

# Uso de rayos gamma para la producción de mutantes de *Echeveria* sp. para potenciar el futuro beneficio del productor nacional

## Use of gamma rays to produce *Echeveria* sp. mutants to boost the future profit of the national producer


Girlany Quesada-Cordero<sup>1</sup>, Frank Carlos Barrientos-Alfaro<sup>2</sup>, Walter Vargas-Segura<sup>3</sup>, Jason Pérez<sup>4</sup>


Fecha de recepción: 22 de noviembre, 2024  
Fecha de aprobación: 17 de marzo, 2025

Quesada-Cordero, G; Barrientos-Alfaro, F.C; Vargas-Segura, W; Pérez, J. Uso de rayos gamma para la producción de mutantes de *Echeveria* sp. Para potenciar el futuro beneficio del productor nacional. *Tecnología en Marcha*. Vol. 38, Nº 4. Octubre-Diciembre, 2025. Pág. 87-98.


 <https://doi.org/10.18845/tm.v38i4.7593>

1 Centro de Investigación en Biotecnología, Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica.

 [girlanyquesada02@gmail.com](mailto:girlanyquesada02@gmail.com)


 <https://orcid.org/0009-0003-0641-0334>


2 Centro de Investigación en Biotecnología, Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica.

 [fbarrientos@itcr.ac.cr](mailto:fbarrientos@itcr.ac.cr)


 <https://orcid.org/0000-0001-8961-4110>


3 Laboratorio de Irradiación Gamma, Escuela de Física, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica.

 [walvargas@itcr.ac.cr](mailto:walvargas@itcr.ac.cr)

 <https://orcid.org/0000-0003-2434-1945>

4 Centro de Investigación en Biotecnología, Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica.

 [jasperez@itcr.ac.cr](mailto:jasperez@itcr.ac.cr)

 <https://orcid.org/0000-0002-8267-4978>



## Palabras clave

Biotecnología; energía atómica; mutación; radiación; recursos vegetales.

## Resumen

El mejoramiento genético vía mutagénesis radioinducida es un método eficaz para aumentar la variabilidad en plantas, permitiendo inducir características deseadas ausentes en la naturaleza o pérdidas durante la evolución o procesos de mejoramiento genético. Esta investigación se desarrolló con el objetivo de producir líneas mutantes de *Echeveria* sp. utilizando rayos gamma, con el fin de optimizar protocolos necesarios para ofrecer más opciones y variedad en el mercado de suculentas en Costa Rica. Se demostró que el tratamiento de desinfección con incubación por 20 min en NaOCl, presentó un 46.9 % de explantes asépticos. El medio con 50 % de sales MS y 6 g.L<sup>-1</sup> de gelificante resultó ser el más efectivo para la multiplicación y la reducción de la hiperhidricidad en los explantes. Hojas de vitroplantas de *Echeveria* sp. fueron tratadas con dosis de 0, 20, 40, 60, 80 y 100 Gy de radiación gamma. Se determinó que la DL<sub>50</sub> para hojas de vitroplantas corresponde a 23.16 Gy. Posteriormente, los explantes irradiados fueron subcultivados en el medio de multiplicación para inducir su brotación y después de 6 subcultivos, fueron aclimatadas en invernadero. Los protocolos de irradiación y micropropagación de *Echeveria* sp. demostraron ser eficaces, ofreciendo un valioso recurso para el mejoramiento genético de la especie y facilitando la transferencia de nuevas variedades a los productores de plantas ornamentales.

## Keywords

Atomic energy; biotechnology; mutation; radiation; plant resources.

## Abstract

Radioinduced mutagenesis is a powerful tool for enhancing genetic variability in plants, enabling the induction of desired traits, absent in nature or lost through evolution and breeding. This study aimed to generate mutant lines of *Echeveria* sp. using gamma rays, expanding the variety of succulents available in Costa Rica. A disinfection treatment using 20 min of incubation in NaOCl resulted in 46.9 % aseptic explants. The medium containing 50 % MS salts and 6 g.L<sup>-1</sup> of gelling agent proved to be the most effective for explant multiplication and hyperhydricity reduction. Leaves from *Echeveria* sp. vitroplants were exposed to gamma radiation doses of 0, 20, 40, 60, 80 and 100 Gy. The LD<sub>50</sub> for vitroplant leaves was determined to be 23.16 Gy. Irradiated explants were subcultured in multiplication medium to promote sprouting and, after six subcultures, successfully acclimatized in greenhouse conditions. The established irradiation and micropropagation protocols proved to be effective for mutation induction in *Echeveria* sp., offering an innovative resource for developing new ornamental varieties and supporting their adoption by succulent producers.

