicos que afectan la Radiosensibilidad.1.- Diferencias de especie vegetal.

Estudios realizados por Johnson (2) sobre los efectos morfológicos de las radiaciones ionizantes en las plantas han revelado un amplio margen de sensibilidad entre diferentes especies vegetales. Al irradiar plántulas de 70 especies pertenecientes a 35 familias de plantas fanerógamas con una dosis aguda de rayos X desde los 2.000 a los 3.750 r, se encontró que 15 especies no eran afectadas, 15 eran levemente afectadas durante las primeras etapas de crecimiento, y las 40 especies restantes eran notablemente afectadas. La Quenopodiáceas, Umbelíferas, y Brasicáceas demostraron solamente un efecto leve, mientras que las Solanáceas, Escrofulariáceas, y Carduáceas fueron notablemente afectadas por la radiación. En otras familias hubo también géneros que demostraron susceptibilidad a la radiación. Estos fueron: Abronia, Ricinus, Lavatera, Ipomoea, Cobaea, Thunbergia, Campanula, y

### Centhrantus.

Gustaffson (3) estudió la sensibilidad a los rayos X de semillas en estado de reposo. En 18 especies de cultivos agronómicos, encontró que la dosis crítica para reducir marcadamente la sobrevivencia variaba entre los 5.000 r en el caso del girasol (Helianthus annuus) y más de 90.000 r en el caso del nabo (Brassica napus) y la mostaza blanca (Sinapis alba).

Recientemente, Sparrow y Christensen (4) hicieron un estudio sobre la sensibilidad de 110 especies vegetales, que representaban 35 familias, expuestas crónicamente a la radiación gamma. Encontraron que una dosis diaria de 30 a 40 r produjo un efecto severo (reducción drástica del crecimiento) en Lillium y Tradescantia, mientras que una dosis diaria menor que 4.000 r no produjo ningún efecto visible en Gladiolus. Los datos indicaron que la sensibilidad de la especie más resistente era 200 veces mayor que la de la especie menos tolerante entre todas las investigadas.

### 2.- Control Génico.

Se ha informado en varias oportunidades que la sensibilidad a las radiaciones es controlada por genes. Smith (5) encontró en semillas durmientes de trigo einkorn (Triticum monococcum) que un factor simple mendeliano en estado homocigoto, definitivamente aumentaba la sensibilidad a los rayos X.

Gregory (6) trabajando con diversas líneas de maní (Arachis hypogaea) e híbridos entre éstas, encontró que la sensibilidad (porcentaje de sobrevivencia) de cada híbrido a los rayos X era aproximadamente igual al promedio de la de sus padres. Encontró aún más, que

el orden de sensibilidad de estas líneas a neutrones rápidos, no era el mismo que el observado con rayos X. Esto se atribuyó a que diferentes genotipos responden de diferente manera a los dos tipos de radiación.

En animales, Grahn (7) encontró que la  $DL_{50/30}$ \* de 4 líneas endocriadas de ratones variaba desde los 500 a los 650 r de rayos X. Estudios posteriores con las progenies  $F_1, F_2, F_3$ , obtenidos tanto de la línea más resistente como de la más susceptible, revelaron que la resistencia a los rayos X era una característica heredable (8). Siendo el tiempo y la razón de recuperación del sistema hematopoiético las mayores variables fisiológicas para la expresión de diferencias genéticas en la respuesta a la radiación, la manera como los genes actúan podría ser la de controlar la razón de producción de células sanguíneas durante el proceso de recuperación. Este autor (8) también encontró que la radiosensibilidad aparecía asociada con el gene de albinismo. Sin embargo, sus datos no permitieron la distinción entre pleiotropismo o ligamiento como base de esta asociación.

En bacterias también se ha encontrado casos en que la radiosensibilidad es controlada por cambios génicos. Witkin (9) aisló un mutante radioresistente de la raza B de Escherichia coli. Esta raza mutante, llamada B/r, demostró una resistencia a la letalidad inducida por los rayos X mayor que la de la raza B por un factor de 1.8 (cf. Zelle & Hollaender, 43).

---

\*

$DL_{50/30}$  = Dosis letal 50%, 30 días.

### 3.- Tamaño y número de cromosomas.

La evidencia presentada hasta el momento no permite establecer una correlación definitiva entre el tamaño de los cromosomas y la sensibilidad, a las radiaciones, sin embargo los datos obtenidos por Sparrow y Christensen (4) sugieren que las plantas con cromosomas relativamente grandes tienen una sensibilidad mayor que las plantas con cromosomas pequeños.

Se ha investigado más extensamente sobre la influencia del nivel de ploidia en la sensibilidad a las radiaciones, y la mayor parte de los estudios demuestran que las plantas con niveles más altos de pñi ploidia son más resistentes (10). Smith (11) usando semillas de series poliploides de trigo y avena, autotetraploides de cebada, de centeno, y de maíz, y un anfidiplóide de trigo y Aegilops, encontró que la tolerancia a los rayos X estaba correlacionada con el nivel de poliploidia.

Recientemente, Sparrow y Shairer (12) investigaron la tolerancia a la radiación en especies de Sedum y Crysanthemum hasta el nivel 22-ploide. Observaron una relación lineal entre la tolerancia a las radiaciones y el número de cromosomas. Sin embargo, las investigaciones de Mortimer (13) en células de levadura, demostraron una tendencia diferente. Usando series poliploides desde el haploide hasta el hexaploide de Saccharomyces cerevisiae, observó un aumento en resistencia a la inactivación por rayos X desde el nivel haploide hasta el diploide, y una reducción progresiva en resistencia desde el nivel diploide hasta el hexaploide. Mortimer atribuye la mayor parte de la inactivación en cultivos haploides a letalidad recesiva, mientras que

la inactivación de los cultivos con un grado más alto de poliploidia se debe, en su mayor parte, a letalidad dominante.

Konzac y Singleton (14) compararon los efectos de rayos X y neutrones en líneas diploides, tetraploides, y hexaploides de trigo y avena. Encontraron que los niveles más altos de ploidia mostraban mayor resistencia a los rayos X. Con neutrones, sin embargo los tetraploides fueron más resistentes que los hexaploides o diploides.

#### 4.- Etapas de la división celular.

Algunas investigaciones sobre la sensibilidad de los cromosomas a las radiaciones ionizantes han demostrado que la frecuencia de roturas inducidas por la radiación, varía con las diferentes etapas de la división celular. Sparrow (15) irradió con rayos X los cromosomas de Trillium erectum en diferentes estados de meiosis y encontró que la sensibilidad cromosómica aumentaba durante la profase, alcanzando su máximo en diplotene, y luego disminuía gradualmente hasta llegar a un mínimo en interfase temprana. La diferencia en sensibilidad, que fué por lo menos de sesenta veces, se determinó por el número de fragmentos cromosómicos observados en metafase y anafase. Resultados similares obtuvo Bowen (16) en Lillium.

También se ha estudiado la sensibilidad de los cromosomas a la radiación en etapas posteriores a la división meiótica. El estado de reposo celular fué el más resistente a los rayos X, durante la primera división de la microspora en Tradescantia. Sax (17) encontró que la sensibilidad aumentaba al entrar el núcleo en profase y permanecía alta durante este período (17), y Bishop (18) anotó que el máximo de sensibilidad se alcanzaba en metafase-anafase.

En la segunda división, que tiene lugar en el tubo polínico, el máximo de sensibilidad se manifestó en profase y fué relativamente más bajo que el de la 1ª división (18).

En células somáticas, la metafase es la etapa más sensible de la mitosis. Davidson (19) demostró esto en células diploides y tetraploides (inducidas por colchicina) de raíces de Vicia faba.

Al comparar la sensibilidad de cromosomas meióticos y mitóticos, Sax (17) generalizó el hecho de que los cromosomas meióticos son más sensibles a la radiación que los mitóticos.

En general, el estado condensado de los cromosomas (profase tardía, metafase, y anafase) se caracteriza por una alta sensibilidad, mientras que las etapas celulares en las cuales el material cromatínico está difuso, son menos sensibles al daño causado por la radiación.

##### 5. Edad.

Nichols (20) no pudo encontrar una correlación entre edad y sensibilidad a las radiaciones en semillas de Allium, sin embargo encontró, que la edad por si misma podía causar aberraciones cromosómicas. Por otro lado, las observaciones de Nilan y Gunthardt (21), probaron definitivamente que a medida que la edad de las semillas aumenta, la sensibilidad a las radiaciones en términos de poder germinativo y frecuencia de puentes cromáticos y fragmentos, también aumenta. Sugirieron estos autores, que la causa principal de este fenómeno podría ser la formación de compuestos químicos producidos por la descomposición de reservas en las semillas.

