



EFFECTO DE RADIACIONES GAMMA EN *Abies religiosa* (Kunth) Schldt. et Cham.

EFFECT OF GAMMA RADIATION ON *Abies religiosa* (Kunth) Schldt. et Cham.

L. G. Iglesias-Andreu¹; L. R. Sánchez-Velásquez¹; Y. Tivo-Fernández²; M. Luna-Rodríguez³; N. Flores-Estévez¹; J. C. Noa-Carrazana¹; C. Ruiz-Bello⁴; J. L. Moreno-Martínez⁴

¹Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada. Universidad Veracruzana.

Campus para la Cultura, las Artes y el Deporte. Av. de las Culturas Veracruzanas Núm. 101.

Colonia Emiliano Zapata, Xalapa, Veracruz, MÉXICO. C. P. 91090. Correo-e: liglesias@uv.mx

²Gerencia Estatal de la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). Tabasco, MÉXICO.

³Laboratorio de Alta Tecnología de Xalapa, S. C., Universidad Veracruzana. Calle Médicos Núm. 5 Col. Unidad del Bosque, Xalapa, Veracruz, MÉXICO. C. P. 91010.

⁴Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Chiapas, Campus IV, Tapachula-Huehuetán, Chiapas. MÉXICO.

RESUMEN

La utilización de radiaciones ionizantes ha resultado de utilidad en los trabajos de mejoramiento genético de especies forestales. Sin embargo, su uso debe estar precedido por ensayos que permitan determinar el efecto que tiene sobre el material vegetal utilizado. Se realizó un experimento con el fin de evaluar el efecto de diversas dosis de radiaciones gamma (2, 5, 10, 15 y 20 Gy) comparado con un control sin irradiación, sobre el porcentaje de germinación de semillas de *Abies religiosa* (Kunth) Schldt. et Cham. procedentes del Cofre de Perote, Veracruz, México, así como sobre la variable altura y el número de hojas primarias de los propágulos germinados. Al analizar los datos y compararlos con el control se observó que las dosis produjeron un efecto severo en los caracteres evaluados. La germinación varió de 0 a 39, el control fue de 62 %. Las dosis de 5 Gy, clasificadas dentro del grupo I, por análisis de conglomerado, produjeron un efecto beneficioso en el carácter altura de la planta. No obstante, en estudios futuros que se desarrollen de esta especie, es recomendable evaluar el efecto de varias dosis que incluya valores por debajo de 2 Gy hasta 5 Gy.

Recibido: 23 de junio, 2009

Aceptado: 7 de septiembre, 2009

doi: 10.5154/r.rchscfa.2009.06.021

<http://www.chapingo.mx/revistas>

PALABRAS CLAVE: cobalto 60, dosis de radiación, radiaciones ionizantes, semillas, oyamel.

ABSTRACT

The use of ionizing irradiation has been useful for the genetic improvement of forest species. However, its use should be preceded by assays that determine the effect that irradiations have on the plant material. With this objective, an experiment was carried out on *Abies religiosa* (Kunth) Schldt. et Cham. from the Cofre de Perote, Veracruz, Mexico. We tested the effect of five gamma ray doses (2, 5, 10 and 20 Gy) and an unirradiated control on seed germination, seedling height and number of first leaves. Seedling germination and number of first leaves were severely affected by irradiation doses. Cluster analysis revealed that doses of 5 and 10 Gy, classified in group I, were beneficial for plant height. We suggest that future studies evaluate a wider dose range with doses below 2 Gy and up to 5 Gy.

KEY WORDS: cobalt 60, radiation doses, ionizing radiation, seeds, oyamel.

INTRODUCCIÓN

Las radiaciones ionizantes constituyen en la actualidad una vía importante que puede usar el mejorador para crear variabilidad genética que no existe en la naturaleza (Ahloowalia y Maluszynski, 2001; Lemus *et al.*, 2002). La determinación de las dosis de radiación que se aplica en los trabajos de mejoramiento genético constituye una tarea imprescindible; así, diversos trabajos han permitido definir los intervalos de radiaciones gamma útiles para muchas

INTRODUCTION

Ionizing irradiations presently represent an important way of creating genetic variability that does not exist in nature, which can be used by the plant breeder (Ahloowalia and Maluszynski, 2001; Lemus *et al.*, 2002). The determination of the radiation doses applied in genetic improvement is indispensable; thus various works have made it possible to define the intervals of gamma radiations useful for many cultivated species, determining the radio-sensitivity

especies cultivadas, al determinar la radiosensibilidad de los tejidos por la exposición a diferentes intensidades de radiaciones (De la Fe *et al.*, 1996; Castillo *et al.*, 1997; Fuchs *et al.*, 2002; Lemus *et al.*, 2002; Fuentes *et al.*, 2004; Ramírez *et al.*, 2006). Sin embargo, la mayoría de los estudios realizados se han dirigido a evaluar la respuesta biológica a dosis elevadas de radiaciones, en tanto que en pocos estudios se han usado dosis bajas para estimular procesos fisiológicos (radioestimulación), pese a que la hormesis de las radiaciones ionizantes ha sido ampliamente sustentada (Luckey, 1980).