## Introducción

*Echeveria* sp. es un género de plantas perennes y suculentas pertenecientes a la familia Crassulaceae, cuyo centro de origen radica en el continente americano [1]. Dada su relevancia ornamental, las plantas de este género han experimentado un crecimiento significativo en términos de mercado [2]. Su atractivo visual, facilidad de cuidado y diversidad de formas y colores, las convierten en una opción popular para hogares y negocios [2]. Dado esto, la demanda de nuevas variedades con características únicas y distintivas sigue creciendo [2].

El mejoramiento genético vía mutagénesis radioinducida es un método eficaz para obtener mayor variabilidad genética en plantas [3]. Adicionalmente, es descrita como una herramienta valiosa para obtener nuevas variedades con características únicas y distintivas que satisfagan la creciente demanda del mercado [4]. Esta técnica permite inducir características deseadas que no se pueden encontrar en la naturaleza o se han perdido durante el proceso evolutivo, de domesticación o de mejoramiento genético convencional [5]. Dentro de dichos rasgos destacan la resistencia a plagas y enfermedades, tolerancia a condiciones ambientales adversas y mayor vigorosidad de crecimiento; así como cambios en patrones de coloración y aumento en el número de hijuelos [3].

Posterior al proceso de mutagénesis, se debe realizar la selección de los genotipos de interés. Para este propósito, el cultivo de tejidos ha sido una biotecnología de excepcional utilidad, ya que en un espacio reducido y en condiciones controladas, se han desarrollado investigaciones para el mejoramiento genético en múltiples especies como *E. runyionii*, *E. derembergii* y el híbrido Perle von Nürnberg (*E. gibbiflora* × *elegans*) [4]. Así, los terrenos, mano de obra e insumos que se deben utilizar para la evaluación de los mutantes, pueden liberarse para la producción en campo [6].

Previamente, estudios en *Echeveria* sp. han explorado el uso de distintas biotecnologías. En el caso de *E. purhepecha*, se ha estudiado su mejoramiento genético a través del cultivo *in vitro* como herramienta de conservación [7]. Esta especie endémica de Michoacán, México enfrenta riesgos debido al cambio de uso de suelo [7]. La biotecnología, en este contexto, se ha empleado mediante técnicas de organogénesis directa con reguladores de crecimiento, como la 6-bencilaminopurina (6-BAP) y el ácido indolacético (AIA), logrando acelerar la tasa de propagación y manteniendo las plantas libres de patógenos [7]. Por otra parte, en la especie en peligro de extinción *E. laui*, se trabajó en la optimización de las condiciones para la morfogénesis *in vitro* [8]. Mediante el uso de técnicas de cultivo de tejidos, se logró una exitosa germinación, inducción de brotes y enraizamiento, con una alta tasa de supervivencia durante la aclimatación [8].

El mejoramiento genético por inducción de mutaciones en *Echeveria* sp. permite generar beneficios para los productores costarricenses de especies ornamentales, incluyendo aumento en la rentabilidad, el fortalecimiento del sector agroindustrial y la posición de Costa Rica como referente en la producción de plantas de alta calidad [9]. Por estas razones, contar con nuevas variedades de plantas con características únicas, que puedan contrarrestar los problemas agronómicos y con mayor variedad en colores, tamaños y formas exóticas representa un estímulo para los productores y los clientes.

Contribuir a satisfacer estas y otras de las necesidades de los productores de plantas ornamentales es parte de la misión de las universidades públicas como el Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), que cuenta con instalaciones, equipos y profesionales capacitados para producir aportes de este tipo. Dado lo descrito, la presente investigación se llevó a cabo con el objetivo de producir líneas mutantes de *Echeveria* sp. en condiciones *in vitro*, mediante la inducción de mutaciones empleando radiación gamma, como una primera etapa en la diversificación de la oferta de plantas ornamentales en Costa Rica, reduciendo la dependencia de la importación de variedades desarrolladas en otros países.

## Materiales y métodos

A continuación, se describen los métodos utilizados para la desinfección, cultivo *in vitro* e irradiación de material vegetal de *Echeveria* sp. proveniente del invernadero. Asimismo, se describen las condiciones para la multiplicación y aclimatación de plantas mutantes obtenidas a partir del material irradiado. En la Figura 1, se muestra un esquema general de la metodología ejecutada en la presente investigación.



**Figura 1.** Esquema general de la metodología desarrollada para la producción de líneas mutantes de *Echeveria* sp. Elaborado con Biorender.com.