##### 6.- Actividad metabólica.

El estado fisiológico parece ejercer una influencia sobre la sen-

sibilidad de las células. Konzac (22) demostró que la sensibilidad de semillas remojadas antes de la irradiación era mayor que la de semillas secas. Además, al estudiar semillas de maíz en germinación, se ha encontrado que el aumento en sensibilidad parece correr paralelo con la actividad metabólica (23).

El proceso de recuperación después de la irradiación demostró también un efecto del nivel metabólico. Al cambiar las condiciones ambientales de germinación de manera que la actividad metabólica se reduzca, se favoreció la recuperación de las plantas (24).

#### B. Curvas de Supervivencia.

Es de conocimiento general que uno de los efectos biológicos inducidos por las radiaciones ionizantes es la muerte del organismo. De igual manera se conoce que el número de muertes en una población irradiada por lo general aumenta de acuerdo con la dosis de radiación. Si se pone en un gráfico la fracción sobreviviente de una población como función de la dosis, se obtiene una curva de supervivencia. Esta puede ser de dos tipos: exponencial o sigmoide.

Cuando el efecto letal se debe a la llamada "acción de unidad simple" (una sola ionización o una sola partícula ionizante), la curva obtenida será de tipo exponencial; cuando el efecto es consecuencia de la acción cumulativa de varias partículas ionizantes, la curva resultante será sigmoide. En este último caso, los resultados definitivamente no se deben a una "acción de unidad simple"; en cambio, cuando se obtiene una curva exponencial, no se elimina la posibilidad de que ésta se deba a una acción de tipo cumulativo, ya que una gran variabilidad en la resistencia de los organismos podría también producir una curva de este tipo (25).



Como ilustración de estos dos tipos de curvas citemos los estudios de Zirkle (26) en células haploides y diploides de levadura. Este autor obtuvo una curva exponencial para la inactivación de células haploides, mientras que los organismos diploides demostraron una respuesta fuertemente sigmoide. En este último caso, dos loci en lugar de uno sólo, tuvieron que inactivarse para producir el efecto.

C. Efecto de la Dosis sobre la Frecuencia de Aberraciones Cromosómicas.

Sax (27) distingue dos tipos de aberraciones cromosómicas: 1) Aberraciones de un impacto, también llamadas de impacto simple, como las roturas cromosómicas o cromatídicas, que son debidas a roturas singulares, y 2) Aberraciones de dos impactos, también llamadas de impacto múltiple, como intercambios cromosomales o dicéntricos, que son el resultado de dos o más roturas.

Al representar en un sistema de coordenadas la frecuencia de aberraciones y la dosis se obtiene una relación lineal siempre que las aberraciones sean del tipo de un impacto, mientras que, con las aberraciones de impacto múltiple, se obtiene una curva exponencial.

Algunos experimentos producen curvas que son una mezcla de los tipos descritos, pues las roturas pueden deberse, ya sea a eventos de impacto simple o a eventos de impacto múltiple. Kirby-Smith y Daniels (28) han descrito casos de esta naturaleza al irradiar polen seco de Tradescantia con rayos X, gamma, o partículas beta. Se encontró un componente definitivamente no lineal en la relación de dosis a frecuencia de aberraciones por roturas isocromatídicas.

Kayhart (29), al comparar gráficamente la frecuencia de mutaciones para color de ojos de las avispas Mormoniella vitripennis en fun-

ción de la dosis de rayos X, neutrones termales, y neutrones rápidos, también obtuvo curvas que demuestran una porción lineal al comienzo y luego, un aumento mayor que el esperado en proporcionalidad, por cada aumento de la dosis. Este autor sugirió que las mutaciones en las do sis más bajas son causadas por impactos simples, mientras que el rápi do ascenso de la curva, se debe a eventos de dos impactos. Se postuló que este tipo de mutantes fué resultado de pequeñas inversiones y deleciones cromosomales.

Los efectos biológicos de la dosis fraccionada han atraído, en los últimos años, gran parte de la atención de los investigadores en Radiobiología por sus implicaciones de importancia tanto teórica como práctica. Más todavía, el uso de la técnica de fraccionamiento ha traído como consecuencia un mejor entendimiento de ciertos mecanismos celulares, tales como el proceso de reintegración de las roturas cromosómicas.

Los resultados cuantitativos obtenidos en experimentos con dosis fraccionada, difieren en ciertos aspectos de aquellos obtenidos en experimentos de dosis masiva.

El trabajo pionero de Sax (30, 17) y sus estudiantes (31, 32) ha demostrado que, en comparación con dosis masivas, las dosis fracciona das tienden a reducir la frecuencia de aberraciones cromosómicas de dos impactos, mientras la frecuencia de aberraciones de un impacto per mane ce inalterada. Estos resultados se entienden fácilmente desde un punto de vista físico, Sax (27) anotó que el tiempo es uno de los factores limitantes para la producción de aberraciones de dos impactos. Si las roturas inducidas por la primera fracción de dosis se restituyen o reúnen antes de que se produzcan nuevas roturas por la segunda

facción de dosis, el primer grupo de roturas no tiene interacción con el segundo. Por tanto, estos dos grupos son independientes el uno del otro y las frecuencias de aberraciones de dos impactos producidas por cada fracción de dosis, son aditivas.

Lane (33) explicó la disminución en la frecuencia de aberraciones cromosómicas de dos impactos por fraccionamiento de dosis, desde un punto de vista fisiológico. Sugirió que la primera exposición de los cromosomas a la radiación, los haría más resistentes a la segunda exposición. Varios investigadores (34, 35, 36) realizaron experimentos cuyos resultados rechazan la explicación de Lane.

Russell (37) anota que la respuesta en crecimiento a la dosis fraccionada es similar a aquella de las aberraciones cromosómicas de dos impactos.

## III. MATERIALES Y METODOS

Se seleccionó los cinco cultivares de cacao siguientes para un estudio preliminar sobre radiosensibilidad: U F 613, U F 221, U F 676 (clones de la United Fruit Co.), C C 40 (clon seleccionado en el I. I. C. A) y Matina (tipo local de cacao). Todas las semillas se obtuvieron de la colección del I.I.C.A. en Turrialba, Costa Rica.

Los estudios de irradiación se hicieron con semillas inmediatamente después de cosechadas. Se pelaron las testas y se usó 20 semillas por tratamiento. Puestas en bolsas de polietileno, se irradiaron con rayos gamma provenientes de una fuente de  $Co_{60}$ . Esta fué operada mecánicamente en el campo, a razón de 400 r por minuto, aproximadamente. Para aplicar las diferentes dosis, las bolsas de polietileno con semillas se pusieron a la misma distancia de la fuente, y la dosis total se controló variando el tiempo de irradiación.

Para los experimentos de dosis fraccionada, las semillas se irradiaron de manera similar a la descrita, excepto por una interrupción de la irradiación que dividió la dosis total en dos fracciones. Para todos los experimentos se mantuvieron lotes de control fuera del campo bajo condiciones similares a las de los lotes que se irradiaban.

Las semillas se trataron con Fermate antes de la siembra para evitar infecciones fungosas. La siembra se realizó en cajas de madera llenas de aserrín, cubiertas con una tapa de malla plástica y papel absorbente el cual se mantuvo húmedo todo el tiempo para proveer las condiciones de alta humedad necesarias para la germinación.

Se encontró que la altura del hipocotilo era un caracter de confianza para medir el efecto de la radiación en el crecimiento. Seis

semanas después de la siembra, se midió la longitud del hipocotilo. Al mismo tiempo se obtuvo datos de sobrevivencia. En los lotes irradiados con dosis altas, algunas semillas demostraron elongación del hipocotilo el cual, sin embargo, más tarde murió. Estas plantas se contaron como muertas. Si después de seis semanas de la siembra el hipocotilo todavía estaba vivo, se encontró que las plantas, por lo general sobrevivían, a pesar de que períodos considerables de tiempo transcurrían antes de que el epicotilo demostrara crecimiento.

Para el estudio citológico, las semillas irradiadas se pusieron a germinar de la manera ya descrita, pero se las mantuvo en la oscuridad para evitar una posible periodicidad del ciclo mitótico. Se tomó muestras de puntas de raíz cuatro días después de la siembra, se las fijó en solución de Carnoy, y se las deshidrató por el método de alcohol butílico terciario descrito por Johansen (38). Después de infiltrarlas en parafina (Tissue-mat), se cortó secciones longitudinales de 10 u de grosor y se usó vióleta cristalina como colorante.