En especies forestales se han desarrollado trabajos aplicando con éxito las radiaciones ionizantes para modificar las características de germinación y supervivencia (Porosova, 1983; Rudolph, 1979; Sokolov *et al.*, 1998). Dobrinov y Atanasova (1967), citado por Ferreira *et al.* (1980), demostraron que dosis de rayos X de 200, 600 y 900 Rad (2-9 Gy) aumentan el porcentaje de germinación de las especies *Picea abies* y *Pinus mugo*, no así para otras especies forestales como *Pinus nigra* y *P. sylvestris*.

Abies religiosa (Kunth) Schlt. et Cham. (oyamel) es una especie de gran importancia económica, sobre todo como ornamental (árboles de navidad). De la misma se obtiene la trementina, que posee valor medicinal, y la corteza de árboles viejos es utilizada para carbón (Manzanilla, 1974).

El oyamel se desarrolla en el estado de Veracruz, principalmente en los Parques Nacionales del Cofre de Perote y Pico de Orizaba, entre 2,800 y 3,500 m, dentro de los 17°30' a 20°00' de latitud norte y una franja que corre alrededor de los 97°104' de longitud oeste (Sánchez-Velásquez y Pineda-López, 1993).

El oyamel se reproduce con cierta facilidad en los bosques, aun cuando tiende a registrar bajos porcentajes de germinación y un alto porcentaje de semillas vanas. Los bosques de esta conífera han sido drásticamente impactados por el crecimiento urbano. La fragmentación del paisaje ha restringido el movimiento del polen y la dispersión de las semillas, favoreciendo la endogamia. Por otro lado, las campañas de reforestación no siempre han seleccionado semillas provenientes de ecosistemas aledaños, con lo cual han introducido fuentes genéticas de variación presumiblemente no adaptadas a las condiciones locales. Por lo anterior, las experiencias en la plantación y cultivo del oyamel no han sido exitosas en México, y la restauración de sus poblaciones ha estado limitada por medios artificiales a localidades con baja densidad por rodal (Nieto de Pascual-Pola *et al.*, 2003), así como también su uso para plantaciones comerciales (e.g. árboles de navidad).

Pese a la utilidad del empleo de las radiaciones ionizantes para elevar el potencial germinativo y para generar mutaciones útiles en el ámbito forestal (Jain, 2002), no se

of the tissues from exposure to different intensities of irradiations (De la Fe *et al.*, 1996; Castillo *et al.*, 1997; Fuchs *et al.*, 2002; Lemus *et al.*, 2002; Fuentes *et al.*, 2004; Ramírez *et al.*, 2006). However, most of the studies that have been made have been aimed at evaluating the biological response to high doses of irradiations, whereas there have been few studies that have used low doses to stimulate physiological processes (radiostimulation), although the hormesis of ionizing irradiations has been widely sustained (Luckey, 1980).

In forest species works have been developed with the successful application of ionizing irradiations to modify the characteristics of germination and survival (Porosova, 1983; Rudolph, 1979; Sokolov *et al.*, 1998). Dobrinov and Atanasova (1967), cited by Ferreira *et al.* (1980), demonstrated that doses of X-rays of 200, 600 and 900 Rad (2-9 Gy), increased the percentage of germination in the species *Picea abies* and *Pinus mugo*, but not for other forest species such as *Pinus nigra* and *P. sylvestris*.

Abies religiosa (Kunth) Schlt. et Cham. (fir) is a species of great economic importance, particularly as an ornamental plant (christmas trees). This species also supplies turpentine, which has medicinal value, and the bark of old trees is used for charcoal (Manzanilla, 1974).

Fir is developed in the state of Veracruz, mainly in the National Parks of the Cofre del Perote and Pico de Orizaba, between 2,800 and 3,500 m, between 17°30' and 20°00' latitude North and a strip that is found at approximately 97°104' longitude West (Sánchez-Velásquez and Pineda-López, 1993).

Fir is easily produced in forests, even when it tends to register low percentages of germination and a high percentage of empty seeds. The forests of this conifer have been drastically impacted by urban growth. The fragmentation of the landscape has restricted the movement of the pollen and the dispersal of the seeds, thus favoring endogamy. On the other hand, the reforestation campaigns have not always selected seeds from neighboring ecosystems, thus genetic sources of variation have been introduced that are presumably not adapted to the local conditions. Therefore, experiences in the planting and cultivation of fir trees have not been successful in Mexico, the restoration of its populations has been limited by artificial means to localities with low stand density (Nieto de Pascual-Pola *et al.*, 2003), along with its use for commercial plantations (e.g. Christmas trees).