### Establecimiento *in vitro*.

Los ensayos desarrollados para la optimización de la desinfección de hojas de *Echeveria* sp. para su establecimiento *in vitro* se basaron en el protocolo descrito por Ayala-González & Obledo-Vázquez [7], con algunas modificaciones que se detallan a continuación. En el tratamiento de desinfección 1 (TD1), las hojas fueron lavadas con una solución de jabón líquido al 1 % (v.v<sup>-1</sup>), hasta quitar la pruina de la superficie foliar. Posteriormente, se enjuagaron 3 veces con agua destilada y fueron sumergidas en una solución de 70 % (v.v<sup>-1</sup>) etanol durante 5 minutos en agitación orbital constante. Después de ser enjuagadas nuevamente 3 veces con agua destilada, las hojas fueron incubadas en la solución de Afungil 50 WP®, Agri-mycin 16,5 WP® y Zetaran 76 WP® (4 g.L<sup>-1</sup> de cada uno) durante 15 minutos. Enseguida, se realizaron 3 enjuagues con agua destilada. Después, los explantes fueron transferidos a cámara de flujo laminar, donde se colocaron en la solución 1 % (v.v<sup>-1</sup>) NaOCl por 10 minutos. Finalmente, los explantes fueron enjuagados 3 veces con agua destilada estéril.

Para el tratamiento de desinfección 2 (TD2), se emplearon las mismas soluciones desinfectantes (mismas concentraciones) y el mismo orden seguido en tratamiento TD1; sin embargo, los tiempos de incubación en cada solución se duplicó.

Después de la desinfección, los explantes fueron cultivados en un medio compuesto, por los macro y micronutrientes descritos por Murashige & Skoog (MS) [10], las vitaminas B5 [11], 3 % (m.v<sup>-1</sup>) de sacarosa, 2 mg.L<sup>-1</sup> de 6-bencilaminopurina (6-BAP) y se agregó 1 mg.L<sup>-1</sup> de ácido indol-3-butírico (AIB). Todos estos reactivos fueron provistos por PhytoTech Labs® (Lenexa, Kansas, Estados Unidos). El pH del medio fue ajustado a 5.70, empleando HCl 1 N o NaOH 1 N, según fuera requerido, y este fue gelificado mediante la adición de 3 g.L<sup>-1</sup> de Gellan Gum® (Plant Cell Technology, Washington D.C., Estados Unidos), antes de la esterilización por calor húmedo en autoclave (121 °C, 1.2 atm por 30 min). Los cultivos fueron mantenidos en condiciones de luz con 18 μmol.s<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup> de intensidad con un fotoperiodo de 16 h de luz, a 25 ± 2 °C, durante dos meses.

La efectividad de los tratamientos de desinfección fue evaluada después de 30 días, contabilizando el número de explantes asépticos. Para cada tratamiento fueron evaluadas 20 muestras, seleccionadas independiente y aleatoriamente. Los datos obtenidos fueron analizados mediante una prueba Chi Cuadrado, evaluando la significancia del tratamiento de desinfección evaluado. Este análisis fue realizado considerando un umbral de confianza del 95 %.

### Multiplicación

Este experimento se estableció para disminuir la hiperhidricidad mostrada durante el cultivo *in vitro* de las plantas de *Echeveria* sp. Los explantes previamente establecidos regeneraron plantas a partir de los segmentos de hoja desinfectados. Para la multiplicación, brotes laterales fueron cultivados en dos medios de diferente composición. La composición del primer medio (MM1) consistió en las sales MS [10] y las vitaminas B5 [11] suplementado con 40 g.L<sup>-1</sup> de sacarosa. Estos reactivos fueron provistos por PhytoTech Labs® (Lenexa, Kansas, Estados Unidos). Por otra parte, el segundo medio (MM2) se preparó utilizando 50 % de las sales MS [10] y de las vitaminas B5 [11] suplementado con 40 g.L<sup>-1</sup> de sacarosa. El pH de ambos medios fue ajustado a 5.70 empleando HCl 1 N o NaOH 1 N, según se requiriera y estos fueron gelificados mediante la adición de 3 y 6 g.L<sup>-1</sup> de Gellan Gum® (Plant Cell Technology, Washington D.C., Estados Unidos), respectivamente, previo a la esterilización en autoclave a 121°C, 1.2 atm por 30 min. Los cultivos fueron multiplicados cada 4 semanas durante 24 semanas y se mantuvieron a 25 ± 2 °C y con una iluminación de 72 μmol.s<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup> con un fotoperiodo de 16 h de luz.

Después de 16 semanas, se procedió a evaluar la tasa de sobrevivencia del material vegetal tras su cultivo en los dos medios previamente descritos. Para determinar si la composición de los medios de cultivo generó un efecto significativo sobre dicha variable de respuesta se realizó una prueba de Chi cuadrado. Dicha prueba se llevó a cabo considerando un umbral de confianza del 95 %.