La frecuencia de puentes cromáticos observados en anafase fué el índice para estimar el daño causado en el núcleo. Se calculó el error estándar de acuerdo a la distribución de Poisson (cf. Lea. 25).

## IV. RESULTADOS

A.- Investigación Preliminar.

En la Tabla 1 se presenta la diferente sensibilidad de cinco cultivares de cacao a diversas dosis de rayos gamma, en términos de supervivencia y respuesta en crecimiento. En los datos de supervivencia se puede ver que una dosis de 5 Kr no es suficiente para producir efecto letal en las semillas de ninguno de los cultivares probados. Cerca del 50% de las semillas sobrevivieron a una dosis de 10 Kr en los clones U F; sin embargo, esta misma dosis indujo daños muy severos en las semillas de C C 40 y Matina. Los porcentajes de supervivencia para estos dos últimos fueron diez y cero, respectivamente.

La respuesta en crecimiento, determinada por la altura del hipocotilo, también demostró diferencias entre los cinco cultivares. Es evidente (Tabla 1) que la radiación inhibió el crecimiento del hipocotilo y que el grado de inhibición aumentó con la dosis. Comparando dosis iguales la reducción del crecimiento del hipocotilo fué mayor en C C 40 y Matina que en los clones U F. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos para supervivencia, los que demuestran la mayor susceptibilidad de C C 40 y Matina comparada con la de los clones U F (Fig. 1).

Tabla 1.- Efecto de las radiaciones gamma en el crecimiento y supervivencia de cinco cultivares de cacao.

Datos tomados después de 6 semanas de la siembra

Cultivar	DOSIS (Kr)	Número de semillas irradiadas	Supervivencia		Altura del Hipocotilo	
			Nº	%	cm.	% del Control
U F 613	0	20	20	100	11.6 <sup>±</sup> 0.36	100
	2.5	20	20	100	11.0 <sup>±</sup> 0.29	94
	5	20	20	100	6.9 <sup>±</sup> 0.40	59
	10	20	10	50	2.8 <sup>±</sup> 0.23	24
U F 221	0	18	18	100	10.9 <sup>±</sup> 0.28	100
	2.5	20	20	100	10.7 <sup>±</sup> 0.29	98
	5	19	19	100	6.2 <sup>±</sup> 0.43	57
	10	20	8	40	2.4 <sup>±</sup> 0.15	22
U F 676	0	20	20	100	10.8 <sup>±</sup> 0.31	100
	2.5	19	19	100	9.8 <sup>±</sup> 0.29	91
	5	20	20	100	5.9 <sup>±</sup> 0.59	55
	10	20	9	45	2.9 <sup>±</sup> 0.21	27
C C 40	0	20	20	100	12.1 <sup>±</sup> 0.27	100
	2.5	20	20	100	9.9 <sup>±</sup> 0.27	82
	5	20	20	100	3.6 <sup>±</sup> 0.41	30
	10	20	2	10	2.0 <sup>±</sup> 0.35	16
Matina	0	20	20	100	11.7 <sup>±</sup> 0.14	100
	2.5	20	20	100	9.5 <sup>±</sup> 0.18	81
	5	20	20	100	3.4 <sup>±</sup> 0.31	29
	10	20	0	0	0	0

B.- Estudio Comparativo sobre la diferente sensibilidad a la radiación presentada por los cultivares U F 613 y Matina.

Parecía conveniente una comparación más detallada entre las líneas resistentes y las sensibles ya que, el entendimiento del mecanismo básico que causa estas diferencias es la parte esencial del problema. Se escogió para representar al grupo resistente (clones U F) el clon U F 613, y para el grupo sensible (Matina y C.C 40) el tipo Matina, por constituir estos cultivares los dos extremos de sensibilidad entre los cinco probados. Los resultados, en términos de supervivencia, crecimiento, daño en el núcleo, y efecto del fraccionamiento de dosis, se presentan a continuación.

1.- Curvas de supervivencia.

Los datos de supervivencia para Matina y U F 613 a diversas dosis de radiación, se presentan en la Tabla 2. Las curvas de supervivencia (Fig. 2) se obtuvieron comparando graficamente porcentajes de supervivencia y dosis. Claramente ambas curvas son de tipo sigmoide, siendo la gradiente su principal diferencia. Con dosis mayores que los 6 Kr, el porcentaje de supervivencia en el cacao Matina cae más rápidamente que en el U F 613. Por interpolación, la  $DL_{50}^*$  para Matina está alrededor de los 7.5 Kr, y para U F 613, en los 9.5 Kr, más o menos.

---

\*  $DL_{50}$  = Dosis letal 50%



Tabla 2.- Efecto de las radiaciones gamma en el crecimiento y supervivencia de los cultivares Matina y U F 613.

Datos tomados después de 6 semanas de la siembra

Cultivar	DOSIS (Kr)	Número de semillas Irradiadas	Supervivencia		Altura del Hipocotilo	
			Nº	%	cm.	% del Control
U F 613	0	40	40	100	12.2 <sup>±</sup> 0.21	100
	2	40	40	100	11.4 <sup>±</sup> 0.16	94
	4	39	39	100	8.7 <sup>±</sup> 0.23	73
	6	39	39	100	4.4 <sup>±</sup> 0.27	36
	8	40	34	85**	2.8 <sup>±</sup> 0.10	23
	10	40	15	37.5**	2.7 <sup>±</sup> 0.22	22
	12	40	3	7.5	2.0 <sup>±</sup> 0	16
Matina	0	39	39	100	11.5 <sup>±</sup> 0.19	100
	2	40	40	100	10.7 <sup>±</sup> 0.15	93
	4	40	40	100	5.0 <sup>±</sup> 0.25	44
	6	40	40	100	2.4 <sup>±</sup> 0.13	21
	8	40	16	40**	2.2 <sup>±</sup> 0.07	19
	10	40	1	2.5**	2.0 <sup>±</sup> 0	17
	12	40	0	0	0	0

## 2.- Respuesta en crecimiento.

El crecimiento de estos dos cultivares medido por la altura del hipocotilo, demostró solamente pequeñas diferencias a 2 Kr (Tabla 2). Aumentando la dosis a 4 Kr, la caída de la curva para Matina fué mayor que para U F 613 (Fig. 3). Sobre los 8 Kr, la diferencia disminuye, ya que ambos cultivares fueron severamente afectados por dosis altas.

## 3.- Frecuencia de puentes cromáticos.

Estudios preliminares revelaron que un porcentaje mínimo de mitosis tiene lugar después de tres días de germinación, alcanzando su máximo a los cuatro días. Si se tomó las muestras de puntas de raíz después de cuatro días de germinación, es lógico suponer que las frecuencias de puentes cromáticos observadas en este estudio pertenecieron al primer ciclo mitótico.

Los datos sobre la frecuencia de puentes inducidos por diversas dosis de rayos gamma en U F 613 y Matina se presentan en la Tabla 3. Dos experimentos realizados por separado, demostraron una tendencia similar: la frecuencia de puentes era generalmente más alta en Matina que en U F 613, especialmente en las dosis altas (10 Kr).

Tabla

Table 3.- Frecuencia de puentes cromáticos inducidos por las radiaciones gamma en puntas de raíz de dos cultivares de cacao, U F 613 y Matina

Cultivar	DOSIS (Kr)	PUENTES / CELULA					Células observadas	Total puentes	Promedio puentes/cél.
		0	1	2	3	4			
E X P E R I M E N T O 1									
U F 613	0	359	1	0	0	0	360	1	0.003 <sup>±</sup> 0.00
	2.5	386	12	2	0	0	400	16	0.04 <sup>±</sup> 0.01
	5	365	25	5	0	0	395	35	0.09 <sup>±</sup> 0.01
	10	298	56	14	1	0	368	87	0.24 <sup>±</sup> 0.02
Matina	0	360	0	0	0	0	360	0	0
	2.5	376	19	5	0	0	400	29	0.07 <sup>±</sup> 0.01
	5	349	40	10	1	0	400	63	0.16 <sup>±</sup> 0.02
	10	294	64	17	9	4	349	141	0.40 <sup>±</sup> 0.03
E X P E R I M E N T O 2									
U F 613	0	300	0	0	0	0	300	0	0
	2.5	422	28	0	0	0	450	28	0.06 <sup>±</sup> 0.01
	5	386	52	12	0	0	450	76	0.17 <sup>±</sup> 0.02
	10	306	90	22	2	0	420	140	0.33 <sup>±</sup> 0.03
Matina	0	300	0	0	0	0	300	0	0
	2.5	425	23	2	0	0	450	27	0.06 <sup>±</sup> 0.01
	5	390	47	11	0	0	450	69	0.15 <sup>±</sup> 0.02
	10	284	94	52	2	0	432	204	0.47 <sup>±</sup> 0.03

Para mejor comparación, la frecuencia promedio de estos dos experimentos, y la dosis se expresan gráficamente en la Fig. 4. Es interesante notar que ambas curvas son producto de una mezcla de aberraciones de un impacto y de impacto múltiple.