Despite the usefulness of employing ionizing irradiations for raising the germination potential and for generating useful mutations in forest management (Jain, 2002), there are no references on the use of this type of

cuenta con referencias sobre el empleo de este tipo de tratamiento en esta conífera. Por tal motivo, se emprendió el presente trabajo con el fin de evaluar el efecto de las radiaciones gamma sobre la germinación y crecimiento inicial de plántulas de *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham. y conocer posibles dosis de radiación útiles para mejorar la germinación de las semillas y el crecimiento inicial de plántulas de *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham., como primer paso para su uso como método alternativo en futuros trabajos de mejora genética que se desarrollen en esta especie para uso principalmente ornamental.

treatment with this conifer. Therefore, the present work was carried out to evaluate the effect of gamma irradiations on the germination and initial growth of seedlings of *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham. as a first step for its use as an alternative method in future studies of genetic improvement developed in this species principally for ornamental use.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y característica de la localidad en estudio

Se colectaron masalmente de 25-30 conos de 15 árboles de *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham. en una población que se desarrolla a 3,510 m, localidad "El Conejo", en el Parque Nacional Cofre de Perote, Veracruz, México (19°31' latitud norte y 97°09' longitud oeste) (Figura 1). Esta población se encuentra fragmentada y establecida en pendientes de 45 a 55 %, con cambios importantes en el uso del suelo hacia cultivos agrícolas (Sánchez-Velásquez *et al.*, 1991).

Selección de las dosis y procedimiento de irradiación

Para realizar la irradiación, se extrajeron las semillas de los conos y se mantuvieron bajo condiciones controladas

MATERIALS AND METHODS

Plant material and characteristics of the locality under study

For the development of the present study, 25-30 cones of 15 trees of *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham. were masally collected in a population developing at 3,510 m, locality "El Conejo", in the Cofre de Perote National Park, Veracruz, Mexico (19° 31' latitude north and 97°09' longitude west) (Figure 1). This population is fragmented and established on slopes of 45 to 55 %, with important changes in soil use to agricultural crops (Sánchez-Velásquez *et al.*, 1991).

Selection of the doses and radiation procedure

To carry out the irradiation, the seeds were extracted from the cones, and were maintained under controlled conditions at a relative humidity of 8 %. Two replicates of 100 seeds were subjected to five doses (2, 5, 10, 15 and 20 Gy) of gamma rays (60Co) during 10, 24, 48, 72 and 96 minutes, respectively. The samples to be irradiated were placed at a distance of 80 cm (for a field of 30 x 30 cm), with the aid of equipment from the Unidad de Cobalto 60 (Theraton 780E) of the Centro Estatal de Cancerología of Xalapa, Veracruz, and a plastic tray which was secured in a basket at a distance of 50 cm from the radioactive source (Figure 2).

Later, the irradiated seeds and the control treatment were sown, under greenhouse conditions, in containers with a mixture of forest soil and sand, in a 1:1 ratio. A completely randomized design was used with two replicates to sow a total of 1,200 seeds (200 per treatment).

Evaluation and statistical analysis

The number of emerged plants was evaluated during a period of 90 days, and the number of germinated seeds per dose was calculated. Similarly, the height and number of first leaves was determined at 45 days in 10 seedlings per treatment. Height was determined with a millimetric rule from the base of the stem to the apical tip. Using a test of χ^2 , the germination values were compared along with the number of first leaves for each dose applied, versus the

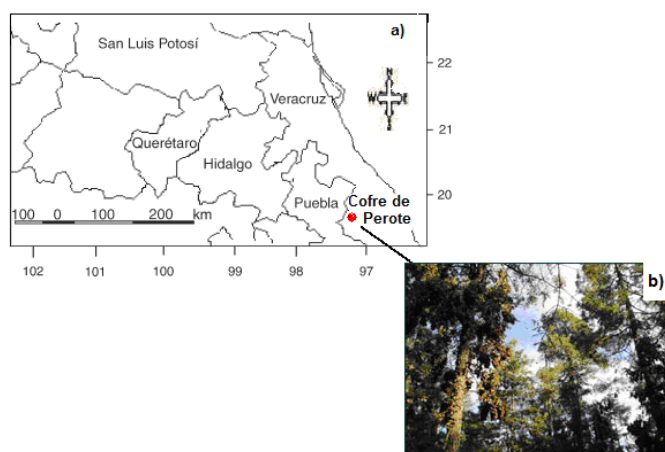


FIGURA 1. a) Localización de la población de *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham. en el Cofre de Perote, Veracruz, México. b) Bosque de *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham. in "El Conejo", Cofre de Perote, Ver.

FIGURE 1. a) Location of the population of *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham. in Cofre de Perote, Veracruz, Mexico. b) Forest of *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham. in "El Conejo", Cofre de Perote, Ver.



FIGURA 2. Unidad de Cobalto 60 (Theraton 780E), del Centro Estatal de Cancerología de Xalapa, Veracruz, utilizada para la irradiación de semillas de *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham.