### Irradiación

Posterior a la optimización del protocolo de desinfección y multiplicación, se procedió con la etapa de mutagénesis. Hojas de *Echeveria* sp. provenientes de material *in vitro*, fueron irradiadas en el sistema de irradiación gamma tipo Ob-Servo Ignis (Institute of Isotopes Co, Ltd, Budapest, Hungría) del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR, Figura 2). Este material fue expuesto a dosis de radiación gamma de 0, 20, 40, 60, 80 y 100 Gy. Posterior a la irradiación, el material vegetal se mantuvo a 25 ± 2 °C, en condiciones de oscuridad por 30 días. Transcurrido dicho período, el material fue subcultivado en el medio MM2 (optimizado en la etapa anterior) y colocado a 25 ± 2 °C, bajo una irradiancia de de 72 μmol.s<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup> con un fotoperiodo de 16 h de luz.



**Figura 2.** Sistema de irradiación gamma tipo Ob-Servo Ignis del Laboratorio de Irradiación Gamma del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR).

Cuatro semanas después del subcultivo del material irradiado se evaluó la sobrevivencia, considerando que el explante era sobreviviente cuando mantenía su coloración, sin signos de necrosis. Este experimento fue analizado en un diseño completamente al azar (DCA), correspondiendo al factor evaluado la dosis de irradiación. Cada tratamiento correspondiente a las dosis de irradiación consistió en 10 muestras, seleccionadas independiente y aleatoriamente. Los datos obtenidos fueron analizados mediante ajustes de modelo lineal generalizado (GLM) con una distribución binomial y una función de enlace de tipo logit, con el fin de determinar la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) de radiación gamma para hojas de *Echeveria* sp.

### Aclimatación

Después de 6 ciclos de multiplicación se alcanzó, la población M1V6 que consistió en 4900 individuos, se llevó a cabo la aclimatación de los mutantes putativos a condiciones *ex vitro*. Inicialmente, los frascos que contenían las plantas fueron trasladados al invernadero y durante los primeros tres días, los frascos se mantuvieron cerrados con sus respectivas tapas.

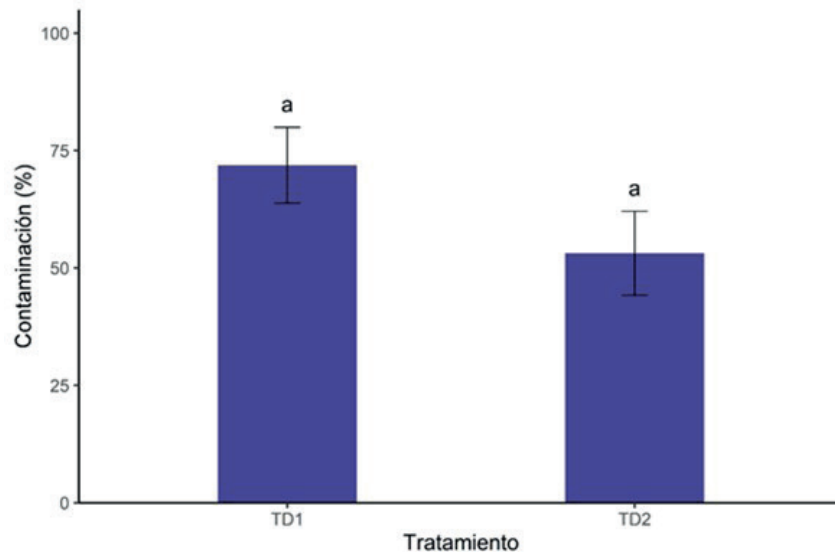
Posteriormente, se retiraron las tapas de los frascos, exponiendo directamente las plantas al ambiente del invernadero por tres días adicionales. Al concluir los seis días de aclimatación progresiva, los explantes se transfirieron cuidadosamente a macetas de plástico con sustrato compuesto por una mezcla de tierra abonada y turba. Con el fin de mantener niveles óptimos de humedad y temperatura, se colocó un recipiente de plástico transparente invertido sobre cada maceta. Adicionalmente, las macetas se colocaron en bandejas con agua, permitiendo un suministro continuo y constante de humedad por capilaridad.