#### 4.- Efecto del fraccionamiento de dosis.

Para estudiar el efecto del fraccionamiento de dosis, se escogió una dosis masiva de 4 Kr, la cual se fraccionó en dos partes iguales con un intervalo de tiempo de 2 horas entre fracciones. Los resultados preliminares sobre este punto se presentan en la Tabla 4. Es fácil ver que para U F 613 no existe una diferencia significativa en la altura del hipocotilo entre el tratamiento de dosis masiva y el de dosis fraccionada. En cambio, estos mismos tratamientos en Matina, demuestran una diferencia significativa.

Tabla 4. Efecto del fraccionamiento de dosis en el crecimiento de los cultivares U F 613 y Matina.

(Se usaron 20 plantas por tratamiento)

DOSIS (Kr)	A L T U R A   D E L   H I P O C O T I L O	
	U F 613	MATINA
0	11.3 ± 0.34	11.0 ± 0.16
2	10.7 ± 0.19	9.0 ± 0.20
4	6.5 ± 0.48	4.1 ± 0.25
2 + 2 hr. + 2	6.8 ± 0.42	5.0 ± 0.34



## V. DISCUSION

Estudios sobre sensibilidad a las radiaciones se han llevado a cabo extensamente tanto en animales como en plantas. Casi todos estos estudios han tenido un objetivo común: la búsqueda de un mejor entendimiento del mecanismo por el cual las radiaciones ionizantes producen sus efectos en las células vivas. Uno de los métodos más usuales para estudiar la sensibilidad a las radiaciones es el análisis de la relación existente entre supervivencia y dosis, o sea, el estudio de la curva de supervivencia, al representar estos dos factores en forma gráfica. Las curvas de supervivencia generalmente se dividen en dos categorías: la exponencial o de un impacto, y la sigmoide o de impacto múltiple. Su forma, por tanto, proporciona información acerca del número de impactos (ionizaciones o partículas ionizantes) necesarios para producir efecto letal.

Como se ha demostrado en los resultados de esta investigación, diferentes cultivares de cacao muestran diferente sensibilidad a las radiaciones, y comparando las curvas de supervivencia del cultivar resistente, U F 613, y del sensible, Matina, es posible averiguar si la acción mortal de la radiación difiere de un cultivar a otro. En la Fig. 2 se aprecia que las curvas de supervivencia de ambas líneas son sigmoides. La posibilidad de que el efecto letal se deba a una acción de impacto simple, queda así eliminada. Por tanto, éste se debe lógicamente, a una acumulación de dos o más impactos de la radiación, siendo la gradiente la principal diferencia entre estas dos curvas.

Bastante bien se conoce que el núcleo tiene un papel importante en el crecimiento y que además, es extremadamente sensible al daño producido por la radiación. Por esta razón es conveniente comparar el

daño inducido en la línea resistente y en la sensible, y ver si la reducción del crecimiento se correlaciona con el daño nuclear. Una comparación de las frecuencias de puentes cromáticos observados en anafase, reveló que la inducida en Matina era significativamente mayor que la frecuencia inducida en U F 613. En el presente estudio parece, por tanto, que la reducción del crecimiento y el daño nuclear son fenómenos relacionados.

Sin embargo, sobre este punto existe todavía controversia. Gray y Scholes (40) de sus trabajos con Vicia faba concluyeron que "el daño estructural de los cromosomas es uno de los principales factores que llevan a la inhibición del crecimiento." En contraste, el trabajo de Caldecott y Smith (41) y Caldecott, et. al. (42) en Hordeum, rechazó esta posibilidad. Los resultados obtenidos en el presente trabajo apoyan el axioma de Gray y Scholes.

La forma de la curva obtenida para la frecuencia de puentes en los dos cultivares de cacao estudiados parece indicar que se debe a una mezcla de aberraciones de un impacto y de impacto múltiple. Este resultado se puede interpretar fácilmente, ya que los puentes observados en anafase pueden deberse tanto a roturas cromosómicas (aberraciones de un impacto) como a algunos tipos de intercambios cromosomales (aberraciones de impacto múltiple).

Un hecho más difícil de interpretar es la mayor frecuencia de puentes cromáticos presentada por Matina, en comparación con U F 613. Se puede postular dos posibilidades que producirían el mismo efecto. La primera es que, a dosis iguales, el número inicial de roturas inducidas en estas dos líneas es el mismo pero, durante el proceso de reintegración de los cromosomas en Matina, existe una preferencia para

que los pedazos de un cromosoma se reúnan con los de otro cromosoma aumentando de esta manera, la probabilidad de producir aberraciones de dos impactos y con ella, la de producir puentes cromáticos en anafase. A pesar de no poder rechazar esta posibilidad, ninguna evidencia experimental que apoye este punto de vista ha llegado a oídos del autor. Como ha dicho Lea (25), más del 90 por ciento de las roturas producidas en Tradescantia se restituyen, y la fracción restante disponible para formar intercambios, está limitada por una distancia espacial de 1  $\mu$  o menos. Bajo estas limitaciones, resulta difícil explicar la mayor frecuencia de puentes cromáticos desde este punto de vista. Por tanto, la hipótesis de la reunión preferencial es por lo menos débil.

La segunda posibilidad es que el número de roturas iniciales inducidas en Matina sea mayor que un U F 613, lo cual proporcionaría un mayor número de pedazos para la producción de aberraciones de dos impactos. Esta posibilidad supone, lógicamente, que el núcleo de Matina sea más susceptible a la radiación que el de U F 613. En las dos décadas pasadas se ha acumulado mucha evidencia acerca de que el estado fisiológico, manifestado en actividad metabólica (23), y el ambiente celular, (concentración oxígeno) (24), ejercen una gran influencia en la sensibilidad del núcleo. Un estudio preliminar sobre el efecto del fraccionamiento de dosis en el crecimiento del hipocotilo demostró que a una dosis de 2 Kr, la recuperación de Matina tuvo lugar dentro de un período de 2 horas, mientras que en U F 613, no se observó sino una insignificante recuperación dentro del mismo período de tiempo. Si este hecho implica una diferencia en actividad metabólica, podría ser un indicio para explicar la diferente sensibilidad de Matina y U F 613.

Sin embargo, al no haber evidencia directa que pruebe este punto, solamente especulaciones caben al respecto.

## VI. RESUMEN

1. Se hizo experimentos preliminares con el objeto de investigar la sensibilidad a las radiaciones presentada por cinco cultivares de cacao. Se encontró que los clones U F 613, U F 221, y U F 676 fueron más resistentes a la radiación gamma que el Matina y C C 40, usándose como criterio de evaluación, el porcentaje de supervivencia y el crecimiento del hipocotilo.

2. Estudios posteriores se llevaron a cabo para comparar la forma de las curvas de supervivencia de un cultivar resistente, U F 613, y uno sensible, Matina. Se encontró que ambas curvas eran sigmoides, siendo la gradiente de las mismas su principal diferencia. Por tanto, parece que la acción letal de la radiación gamma en el cacao se debe a una acumulación de dos o más impactos.

3. La  $DL_{50}$  para Matina se determinó alrededor de los 7.5 Kr y para U F 613, alrededor de 9.5 Kr.

4. La altura del hipocotilo demostró una reducción más drástica en el crecimiento de Matina que en U F 613, a medida que la dosis aumentó.

5. Observaciones citológicas en células de puntas de raíz revelaron que la frecuencia de puentes cromáticos inducida por la radiación era mayor en Matina que en U F 613. Por tanto, el daño inducido en el crecimiento, y el daño causado en el núcleo son fenómenos relacionados.

6. Datos preliminares sobre el efecto del fraccionamiento de dosis en el crecimiento del hipocotilo demostraron que a una dosis de 2 Kr, el Matina se recuperó dentro de un período de dos horas, mientras que una insignificante recuperación solamente tuvo lugar en U F 613.