FIGURE 2. Unit of Cobalt 60 (Theraton 780E), of the Centro Estatal de Cancerología of Xalapa, Veracruz, used for the irradiation of seeds of *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham.

a una humedad relativa del 8 %. Dos réplicas de 100 semillas se sometieron a cinco dosis (2, 5, 10, 15 y 20 Gy) de rayos gamma (^{60}Co) durante 10, 24, 48, 72 y 96 minutos, respectivamente. Las muestras a irradiar se colocaron a una distancia de 80 cm (para un campo de 30 x 30 cm), con la ayuda de un cabezal de la Unidad de Cobalto 60 (Theraton 780E) del Centro Estatal de Cancerología de Xalapa, Veracruz, y una charola de plástico que se aseguró en una canastilla a 50 cm de distancia de la fuente radioactiva (Figura 2).

Posteriormente, las semillas irradiadas y el tratamiento control se sembraron, bajo condiciones de invernadero, en bandejas que contenían una mezcla de suelo del bosque y arena, en proporción 1:1. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con dos repeticiones para sembrar un total de 1,200 semillas (200 por tratamiento).

Evaluación y análisis estadístico

Se evaluó el número de plantas emergidas durante un periodo de 90 días y se calculó por cada dosis el número de semillas germinadas. De igual forma se determinaron a los 45 días, la altura y el número de hojas primarias en 10 plántulas por tratamiento. La altura se determinó con una regla milimétrica desde la base del tallo hasta el extremo apical. Usando una prueba de X^2 , se compararon los valores de germinación y el número de hojas primarias por cada dosis aplicada, *versus* los valores esperados de acuerdo al tratamiento control. Para conocer si hubo un efecto radioestimulador de las dosis 2 y 5 Gy sobre el porcentaje de germinación de las semillas se utilizó la prueba no paramétrica de Wilcoxon. Para comparar si había diferencias en la altura de las plantas por cada dosis, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis. La clasificación de las dosis con base en la respuesta observada para las tres variables evaluadas, se efectuó mediante un análisis de conglomerados (Sneath y Sokal, 1973), empleando la distancia de Manhattan y el algoritmo UPGMA (Unweighted pair group arithmetic average). Todos estos análisis fueron efectuados en el programa STATISTICA (versión 7) (Statsoft, Inc. 1998).

expected values according to the control treatment. To know if there was a radio-stimulating effect of the doses 2 and 5 Gy on the percentage of seed germination, the Wilcoxon non-parametric effect was used. To compare if there were differences in plant height for each dose, the Kruskal-Wallis test was used. The classification of the doses based on the response observed for the three variables evaluated was made through a cluster analysis (Sneath and Sokal, 1973), using the distance of Manhattan and the algorithm UPGMA (Unweighted pair group arithmetic average). All of these analyses were made in the program STATISTICA (version 7) (Statsoft, Inc. 1998).

RESULTS AND DISCUSSION

Effect on germination capacity

The effect of the different doses of gamma radiation on the germination capacity of the seeds of *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham. is shown in Figure 3.

Significant differences were found in the germination percentage of *Abies religiosa* at different intensities of gamma radiation ($\chi^2 = 93.23 > 9.48$; $P < 0.05$). According to these results, the radiation doses of over 5 Gy had an adverse effect on seed germination. At doses of 20 Gy no germinated seeds were detected. The few seedlings that managed to germinate at high radiation doses (15 Gy) presented short and thickened roots, and thus resulted less vigorous and did not survive.

These results agree with what was detected by diverse authors (Nwachukwu *et al.*, 1994; Lemus *et al.*, 2002; Amjad and Akbar, 2003; Bhargava and Khalatkar, 2004) and with the expected results, if it is considered that the inhibition of cellular division is one of the immediate reactions to irradiation, which appears immediately, although its degree and duration vary with the dose. Although the inhibition of mitosis may be temporary, the radiological lesion that it

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto sobre la capacidad germinativa

El efecto de las diferentes dosis de radiación gamma sobre la capacidad germinativa de las semillas de *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham. se presenta en la Figura 3.

Se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de germinación de *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham. a diferentes intensidades de radiación gamma ($\chi^2 = 93.23 > 9.48$; $P < 0.05$). De acuerdo con estos resultados, las dosis de radiación por encima de 5 Gy tuvieron un efecto adverso en la germinación de las semillas. A dosis de 20 Gy no se detectaron semillas germinadas. Las pocas plántulas que lograron germinar a elevadas dosis de radiación (15 Gy) mostraron raíces cortas y engrosadas, por lo que resultaron ser menos vigorosas y no lograron sobrevivir.

Estos resultados concuerdan con lo detectado por diversos autores (Nwachukwu *et al.*, 1994; Lemus *et al.*, 2002; Amjad y Akbar, 2003; Bhargava y Khalatkar, 2004) y con lo esperado, si se tiene en cuenta que la inhibición de la división celular es una de las reacciones inmediatas a la irradiación, que aparece en seguida, aunque su grado y duración varían con la dosis. Si bien la inhibición de la mitosis puede resultar pasajera, la lesión radiológica que la misma produce a nivel génico y cromosómico puede ser letal para las células en división, que en conjunto son muy sensibles a la radiación (Viccini y de Carvalho, 2001).