## Resultados

### Desinfección y establecimiento *in vitro*

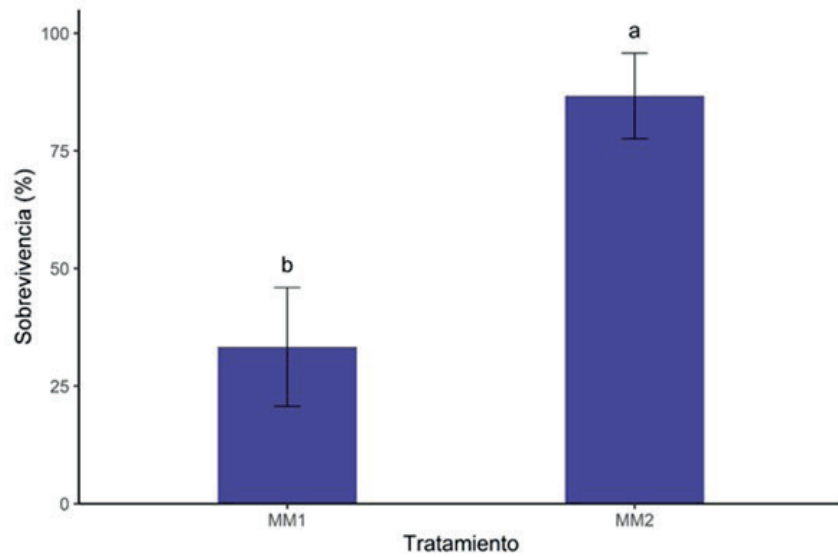
Cuatro semanas después del establecimiento *in vitro* de hojas de *Echeveria* sp. provenientes de invernadero, se evaluó la efectividad de los dos tratamientos de desinfección. Se observó que el tratamiento TD2, con tiempos de incubación más prolongados, presentó una menor tasa de contaminación (53.12 %), en comparación con TD1 que presentó un 71.88 % de explantes contaminados (Figura 3). Aunque la diferencia entre los tratamientos no fue estadísticamente significativa de acuerdo con la prueba Chi Cuadrado, el uso de TD2 resultó más adecuado para reducir la contaminación en condiciones similares.



**Figura 3.** Respuesta de hojas de *Echeveria* sp. provenientes de plantas de invernadero cuatro semanas después de la exposición a dos tratamientos de desinfección. Las medidas con la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) de acuerdo con la prueba Chi Cuadrado. TD1: etanol al 70 % por 5 minutos, fungicidas (Afungil 50 WP®, Agri-mycin 16,5 WP® y Zetaran 76 WP®) a 4 g/L cada uno durante 15 minutos, 1 % NaOCl durante 10 minutos. TD2: Se utilizaron las mismas soluciones y concentraciones, pero los tiempos de incubación fueron duplicados en comparación con T1.

### Multiplicación de las líneas mutantes

En la evaluación de los medios de multiplicación, la sobrevivencia de las plántulas fue significativamente mayor al emplear el medio con el 50 % de nutrientes y vitaminas (MM2), con una tasa de sobrevivencia del 86.67 % de los explantes (Figura 4). Por otra parte, al emplear el medio de multiplicación con el 100 % de nutrientes y vitaminas (MM1), únicamente el 33.33 % de los explantes sobrevivieron (Figura 4). Las vitroplantas de *Echeveria* sp. mostraron un desarrollo adecuado, con altas tasas de brotación y ausencia de tejidos hiperhidratados en el cultivo en MM2 (Figura 5), siendo un medio de cultivo efectivo para promover el desarrollo de nuevos brotes en la etapa de multiplicación. Estos resultados destacan la superioridad del medio con el 50 % de los nutrientes para promover la sobrevivencia en *Echeveria* sp., sugiriendo una composición más adecuada para el desarrollo del material vegetal.



**Figura 4.** Efecto de la formulación del medio de cultivo durante la fase de multiplicación en la sobrevivencia de vitroplantas de *Echeveria* sp. después de 16 semanas de cultivo. Las medias con la misma letra no presentan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ), según la prueba Chi Cuadrado.



**Figura 5.** Vitroplantas mutantes de *Echeveria* sp. producidas tras la exposición a 20 Gy de radiación gamma. Evaluación realizada después de 16 semanas de cultivo en el medio de multiplicación MM2.

### Irradiación

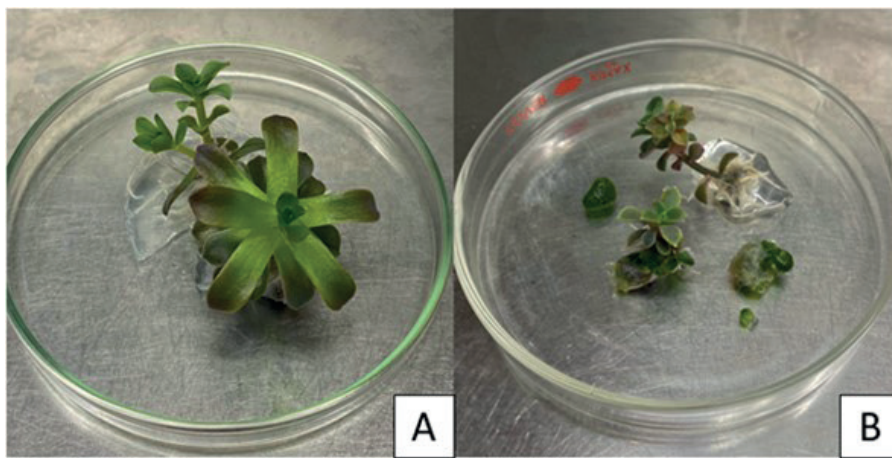
En este experimento, se observó que las hojas de *Echeveria* sp. presentaron una sobrevivencia máxima promedio del 70 % en el tratamiento control (0 Gy) y 20 Gy. Por otra parte, los tratamientos expuestos a dosis superiores a 80 Gy presentaron una mortalidad del 100 % (datos no mostrados). A partir del ajuste del modelo de regresión en los datos obtenidos, se determinó que la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) de radiación gamma para las hojas de vitroplantas de *Echeveria* sp. corresponde a 23.16 Gy (Cuadro 1).