7. Se discutió también el mecanismo que causa la diferencia en frecuencia de puentes cromáticos observados en anafase.

## SUMMARY

1.- A preliminary survey on the radiosensitivity of five cacao lines was performed. It was found that the clones U F 613, U F 221, and U F 676, were more resistant to gamma radiation than the Matina and C C 40, the percent survival and growth of the hipocotyl being used as creteria for evaluation.

2.- Susequent studies were carried out in order to compare the shape of survival curves from a resistant line, U F 613, and a susceptible line, Matina. It was found that both curves were sigmoidal, the main difference being the slope. Thus, it seems that the lethal action of gamma radiation in cacao is due to an accumulation of two or more hits.

3.- The LD<sub>50</sub> for Matina was determined around the 7.5 Kr, and for U F 613, around the 9.5 Kr.

4.- The height of the hipocotyl showed a more drastic reduction in Matina than in U F 613 as the dose increased.

5.- Citological examination of root-tip cells revealed that the frequency of anaphase bridges induced by radiation was higher in Matina than in U F 613. This, the reduction in growth and the damage caused in the nucleus appeared to be related phenomena.

6.- Preliminary data on the effect of fractionated dosage show that, at 2 Kr, Matina recuperated within a period of 2 hours, whereas U F 613 showed a non-significant recovery only.

7.- The mechanism that causes the difference in the frequency of anaphase bridges was also discussed.

## VII. LITERATURA CITADA

1. SPARROW, A. H. Symposium on the effects of ionizing radiation on plants. Introductory Remarks. *Quart. Rev. Biol.* 32 (1):1-2 1957.
2. JOHNSON, E. L. Susceptibility of seventy species of flowering plants to X-radiation. *Plant Phys.* 11:319-342 1936.
3. GUSTAFFSON, A. The X-ray resistance of dormant seeds in some agricultural plants. *Hereditas* 30:166-178 1944.
4. SPARRCW, A. & E. CHRISTENSEN. Tolerance of certain higher plants to chronic exposure to gamma radiation from Co<sub>60</sub>. *Science* 118 (3075):697-698 1953.
5. SMITH, L. Hereditary susceptibility to X-ray injury in Triticum monococcum. *Amer. Jour. Bot.* 29:189-191 1942.
6. GREGORY, W. C. Radiosensitivity studies in peanuts (Arachis hypogaea L.) *Cytologia Suppl. Proc. Intl. Genet. Symposia* 1956: 243-247 1957.
7. GRAHN, D. & K. HAMILTON. Genetic variation in the acute lethal response of four inbred mouse strains to whole body X-irradiation. *Genetics* 42-189-198 1957.
8. GRAHN, D. Acute radiation response of mice from a cross between radiosensitive and radioresistant strains. *Genetics* 43;(6): 835-843 1958.
9. WITKIN, E. M. Genetics of resistance to radiation in Escherichia coli. *Genetics* 32:221-248 1947.
10. SPARROW, A. H. A survey of the radiosensitivity of some higher plants. *Rad. Res.* 3:349 1955.
11. SMITH, L. Relation of polyploidy to heat and X-ray effects in the cereals. *J. of Her.* 34(5):130-134 1943.
12. SPARROW, A. H. & L. A. SCHAIRER. The radiosensitivity of high polyploids. *Rad. Res.* 9:187 1958.
13. MORTIMER, R. K. Radiobiological and genetic studies on a polyploid series (haploid to hexaploid) of Saccharomyces cerevisiae. *Rad. Res.* 9:312-326 1958.
14. KONZAK, C. F. & Singleton, W. R. The relationship of polyploidy to the effects of thermal neutron exposure on plants. *Genetics* 37:596-597 1952.

15. SPARROW, A. H., M. J. MOSES & R. STEELE. A cytological and cytochemical approach to an understanding of radiation damage in dividing cells. *Brit. J. Rad.* 25:182-183 1952.
16. BOWEN, C. C. & A. SPARROW. Radiosensitivity of several meiotic stages of Lilium. *Genetics* 39:960 1954.
17. SAX, K. The effect of ionizing radiation on chromosomes. *Quart. Rev. Biol.* 32:15-26 1957.
18. BISHOP, C. J. Differential X-ray sensitivity of Tradescantia chromosomes during the mitotic cycle. *Genetics* 35:175-187 1950.
19. DAVIDSON, D. The irradiation of dividing cells: changes in sensitivity to X-rays during mitosis. *Annals of Bot. New Series* 22 (86):183-195 1958.
20. NICHOLS, C., Jr. The effects of age and irradiation on chromosomal aberrations in Allium seed. *Amer. Jour. Bot.* 29:755-759 1942.
21. NILAN, R. A. & H. M. GUNTARDT. Studies on aged seeds. III: Sensitivity of aged wheat seeds to X-radiation. *Caryologia* 8:316-322 1956.
22. KONSAK, C. F. Radiation sensitivity of dormant and germinating barley seeds. *Science* 122:197 1955.
23. BROOKHAVEN NATIONAL LABORATORY, Annual Report. Changes during germination in the sensitivity of seeds to radiation. *BNL 560 (AS-13):85* 1959.
24. \_\_\_\_\_, Annual Report. Sensitivity of Arabidopsis to radiations. *BNL 560 (AS-13): 89-90* 1959.
25. LEA, D. E. Actions of radiations on living cells. The University Press, Cambridge, 416 p. 1955.
26. ZIRKLE, R. E. & C. A. TOBIAS. Effects of ploidy and linear energy transfer on radiobiological survival curves. *Arch. Biochem. Biophys.* 47:282-306 1953.
27. SAX, K. The effects of X-rays on chromosomes structure. *Symposium on Rad. Genetics. J. of Cell. and Comp. Phys.* 35 (Suppl. 1): 71-81 1950.
28. KIRBY-SMITH, J. S. & D. S. DANIELS. The relative effects of X-rays, gamma rays and beta rays on chromosomal breakage in Tradescantia. *Genetics* 38:375-388 1953.

29. KAYHART, M. A comparative study of dose-action curves for visible eye-color mutations induced by X-rays, thermal neutrons, and fast neutrons in Mormoniella vitripennis. Rad. Res. 4:65-76 1956.
30. SAX, K. The time factor in X-ray production of chromosome aberrations induced by X-rays. Cold Spr. Harb. Symp. Quart. Biol. 9:93-101 1939.
31. \_\_\_\_\_ & H. LUIPPOLD. The effects of fractional X-ray dosage on the frequency of chromosome aberrations. Heredity 6:127-131 1952.
32. SAX, K., KING, E. D. & H. LUIPPOLD. The effect of fractionated dosage on the frequency of chromatid and chromosome aberrations. Rad. Res. 2:171-179 1955.
33. LANE, G. R. Interpretation in X-ray chromosome breakage experiments. Heredity (Supplement) 6:23-34 1953.
34. STEFFENSEN, D. & T. J. ARNASON. Frequency of chromosome aberrations produced by fractional doses of X-rays in Tradescantia. Genetics 39:220-228 1954.
35. DE SERRES, F. & N. GILES. The effect of radiation dose fractionation on chromosome aberration frequency in Tradescantia microspores. I: Studies with X-rays. Genetics 38:407-415 1953.
36. BORA, K. C. Factors affecting the relative biological efficiencies of ionizing radiations. Progress in Nuclear Energy, Series VI Biological Sciences 2:278-299 Ed. Bugher, J., Coursaget, J. & Loutit, J. 1959.
37. RUSSELL, L. B. & M. K. FREEMAN. The influence of dose-rate on the sterilizing effect of radiation in female mice. Rad. Res. 9:174-175 1958.
38. JOHANSEN, D. A. Plant Microtechnique. MacGraw-Hill Book Company Inc. 523 p. 1940.
39. DAVIES, V. Table showing significance of differences between percentages (for uncorrelated data). Stations Circular No 102. The State College of Washington, Pullman, Wash. 1950.
40. GRAY, L. H. & M. E. SCHOLDS. The effect of ionizing radiations on the broad bean root. Part VIII. Brit. Jour. Rad. 24:1-37 1951.
41. CALDECOTT, R. S. & L. SMITH. The influence of heat treatments on the injury and cytogenetic effects of X-rays on barley. Genetics 37 (2):136-157 1952.