No hubo un efecto radioestimulador significativo de las dosis de 2 y 5 Gy sobre la germinación de *Abies religiosa* (Prueba de Wilcoxon: $Z = 1.60$, $p = 0.108$). Esto contrasta con lo observado por Rudolph (1979) y Sokolov *et al.* (1998) al trabajar con semillas de *Pinus banksiana* y *P. sylvestris*, respectivamente. Se ha indicado (Ramírez *et al.*, 2006) que la estimulación de este indicador generalmente se logra cuando la semillas presentan problemas de dormancia o están sometidas a condiciones estresantes que retrasan o inhiben su germinación.

Efecto sobre la altura de la planta y el número de hojas primarias

Los resultados del efecto de las dosis empleadas en las variables altura de la plántula y número de hojas primarias en relación al tratamiento control se muestran en las Figuras 4a y 4b. Para ambas variables se observó una reducción de los valores conforme se aumentaba la dosis de radiación. Este efecto fue más pronunciado para la variable número de hojas primarias (Figura 4b).

Las dosis 2, 5 y 10 Gy presentaron valores medios para el número de hojas primarias por planta que variaron de 3.3 - 6.8, muy inferior al valor medio del control el cual

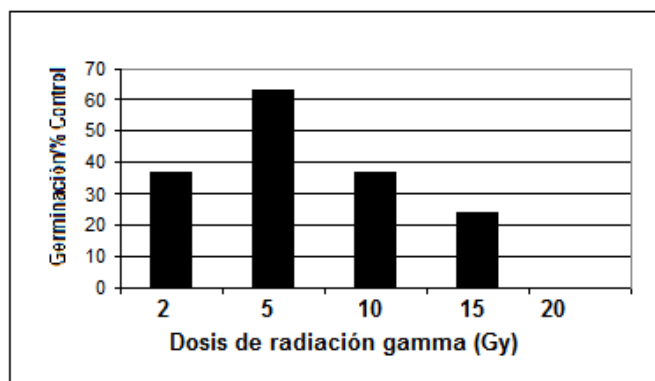


FIGURA 3. Efecto de radiaciones gamma sobre la germinación de semillas de *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham.

FIGURE 3. Effect of gamma irradiations on seed germination of *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham.

produces at the genetic and chromosomal level can be lethal for the dividing cells, which as a whole are very sensitive to radiation (Viccini and de Carvalho, 2001).

There was not a significant radiostimulatory effect from the doses of 2 and 5 Gy on germination of *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham. (Wilcoxon Test: $Z = 1.60$, $p = 0.108$). This contrasts with what was observed by Rudolph (1979) and Sokolov *et al.* (1998) when working with seeds of *Pinus banksiana* and *P. sylvestris*, respectively. It has been indicated (Ramírez *et al.*, 2006) that the stimulation of this indicator is generally achieved when the seeds present problems of dormancy or are subjected to stressful conditions that delay or inhibit their germination.

Effect on plant height and number of first leaves

The results of the effect of the doses employed on the variables seedling height and number of first leaves in relation to the control treatment are shown in Figures 4a and 4b. For both variables a reduction of the values was observed as the dose of radiation was increased. This effect was more pronounced for the variable number of first leaves (Figure 4b).

The doses 2, 5 and 10 Gy presented mean values for the number of first leaves per plant that varied from 3.3-6.8, much lower than the mean value of the control, which was 27.7. The results of the analysis of χ^2 ($\chi^2 = 30.04 > 9.48$; $P < 0.05$) indicated that there were statistically significant differences among the doses of this indicator.

With respect to the variable plant height, the results of the analysis of Kruskal Wallis ($H = 14.179$; $p = 0.0145$) revealed significant differences among the applied doses. The reduction in seedling growth generated from the high

fue de 27.7. Los resultados del análisis de χ^2 ($\chi^2=30.04>9.48$; $P<0.05$) indicaron que hubo diferencias estadísticamente significativas entre las dosis de este indicador

En cuanto a la variable altura de la planta, los resultados del análisis de Kruskal Wallis ($H=14.179$; $p=.0145$) revelaron diferencias significativas entre las dosis aplicadas. La reducción del crecimiento de plántulas generadas a partir de las dosis altas de radiaciones gamma obtenidas en este estudio, concuerda con lo encontrado por diversos autores (Cheema y Atta, 2003; Akgün y Tosun, 2004).

La reducción del crecimiento de plántulas generadas a partir de semillas tratadas con dosis altas de radiaciones gamma, se ha indicado que se debe fundamentalmente a daños en el proceso de división y elongación celular (Iqbal, 1969). Sin embargo, no se detectó un efecto radioestimulador para este indicador, ya que en el ligero incremento detectado en la altura de las plántulas provenientes de la dosis de 5 y 10 Gy, la altura promedio (4.9 cm) no resultó significativamente diferente a la obtenida por el tratamiento control (4.7 cm).