**Cuadro 1.** Radiosensibilidad del tejido foliar de vitroplantas de *Echeveria* sp. 4 semanas posterior a la exposición a diferentes dosis de radiación gamma, determinado mediante el ajuste de modelo de regresión logístico para la variable sobrevivencia.

Modelo de dosis letal	Dosis determinada (Gy)	Límite inferior (Gy)	Límite superior (Gy)
DL <sub>25</sub>	14.00	0.89	28.27
DL <sub>50</sub>	23.16	9.66	36.36
DL <sub>75</sub>	32.33	18.43	44.45

Por otra parte, en la Figura 6 se presenta una comparación, durante la etapa de multiplicación, entre una vitroplanta de *Echeveria* sp. proveniente de tejidos sin irradiar (Figura 6A) y una planta regenerada a partir de material expuesto a 20 Gy de radiación gamma (Figura 6B). Obsérvese la diferencia entre ambas plantas respecto a la elongación y color de las hojas.



**Figura 6.** Comparación entre una vitroplanta no irradiada de *Echeveria* sp. (A) y una línea regenerada a partir de tejido vegetal expuesto a 20 Gy de radiación gamma (B).

#### Aclimatación de líneas mutantes de *Echeveria* sp.

En la Figura 7 se muestra una línea mutante de *Echeveria* sp. obtenida tras la exposición de material vegetal a 20 Gy de radiación gamma, después de 6 subcultivos *in vitro*, y 24 semanas posterior a la siembra en condiciones de invernadero.



**Figura 7.** Planta de *Echeveria* sp. obtenida tras la exposición de material vegetal a 20 Gy de radiación gamma.

## Discusión

De acuerdo con Kim *et al.* [12], el tiempo de exposición es un factor crucial en cualquier procedimiento de desinfección. Deng *et al.* [13] señalan que un mayor tiempo de exposición del material vegetal a agentes desinfectantes, disminuye la carga microbiana, mejorando la eficacia del tratamiento. En el caso de la solución de etanol al 70 % (v.v<sup>-1</sup>), el estudio de Uchikawa Graziano *et al.* [14] indica que este actúa rápidamente, desnaturalizando proteínas y disolviendo lípidos, lo que conlleva a la destrucción de la membrana celular de diversos microorganismos.

Por otra parte, el uso de agroquímicos especializados es otro aspecto clave que diferencia significativamente TD2 de TD1. La solución de agroquímicos compuesta por Afungil 50 WP®, Agri-mycin 16,5 WP® y Zetaran 76 WP® actúa de manera conjunta contra una amplia gama de hongos y bacterias que pueden ser resistentes a los desinfectantes comunes como el alcohol y el cloro [15]. Estos aseguran una desinfección más profunda y efectiva. Por otra parte, el hipoclorito de sodio (NaOCl) es un desinfectante potente y su aplicación prolongada asegura la eliminación de cualquier microorganismo. De acuerdo con Ali & Mahmood [16], este desinfectante actúa oxidando componentes celulares esenciales de los microorganismos. La mayor duración de la exposición en TD2 maximiza esta acción oxidativa, asegurando una mayor asepsia en los explantes.

De acuerdo con Murashige & Skoog [10], una concentración menor de sales puede ser ventajosa, pues un exceso de nutrientes puede llevar a problemas como la hiperhidratación, el cual se observó en los brotes emergentes durante el establecimiento *in vitro*. De acuerdo con Indacochea *et al.* [17], este fenómeno se debe a una absorción excesiva de agua facilitada por un exceso de sales y minerales en el medio de cultivo. Esto puede ser contrarrestado mediante una reducción en la concentración de los mismos, tal como se formuló en MM2. Asimismo, una mayor concentración de gelificante forma una matriz de gel más sólida y estable, proporcionando soporte físico a las raíces de las plantas. De acuerdo con Polivanova & Bedarev [18], esto no solo mejora el desarrollo radicular, sino que también ayuda a mitigar problemas como la hiperhidratación al regular mejor el potencial hídrico del medio.