42. CALDECOTT, R. S., FROLIK, E. F. & R. MORRIS. A comparison of the effects of X-rays and thermal neutrons on dormant seeds of barley. P.N.A.S. 38 (9):804-809 1952.
43. ZELLE, M. R. & A. HOLLANENDER. Effects of radiation on bacteria. Rad. Biol. Vol. II, Chapt. 10:404-414. Ed. by A. Hollaender, MacGraw-Hill, New York, 1955.
44. GOODALL, D. W. Growth Analysis of Cacao Seedlings. Annals of Bot. N. S. 14(54): 291-306 1950.
45. GORDON, S. A., & WEBER, R. P. The effect of X-radiation on indole-acetic acid and auxin levels in the plant. Am. J. Bot. 37:678 1950.
46. GORDON, S. A. The effects of ionizing radiation in plants: biochemical and physiological aspects. Quart. Rev. Biol. 32:3-14 1957.

A P E N D I C E S

## APENDICE

Goodall (44) en el Africa Occidental, encontró que tanto las plántulas de cacao como los árboles adultos, demostraban una periodicidad en su crecimiento. En plántulas, el "flush" (período de crecimiento activo o brote nuevo) se presentaba cada cinco semanas más o menos. Por otro lado se conoce que el crecimiento de las plantas en general está afectado por el nivel de las auxinas; niveles muy altos o muy bajos de auxinas resultan en una inhibición del crecimiento. Gordon y Weber (45) demostraron que las radiaciones deprimen el nivel libre de auxinas en las plantas, y más tarde Gordon (46), explicó este fenómeno como debido a una interrupción del proceso de formación del ácido indolacético indicado por una acumulación del aldehído indolacético. Sabiendo que el ciclo del brote nuevo ("flush") en el cacao es un proceso controlado entre otros factores por el nivel de auxinas en la planta, se trató en el presente experimento de observar la influencia que las radiaciones gamma pudieran ejercer sobre este ciclo.

Se utilizaron 40 semillas del clon U F 613 por tratamiento, irradiadas a diferentes dosis de rayos gamma en la forma descrita anteriormente en esta tesis. Inmediatamente después de la irradiación las semillas se sembraron en cajas que contenían aserrín y suelo mezclados en una proporción de 1:1. Se utilizó este medio de cultivo para evitar el trasplante y poder crecer las plantas sin interrupción. El crecimiento longitudinal se estimó por la altura total de las plantas medida desde el medio de cultivo hasta el ápice. El crecimiento diametral se midió por el grosor del tallo tomado en un mismo punto previamente marcado. Las mediciones empezaron cuando las plantas tenían 4 semanas de



edad.

En la Tabla 5 se han resumido los promedios de crecimiento longitudinal (en cm.) y diametral (en mm.) por semana durante 19 semanas. Bajo las condiciones en que se realizó este experimento, el crecimiento longitudinal promedio (Fig. 5) del control demostró solamente un brote nuevo ("flush") claramente visible, entre la 5ª y 8ª semanas, después de la cual el crecimiento aumentó relativamente poco y de manera más o menos constante. En los tratamientos con radiación también se observó un aumento repentino en el crecimiento longitudinal a partir de la 5ª semana. El grupo de 8 Kr aumentó posteriormente sin demostrar periodicidad en su crecimiento. El grupo de 12 Kr parece tener un período en el cual el crecimiento disminuye, entre la 10ª y 13ª semana. Sin embargo, este hecho podría deberse más bien a una gran irregularidad de recuperación y a una alta mortalidad de las plantas irradiadas con dosis altas.

La Fig. 6 indica que el promedio del grosor del tallo es mayor a medida que aumenta la dosis de radiación. El crecimiento diametral del control muestra claramente dos ciclos de crecimiento activo y descanso: el primero desde la 3ª a la 8ª semana, y el segundo desde la 8ª a la 13ª semana. El grupo de 4 Kr sigue más o menos la misma tendencia. Sin embargo el grupo de 8 Kr parece mostrar un crecimiento constante; la relación entre grosor del tallo y tiempo (semanas) en este grupo se acerca a la lineal.

Debido a la limitación de tiempo, este experimento tuvo que suspenderse después de 19 semanas. El autor considera que los datos disponibles no son suficientes para hacer generalizaciones; sin embargo se puede advertir que el problema es digno de un estudio más prolongado.

Table 5. Crecimiento longitudinal y diametral del tallo en plantas provenientes de semillas irradiadas a diversas dosis de rayos gamma. (Se usaron 40 semillas del clon UF 613 por tratamiento).

Semanas	CRECIMIENTO LONGITUDINAL (cm)				CRECIMIENTO DIAMETRAL (mm)			
	Control	4Kr	8Kr	12Kr	Control	4Kr	8Kr	12Kr
1	14.05	12.98	7.01	2.78	3.11	3.37	3.32	3.41
2	18.35	18.23	10.50	4.23	3.17	3.42	3.49	3.56
3	18.77	19.19	11.63	4.44	3.22	3.43	3.57	3.75
4	19.06	19.64	12.26	4.60	3.48	3.63	3.76	3.82
5	19.87	20.25	13.31	5.07	3.68	3.78	3.88	3.92
6	22.21	22.02	15.68	6.71	3.84	3.93	4.05	4.18
7	23.11	22.56	17.33	7.81	3.82	3.96	4.05	4.34
8	23.63	23.15	19.00	9.11	3.87	4.01	4.16	4.41
9	23.86	23.86	20.26	10.91	4.00	4.10	4.24	4.49
10	24.17	24.40	20.79	11.75	4.19	4.24	4.42	4.59
11	24.78	25.42	21.48	12.30	4.46	4.40	4.47	4.59
12	-	-	-	-	-	-	-	-
13	24.86	25.92	22.04	12.80	4.52	4.49	4.57	4.86
14.	-	-	-	-	-	-	-	-
15	25.09	26.39	22.62	14.00	5.03	5.00	5.02	5.37
16	-	-	-	-	-	-	-	-
17	25.18	26.93	23.62	15.52	5.31	5.22	5.19	5.61
18	-	-	-	-	-	-	-	-
19	25.29	27.34	24.63	16.02	5.58	5.46	5.42	5.97