Clasificación de las dosis por análisis de conglomerado

El análisis de conglomerados usando las variables porcentaje de germinación, altura de planta a 45 días y número de hojas primarias, clasificó a las dosis empleadas en este estudio en dos grupos (Figura 5). El primer grupo estuvo conformado por las dosis más bajas (2, 5 y 10 Gy) y el segundo por las dosis más elevadas (15 y 20 Gy). Este último grupo provocó afectaciones muy severas en el material evaluado. Estos resultados concuerdan con lo indicado por Yamaguchi *et al.* (2008), quienes indican que con bajas dosis de radiación (2-10 Gy) se produce un daño menor en el genoma de la planta.

doses of gamma irradiations obtained in this study agree with what was found by diverse authors (Cheema and Atta, 2003; Akgün and Tosun, 2004).

It has been indicated that the reduction of seedling growth generated from seeds treated with high doses of gamma irradiations is due fundamentally to damages in the process of cellular division and lengthening (Iqbal, 1969). However, a radiostimulatory effect was not detected for this indicator, given that the slight increment detected in seedling height from doses of 5 and 10 Gy, average height (4.9 cm) was not significantly different from that obtained by the control treatment (4.7 cm).

Classification of the doses by cluster analysis

Cluster analysis using the variables germination percentage, plant height at 45 days and number of first leaves, classified the doses employed in this study in two groups (Figure 5). The first group was comprised of the lowest doses (2, 5 and 10 Gy) and the second by the highest doses (15 and 20 Gy). The latter group provoked very severe affectations in the material evaluated. These results agree with what was indicated by Yamaguchi *et al.* (2008), who indicated that with low doses of radiation (2-10 Gy), less damage is produced on the genome of the plant.

The exposed results confirm that the radio-sensitivity in plants varies according to the doses of irradiation absorbed, among other factors. The exposure to prolonged irradiation to gamma rays produced a severe effect on nearly all of the variables evaluated; this effect was more pronounced in the seeds irradiated with 15 and 20 Gy (Group II).

The range of medium-high doses, such as those used in the present study, and radio-induced lesions can give way to a radiobiological response, which at the cell level

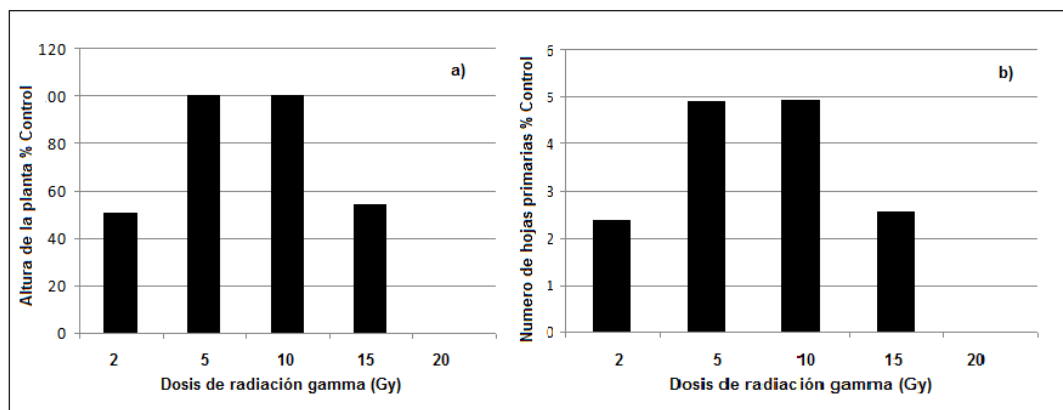


FIGURA 4. Efecto de las dosis de rayos gamma sobre a) la altura y b) el número de hojas primarias, en plántulas de *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham.

FIGURE 4. Effect of the doses of gamma radiation on a) height and b) number of first leaves, in seedlings of *Abies religiosa* (Kunth) Schltd. et Cham.

Los resultados expuestos corroboran que la radiosensibilidad en las plantas varía de acuerdo a las dosis de irradiación absorbida, entre otros factores. La exposición a irradiación prolongada a rayos gamma produjo un efecto severo en casi todas las variables evaluadas; este efecto fue mayor en las semillas irradiadas con 15 y 20 Gy (Grupo II).

El rango de dosis medias-altas, como las usadas en este trabajo, y las lesiones radioinducidas pueden llegar a dar lugar a una respuesta radiobiológica que a nivel celular puede llegar a alterar la viabilidad e incluso producir la muerte celular (Ward, 1988), como sucedió en este trabajo, por afectaciones severas en características relacionadas con la germinación y el crecimiento de las plántulas.