Al trazar la curva de radiosensibilidad para hojas de vitroplantas de *Echeveria* sp., se evidenció la existencia de una relación inversamente proporcional entre la dosis de radiación y la tasa de sobrevivencia de los explantes irradiados. Esto se puede explicar con base en que dosis superiores de radiación, causan en los explantes mayor estrés oxidativo, y aumento en la tasa de efectos directos en el ADN, proteínas y membranas, entre otros [19]. Este proceso daña gravemente las células vegetales y afectar negativamente su capacidad de regeneración y crecimiento [19, 20]. Dado que la tasa de sobrevivencia del material expuesto a 20 Gy y el tratamiento control presentaron el mismo valor, se sugiere que esta dosis proporciona un nivel de radiación suficiente para inducir cambios sin causar un daño excesivo a las células vegetales.

Finalmente, la aclimatación de las plantas después del cultivo *in vitro* es un proceso crítico que determina el éxito de su adaptación al entorno natural. De acuerdo con Genoud *et al.* [21], esto permite minimizar el choque ambiental, permitiendo que los explantes se adapten gradualmente a las condiciones externas, incluyendo variaciones en temperatura, humedad y luz. Marín [22] señala que retirar las tapas de los frascos, exponiendo directamente las plantas al ambiente del invernadero, permite fortalecer la resistencia de los explantes, incrementando su capacidad para manejar el estrés ambiental. Asimismo, la exposición gradual a las nuevas condiciones es esencial para que las plantas ajusten sus mecanismos fisiológicos y se preparen para un entorno menos controlado.

## Conclusiones

Dado su mayor tiempo de exposición a los agentes desinfectantes, el tratamiento de desinfección 2 (TD2) resultó ser más efectivo que TD1, lo que aumenta la cantidad de explantes establecidos *in vitro*, disminuyendo la carga microbiana en los mismos. Esta etapa es crucial para mantener la sanidad de los explantes durante su establecimiento *in vitro*. Asimismo, se determinó que una concentración menor de sales y mayor concentración de gelificante en el medio utilizado para la multiplicación de vitroplantas de *Echeveria* sp. (MM2) presenta ventajas significativas en el proceso. Esta formulación proporciona un entorno más equilibrado, reduciendo el riesgo de hiperhidratación e incrementando la tasa de sobrevivencia del material vegetal. Finalmente, se determinó que la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) de radiación gamma para hojas de vitroplantas de *Echeveria* sp. corresponde a 23.16 Gy, estableciendo esta medida como un valor crítico para la supervivencia. La dosis de 20 Gy fue identificada como la más adecuada, logrando la máxima eficacia al disminuir la necrosis, que se intensificó con dosis superiores.

## Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a la Vicerrectoría de Investigación y Extensión del Instituto Tecnológico de Costa Rica por el apoyo brindado en el desarrollo del proyecto «Uso de rayos gamma para la producción de mutantes de *Echeveria* sp. para potenciar el futuro beneficio del productor nacional».

## Referencias

- [1] G. Palomino, J. Martínez-Ramón, V. Cepeda-Cornejo, M. Ladd-Otero, P. Romero y J. Reyes-Santiago, "Chromosome number, ploidy level, and nuclear DNA content in 23 species of *Echeveria* (Crassulaceae)", *Genes*, vol. 12, no. 12, pp. 1-25, 2021. <https://doi.org/10.3390/genes12121950>
- [2] C. O. Morales, "Origen, historia natural y usos de las plantas introducidas en Costa Rica", *Cuadernos de Investigación UNED*, vol. 12, no. 2, pp. 1-125, 2020. <http://dx.doi.org/10.22458/urj.v12i2.3098>
- [3] Y. Oladosu *et al.*, "Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: A review", *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, vol. 30, no. 1, pp. 1-16, 2016. <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1087333>
- [4] A. Zúñiga Orozco y A. Carrodegua González, "*Echeveria* (Crassulaceae): Potencial para la mejora genética como ornamental", *Avances en Investigación Agropecuaria*, vol. 25, no. 3, pp. 58-81, 2021. <https://doi.org/10.53897/RevAIA.21.25.16>
- [5] F. J. Novak y H. Brunner, "Fitotecnia: Tecnología de mutación inducida para el mejoramiento de los cultivos", *Boletín de OIEA*, vol. 4, pp. 25-33., 1992.
- [6] H. Alfaro, "Research aims to increase crop drought tolerance using biotechnology", 2021. [Online]. Disponible en: <https://www.unr.edu/nevada-today/news/2021/john-cushman-grant>. [Accesado May. 21, 2024].
- [7] C. Ayala-González y E. N. Obledo-Vázquez, "Comparación de la tasa de propagación *in vitro* y *ex vitro* de la especie endémica de Michoacán, *Echeveria purhepecha*", XII Encuentro de la Participación de la Mujer en la Ciencia, 2015, pp. 1-7.
- [8] M. G. Godoy Beltrán, "Morfogénesis *in vitro* de *Echeveria laui* Moran & Meyrán", Tesis de maestría, Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Montecillo, Estado de México, 2021.
- [9] S. Hernández-Muñoz, M. Pedraza-Santos, P. A. López, J. Gómez-Sanabria y J. Morales-García, "Mutagenesis in the improvement of ornamental plants", *Revista Chapingo - Serie Horticultura*, vol. 25, no. 3, pp. 151-167, 2019. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2018.12.022>
- [10] T. Murashige y F. Skoog, "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures", *Physiologia Plantarum*, vol. 15, no. 3, pp. 473-497, 1962. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- [11] L. Gamborg, A. Miller y K. Ojima, "Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells", *Experimental Cell Research*, vol. 50, no. 1, pp. 151-158, 1968. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(68\)90403-5](https://doi.org/10.1016/0014-4827(68)90403-5)
- [12] D. H. Kim, J. Gopal y I. Sivanesan, "Nanomaterials in plant tissue culture: The disclosed and undisclosed", *RSC Advances*, vol. 7, pp. 36492-36505, 2017. <https://doi.org/10.1039/C7RA07025J>