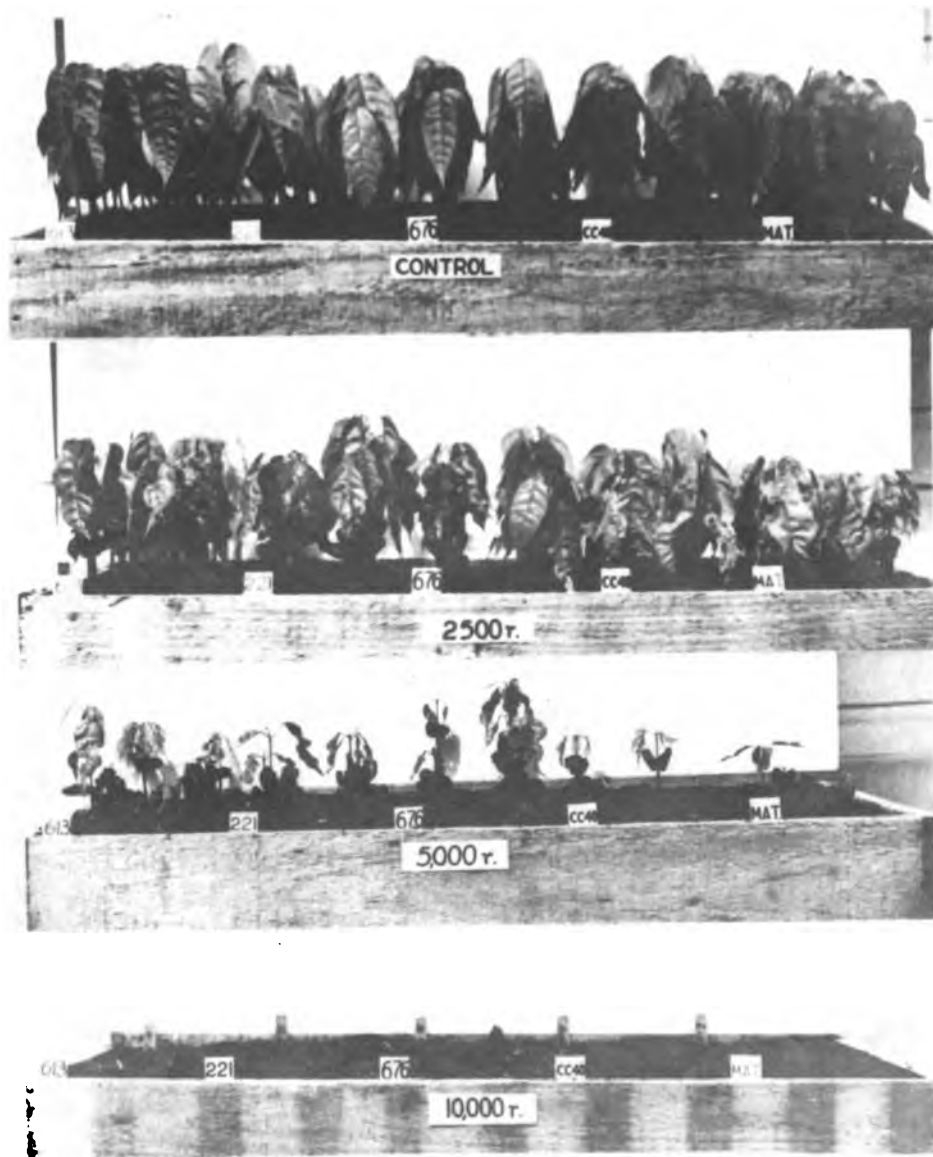
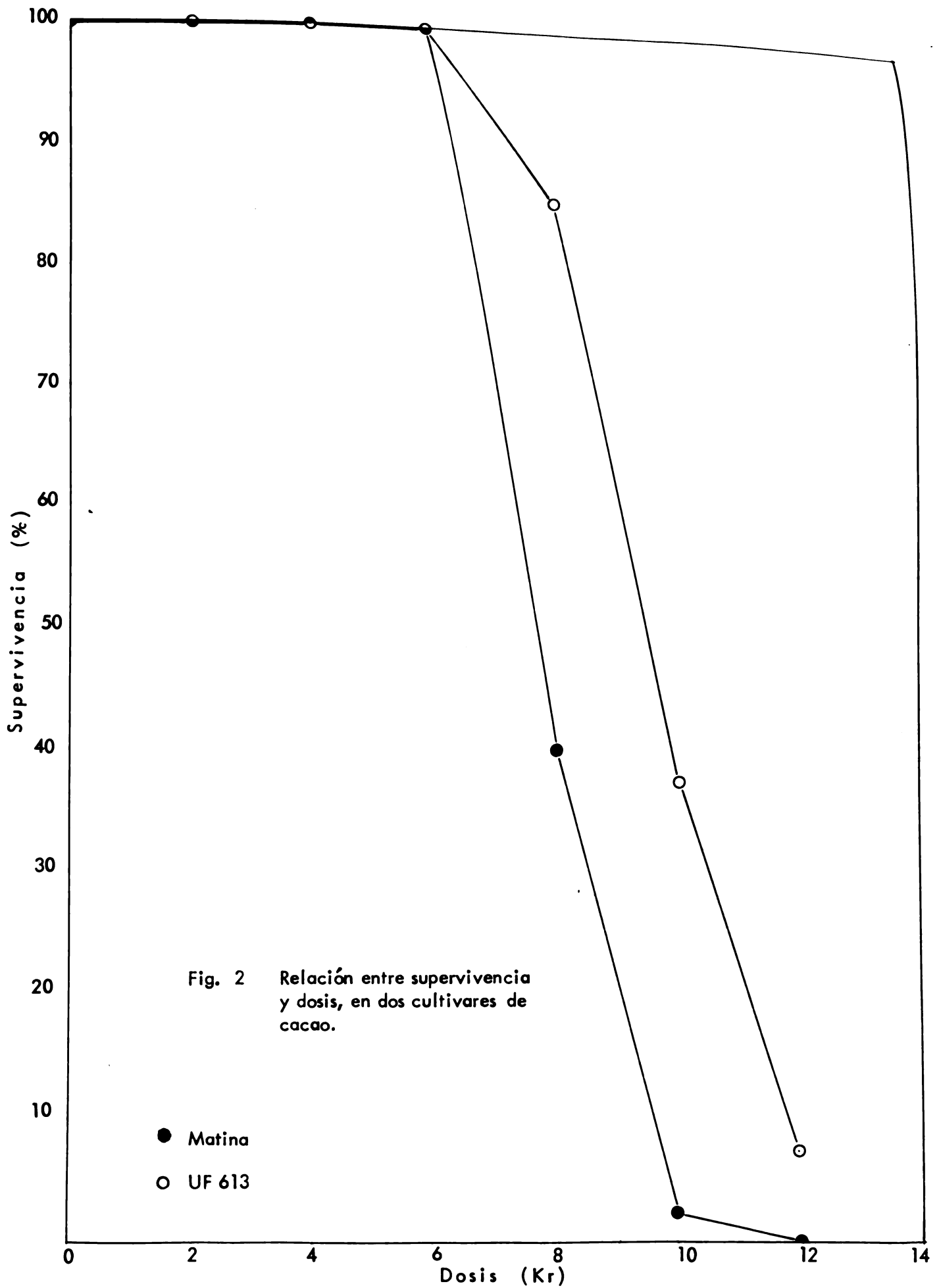


Fig. 1. Plántulas provenientes de semillas irradiadas a diversas dosis de radiación gamma. Los cultivos incluidos fueron de izquierda a derecha: UF 613, UF 221, UF 670, CC 40 y MATINA.