Por otro lado, no todas las variables se vieron impactadas en el mismo sentido. No obstante, al analizar integralmente estos resultados se recomienda explorar en estudios futuros el efecto de dosis por debajo de 2 Gy, en virtud de la sensibilidad mostrada por esta especie, a las radiaciones gamma. Por ello se sugiere considerar estos resultados en la mejora genética de esta especie y para explotar el posible efecto radioestimulador que el empleo de bajas dosis de radiaciones ionizantes pudiera tener en la práctica productiva de este valioso recurso forestal.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado por los Fondos Sectoriales de CONAFOR-CONACYT, clave: 2002-C01-6163, y la Fundación PRODUCE-Ver (PRODUVER) a través del proyecto: Plantaciones, ecología y demografía de *Abies religiosa* (Kunth) Schldt. et Cham. y *A. hickelii*: dos especies potenciales para la producción de árboles de navidad en el Cofre de Perote.

LITERATURA CITADA

- AHLOOWALIA, B. S.; MALUSZYNSKI, M. 2001. Induced mutations- A new paradigm in plant breeding. *Euphytica* 118(2): 167-173.
- AKGÜN, I.; TOSUN, M. 2004. Agricultural and cytological characteristics of M1 perennial rye (*Secale montanum* Guss.) as effected by the application of different doses of gamma rays. *Pak. J. Bio. Sci.*, 7(5): 827-833.
- AMJAD, M; AKBAR, M. 2003. Effect of post-irradiation storage on the radiation-induced damage in onion seeds. *Asian Journal of Plant Science* 2(9): 702-707.
- BHARGAVA, Y. R.; KHALATKAR, A. S. 2004. Improve performance of *Tectona grandis* seeds with gamma irradiation. *Acta Horticulturae* 215:51-54.
- CASTILLO, J.; ESTÉVEZ, A.; GONZÁLEZ, M. E.; CASTILLO, E.; ROMERO, M. 1997. Radiosensibilidad de dos variedades de papa a los rayos gamma de ⁶⁰Co. *Cultivos Tropicales* 18(1): 62-65.
- CHEEMA, A. A; ATTA B. M. 2003. Radiosensitivity studies in basmati rice. *Pak. J. Bot.* 35(2): 197-207.

may alter viability and even produce cell death (Ward, 1988). As it was manifested in this work, this results from severe affectations in characteristics related to germination and seedling growth.

On the other hand, not all of the variables were impacted in the same way. However, after an integral analysis of these results, it is recommended that future studies explore the effect of doses below 2 Gy, considering the sensitivity shown by this species to gamma radiations. Therefore it is suggested that these results be considered in the genetic improvement of this species and to exploit the possible radio-stimulatory effect that the use of low doses of ionizing irradiations may have on the production of this valuable forest resource.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Sectorial Funds of CONAFOR-CONACYT, code number 2002-C01-6163, and the Foundation PRODUCE - Ver (PRODUVER) through the project: Plantations, ecology and demography of *Abies religiosa* (Kunth) Schldt. et Cham. and *A. hickelii*: two potential species for Christmas tree production in Cofre de Perote.

End of English Version

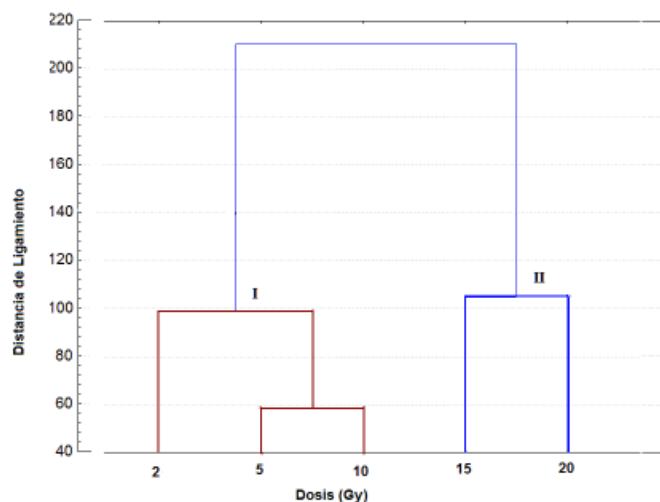


FIGURA 5. Dendrograma UPGMA derivado de los valores de semejanza estimada mediante el índice de Jaccard del efecto de las dosis (2, 5, 10, 15 y 20) de rayos gamma aplicadas sobre el porcentaje de germinación, altura y número de acículas en *Abies religiosa* (Kunth) Schldt. et Cham. (Grupos: I, II).

FIGURE 5. Dendrogram UPGMA derived from the values of similarity estimated through the Jaccard index of the effect of the doses (2, 5, 10, 15, and 20) of gamma rays applied over the percentage of germination, height and number of aciculae in *Abies religiosa* (Kunth) Schldt. et Cham. (Groups: I, II).