- [13] L. -Z. Deng *et al.*, "Emerging chemical and physical disinfection technologies of fruits and vegetables: A comprehensive review", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 60, no. 15, pp. 2481-2508, 2020. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1649633>
- [14] M. Uchikawa Graziano, K. Uchikawa Graziano, F. Morais Gomes Pinto, C. Quartim de Moraes Bruna, R. Queiroz de Souza y C. A. Lascala, "Eficacia de la desinfección con alcohol al 70% (p/v) de superficies contaminadas sin limpieza previa", *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, vol. 21, no. 2, pp. 1-6, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0104-11692013000200020>
- [15] Subdirección de Salud Ambiental, "Reducción de riesgos asociados al uso de productos plaguicidas y desinfectantes", 2020. [Online]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/abece-plaguicidas-desinfectantes.pdf>. [Accesado May. 27, 2024].
- [16] S. N. Ali y R. Mahmood, "Sodium chlorite increases production of reactive oxygen species that impair the antioxidant system and cause morphological changes in human erythrocytes", *Environmental Toxicology*, vol. 32, no. 4, pp. 1343-1353, 2017. <https://doi.org/10.1002/tox.22328>
- [17] B. Indacochea *et al.*, "Evaluación de medios de cultivo *In vitro* para especies forestales nativas en peligro de extinción en Ecuador", *Agronomía Costarricense*, vol. 42, no. 1, pp. 63-89, 2018. ISSN: 0377-9424.
- [18] O. B. Polivanova y V. A. Bedarev, "Hyperhydricity in plant tissue culture", *Plants*, vol. 11, no. 23, pp. 1-12, 2022. <https://doi.org/10.3390/plants11233313>
- [19] D. Kiani, A. Borzouei, S. Ramezanour, H. Soltanloo y S. Saadati, "Application of gamma irradiation on morphological, biochemical, and molecular aspects of wheat (*Triticum aestivum* L.) under different seed moisture contents", *Scientific Reports*, vol. 12, pp. 1-10, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14949-6>
- [20] S. Penna y S. G. Bhagwat, "Mutagenesis and selection: Reflections on the *in vivo* and *in vitro* approaches for mutant development" en *Mutation Breeding for Sustainable Food Production and Climate Resilience*, S. Penna y S. M. Jain, Eds. Singapore: Springer, 2023, pp. 99-127. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-9720-3\\_4](https://doi.org/10.1007/978-981-16-9720-3_4)
- [21] C. Genoud-Gourichon, H. Sallanon y A. Coudret, "Effect of sucrose, agar, irradiance and CO<sub>2</sub> concentration during rooting phase on the acclimation of *Rosa hybrida* plantlets to *ex vitro* conditions", *Photosynthetica*, 32(2), 263-270, 1996. ISSN: 0300-3604.
- [22] J. Marín, "High survival rates during acclimatization of micropropagated fruit tree rootstocks by increasing exposures to low relative humidity", *Acta Horticulturae*, vol. 616, pp. 139-142, 2003. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.616.13>

### Declaración sobre uso de Inteligencia Artificial (IA)

Los autores aquí firmantes declaramos que no se utilizó ninguna herramienta de IA para la conceptualización, traducción o redacción de este artículo.