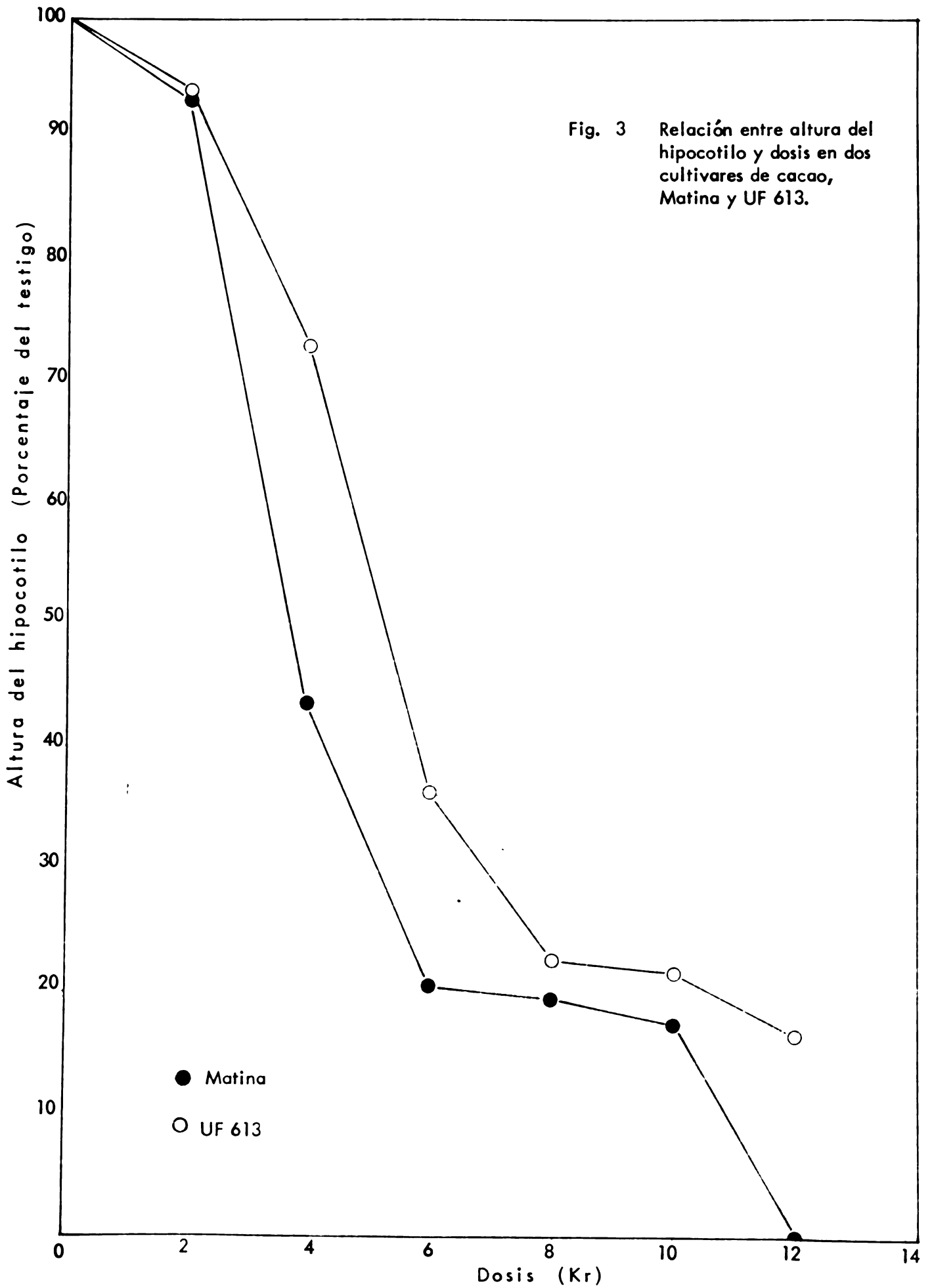
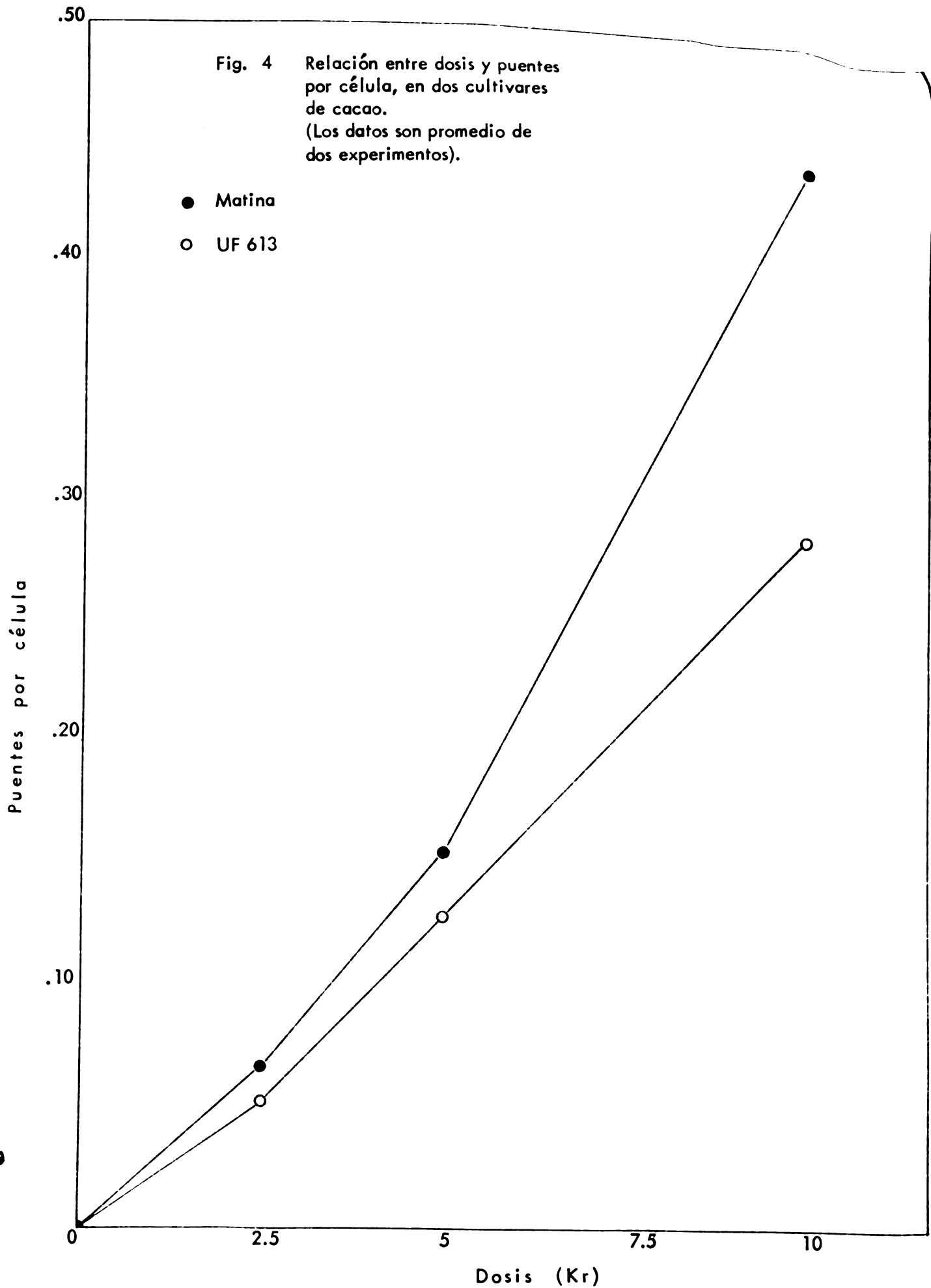
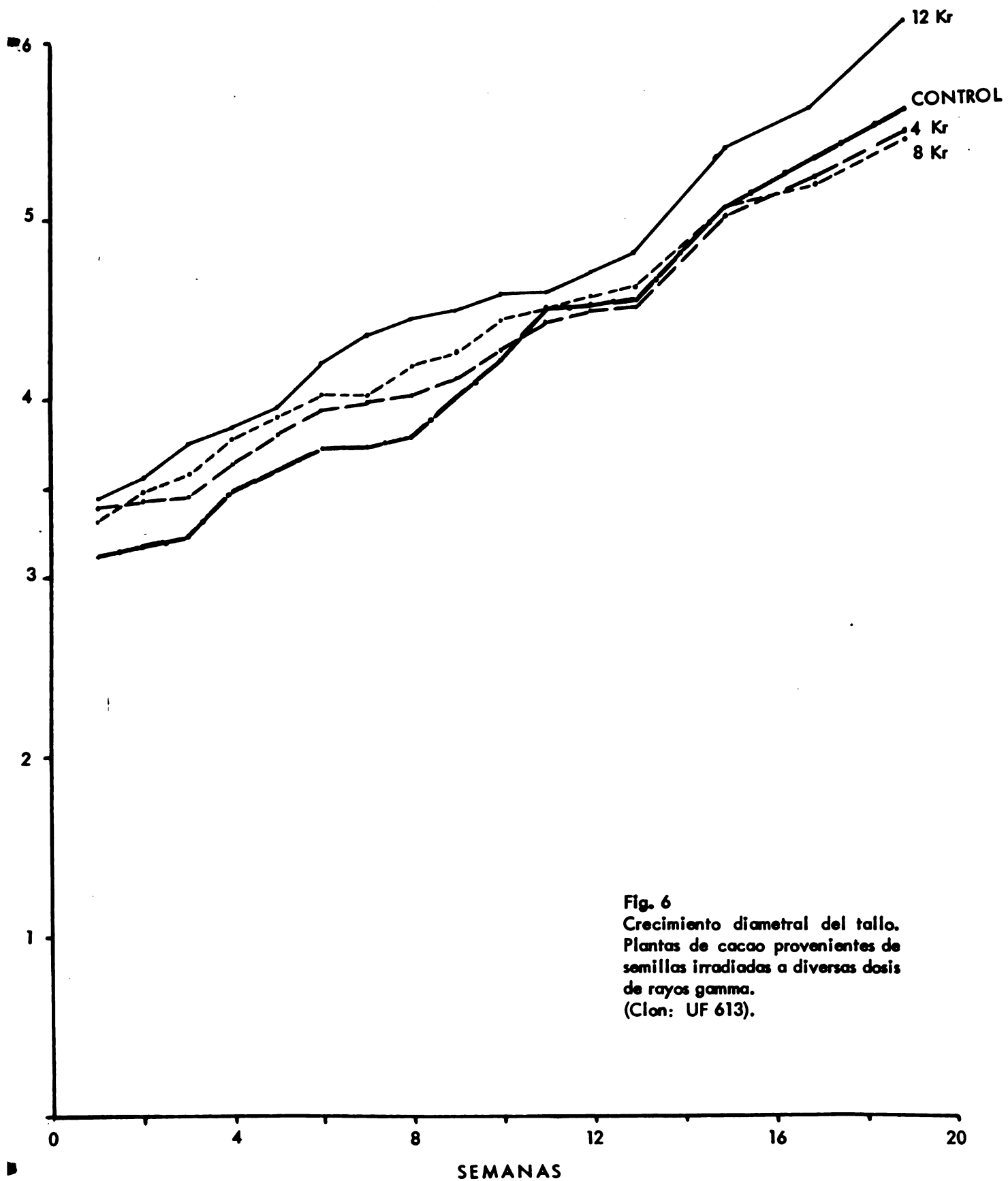


Fig. 3 Relación entre altura del hipocotilo y dosis en dos cultivares de cacao, Matina y UF 613.

Fig. 4 Relación entre dosis y puentes por célula, en dos cultivares de cacao.  
(Los datos son promedio de dos experimentos).

● Matina  
○ UF 613





**Fig. 6**  
Crecimiento diametral del tallo.  
Plantas de cacao provenientes de  
semillas irradiadas a diversas dosis  
de rayos gamma.  
(Clon: UF 613).