- DE LA FE, C.; ROMERO, M.; CASTILLO, E. 1996. Radiosensibilidad de semillas de papa a los rayos gamma ^{60}Co . Cultivos Tropicales 17(3): 77-80.
- FERREIRA, C. A.; DO NASCIMENTO, V. F.; FERREIRA, M.; VENCOSVSKY, R. 1980. Efeito de baixas doses de radiação Gama na conservação do poder germinativo de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bert) O. Kuntze. IPEF 21: 67-82.
- FUCHS, M.; GONZÁLEZ, V.; CASTRONI, S.; DÍAZ, E.; CASTRO, L. 2002. Efecto de la radiación gamma sobre la diferenciación de plantas de caña de azúcar a partir de callos. Agronomía Tropical 52: 311-323.
- FUENTES, J. L.; SANTIAGO, L.; VALDÉS, Y.; GUERRA, M.; RAMÍREZ, I. M.; PRIETO, E. F.; RODRÍGUEZ, N. N.; VELÁZQUEZ, B. 2004. Mutation induction in zygotic embryos of avocado (*Persea americana* Mill). Biotecnología Aplicada 21: 82-84.
- IQBAL, J. 1969. Radiation induced growth abnormalities in vegetative shoot apices of *Capsicum annum* L. in relation to cellular damage. Radiat. Bot. 9: 491-499.
- JAIN, S. M. 2002. Feeding the world with induced mutations and biotechnology. Proceedings of International Nuclear Conference 2002-Global trends and perspectives. Seminar 1: Agriculture and Bioscience. MINT, Bangi, Malaysia. pp 1-14.
- LEMUS, Y.; MÉNDEZ-NATERA, J.; CEDEÑO, J.; OTAHOLA-GÓMEZ, V. 2002. Radiosensibilidad de dos genotipos de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) a radiaciones gamma. Revista UDO Agrícola 2: 22-28.
- LUCKEY, T. D. 1980. Hormesis with ionizing radiations. CRC Press. Boca Raton. 222 p.
- MANZANILLA, H. 1974. Investigaciones Epidemétricas y Silvícolas en Bosques Mexicanos de *Abies religiosa*. Dirección General de Información y Relaciones Públicas de la SAG. México, D. F.
- NIETO DE PASCUAL-POLA, C.; MUSÁLEM, M. A.; ORTEGA-ALCALÁ, J. 2003. Estudio de algunas características de conos y semillas de *Abies religiosa* (HBK) Schl. et Cham. Agrociencia 37: 521-531.
- NWACHUKWU, E.; ENE, L.; MBANASO, E. 1994. Radiation sensitivity of two ginger varieties (*Zingiber officinale* Rosc.) for gamma irradiation. Der Tropenlandwirt, Zeitschrift für die Landwirtschaft in den Tropen and Subtropen 95 (Jahrgang) S. 99-103.
- POROSOVA, O. A. 1983. Radiosensitivity of pine (*Pinus sylvestris*) seeds as dependent on their moisture content storage time after irradiation. Ekologiya 3: 82-84.
- RAMÍREZ, R.; GONZÁLEZ, L. M.; CAMEJO, Y.; ZALDIVAR, N.; FERNÁNDEZ, Y. 2006. Estudio de radiosensibilidad y selección del rango de dosis estimulantes de rayos X en cuatro variedades de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Cultivos Tropicales 27(1): 63-67.
- RUDOLPH, T. D. 1979. Effects of gamma irradiation of *Pinus banksiana* Lamb. seed as expressed by M₁ trees over 10-year period. Env. Exp. Bot. 19: 85-92.
- SÁNCHEZ-VELÁSQUEZ, L. R.; PINEDA-LÓPEZ, M. R.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, A. 1991. Distribución y estructura de la población de *Abies religiosa* Schl. et Cham., en el Cofre de Perote, Estado de Veracruz, México. Acta Botánica Mexicana 16: 45-55.
- SÁNCHEZ-VELÁSQUEZ, L. R.; PINEDA-LÓPEZ, M. R. 1993. Conservación y desarrollo rural en zonas de montaña: El manejo forestal como un elemento potencial en Veracruz. BIOTAM 5: 35-44.
- SNEATH, H. A.; SOKAL, R. R. 1973. Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification. W.H. Freeman, San Francisco. 573 p.
- SOKOLOV, M. V.; ISAYENKOV, S. V.; SOROCHYNSKYI, B. V. 1998. Low-dose irradiation can modify viability characteristics of common pine (*Pinus sylvestris*) seeds. Tsitologiyai Genetica 32: 65-71.
- STATSOFT, Inc. 1998. Statistica for window. Versión 7. (Computer program manual). Statistica: user guide. 2325 East 13 th Street, Tulsa ok. 74104. USA.
- VICCINI, L. F.; CARVALHO, C. R. 2001. Analysis of gamma radiation-induced chromosome variations in maize (*Zea mays* L.). Caryologia. 54: 319-327.
- WARD, J. F. 1988. DNA damage produced by ionizing radiation in mammalian cells: identities, mechanisms of formation, and repairability. Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol. 35: 96-128.
- YAMAGUCHI, H.; SHIMIZU, A.; DEGI, K.; MORISHITA, T. 2008. Effects of dose and dose rate of gamma ray irradiation on mutation induction and nuclear DNA content in chrysanthemum. Breeding Science 58: 331-335.