

GERMINACIÓN Y ORGANOGÉNESIS *in vitro* EN TRES VARIEDADES DE FRIJOL COMÚN (*Phaseolus vulgaris* L).

in vitro GERMINATION AND ORGANOGENESIS IN THREE VARIETIES OF COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L).

Víctor M. Morales-Hernández¹, Ma. Cristina G. López-Peralta^{1*},
Serafín Cruz-Izquierdo¹ y Andrés A. Estrada-Luna²

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Genética, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. ²Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Unidad Irapuato, Departamento de Ingeniería Genética, Irapuato, Guanajuato, México.

*Autora de correspondencia (cristy@colpos.mx)

RESUMEN

México es centro de origen del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.), leguminosa más cultivada en el país. Esta especie presenta una gran variabilidad genética, lo que la hace valiosa frente al cambio climático en distintos sistemas de producción. Las técnicas de cultivo de tejidos vegetales *in vitro* son herramientas que apoyan a la multiplicación de material valioso y escaso, pero aún tienen que enfrentarse a la recalcitrancia de la especie. El objetivo de esta investigación fue evaluar la germinación y organogénesis *in vitro* de frijol común variedades Flor de Mayo, Jamapa y Peruano. Para la germinación *in vitro*, se evaluaron tratamientos de desinfección con hipoclorito de sodio comercial (20 y 30 %) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) (0-3 % v/v) en distintos tiempos de inmersión (0 a 4 h). En la inducción de brotes, se usaron explantes tales como nudo y eje cotiledonar, eje embrionario y cotiledón, cultivados en medios Murashigue y Skoog (MS) y B5 suplementados con 6-benciladenina (BA) 72 µM. También se probó BA y tidiázurón (TDZ). Durante la multiplicación de brotes, se sembraron nudo y eje cotiledonar en medio MS adicionado con BA y TDZ. (54, 72 y 90 µM). Para el alargamiento, se evaluó el medio MS con dos niveles de sales inorgánicas (50 y 100 %). El hipoclorito de sodio 30 % fue más efectivo para desinfectar semillas de Flor de Mayo, mientras que 20 % fue suficiente para las otras dos variedades. El uso de H₂O₂ no alteró el proceso de germinación e impactó negativamente el desarrollo fenológico. Se obtuvieron en promedio 1.4 brotes por explante en Flor de Mayo y Peruano en medio MS, y 1.4 en el medio B5 para Negro Jamapa. En multiplicación se produjeron en promedio 18 brotes en dos variedades. En alargamiento se incrementó el tamaño de las plantas en medio MS 100 % en las tres variedades.

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris* L., eje cotiledonar, *in vitro*, morfogénesis, nudo cotiledonar, organogénesis.

SUMMARY

Mexico is the center of origin for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), the most widely cultivated legume in the country. This species presents great genetic variability, which makes it valuable against climate change in different production systems. *In vitro* plant tissue culture techniques are tools that support the multiplication of valuable and scarce material, but still have to face the recalcitrance of the species. The objective of this research was to evaluate the *in vitro* germination and organogenesis of common bean varieties Flor de Mayo, Jamapa and Peruano. For *in vitro* germination, disinfection treatments

with commercial sodium hypochlorite (20 and 30 %) and hydrogen peroxide (H₂O₂) (0-3 % v/v) were evaluated at different immersion times (0 to 4 h). In shoot induction, explants such as node and cotyledonary axis, embryonic axis and cotyledon were used, grown in Murashigue and Skoog (MS) and B5 media supplemented with 6-benzyladenine (BA) 72 µM. BA and thidiazuron (TDZ) were also tested. During shoot multiplication, node and cotyledonary axis were planted on MS medium supplemented with BA and TDZ (54, 72 and 90 µM). For elongation, the MS medium was evaluated with two levels of inorganic salts (50 and 100 %). Sodium hypochlorite was more effective for disinfecting Flor de Mayo seeds, while 20 % was sufficient for the other two varieties. The use of H₂O₂ did not alter the germination process and negatively impacted phenological development. On average, 1.4 shoots per explant were obtained for Flor de Mayo and Peruano in MS medium, and 1.4 in B5 medium for Negro Jamapa. In multiplication, an average of 18 shoots were produced in two varieties. In elongation, the plant length increased in MS medium 100 % in the three varieties.

Index words: *Phaseolus vulgaris* L., cotyledonary axis, cotyledonary node, *in vitro*, morphogenesis, organogenesis.

INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) ha sido fundamental en la dieta mesoamericana desde tiempos prehispánicos. En México es el segundo producto agrícola por superficie cultivada y número de agricultores, con gran impacto social y económico debido a su bajo costo y alto valor nutricional (Ramírez-Jaramillo *et al.*, 2023; Romero-Arenas *et al.*, 2013).

Phaseolus vulgaris L. se caracteriza por un alto contenido de proteínas y grasas, bajo nivel de carbohidratos, presencia de aminoácidos como triptófano y arginina, además de taninos y antocianinas (Alcázar-Valle *et al.*, 2021). Sus beneficios se manifiestan en los sistemas circulatorio, inmunológico y digestivo, así como prevención de diabetes mellitus, síndrome metabólico y diversos tipos de cáncer (Alcázar-Valle *et al.*, 2021; Fonseca *et al.*, 2023).

El cultivo enfrenta retos por el cambio climático, poniendo en riesgo la seguridad alimentaria; la sensibilidad al calor afecta procesos como el transporte de carbohidratos (Soltani *et al.*, 2019) y la disminución de riego reduce el rendimiento (Tapia *et al.*, 2022).

Las leguminosas representan un desafío importante para establecerlas en condiciones de cultivo *in vitro* debido a factores como el necrosamiento en los tejidos, acumulación de fenoles, baja regeneración y pérdida de plantas en la aclimatación (recalcitrancia); además, la dependencia del genotipo limita la aplicabilidad de las técnicas de cultivo de tejidos vegetales *in vitro* (Gatti *et al.*, 2016). Esta tecnología contribuye a optimizar la calidad y garantizar la sostenibilidad en la producción agrícola; en un programa de mejoramiento genético resulta especialmente útil, al aumentar la velocidad de propagación de materiales valiosos, rescatando embriones e incorporando características deseables, aunque aún enfrenta retos técnicos y logísticos que deben ser superados (Abbas *et al.*, 2021). Estudios recientes han demostrado que la adición de citocininas, como TDZ, es esencial para la inducción de yemas múltiples en ciertas variedades de *P. vulgaris*. A pesar de estos avances, la regeneración de plantas vía organogénesis directa sigue siendo un proceso complejo y variedad-dependiente (Gatti *et al.*, 2016). Por lo anterior, la finalidad de esta investigación fue evaluar la germinación y la organogénesis *in vitro* de tres variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) Flor de Mayo, Negro Jamapa y Peruano, desde el establecimiento del cultivo aséptico hasta el alargamiento de brotes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizaron semillas del ciclo otoño 2024 de *P. vulgaris* L., variedades Negro Jamapa, Flor de Mayo y Peruano, proporcionadas por el Programa de Mejoramiento Genético de Frijol del PREGEP-Genética del Colegio de Postgraduados.

Medio de cultivo y condiciones de incubación

Se empleó el medio básico MS (Murashige y Skoog, 1962), suplementado con sacarosa (30 g L⁻¹) y solidificado con agar (Sigma-Aldrich®, 7.0 g L⁻¹). El pH se ajustó a 5.7, y se esterilizó en autoclave horizontal (AESA® 300, México) a 121 °C y 1.5 kg cm⁻² de presión durante 20 min. Los frascos de vidrio se incubaron en fotoperiodo de 16/8 h luz/oscuridad, con lámparas LED de luz blanca fría y minisplit (Carrier) que mantuvo una temperatura de 25 ± 1 °C y humedad relativa de 40 %.

Establecimiento del cultivo aséptico: germinación *in vitro*

Efecto de diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio

Se evaluaron concentraciones de hipoclorito de sodio comercial (NaOCl, Cloralex®) (20 y 30 %) en la germinación *in vitro* de tres variedades de *P. vulgaris*. Las semillas se desinfectaron y se sembraron en frascos de vidrio de 250 mL con 30 mL de medio de cultivo MS. Se registró germinación (%) y contaminación por bacterias y hongos (%). El diseño experimental fue completamente al azar con 12 repeticiones. El análisis de los datos fue con la prueba de Whitney U.

Efecto de diferentes concentraciones y tiempos de inmersión de peróxido de hidrógeno

Las semillas de las tres variedades de frijol se colocaron en peróxido de hidrógeno (H₂O₂ 30 %, Merck®) 0, 1 y 3 % v/v durante 0, 0.5, 1, 2 y 4 h; posteriormente, se sembraron en frascos de vidrio de 250 mL con 30 mL de medio de cultivo MS. Se midió germinación (%) y etapas fenológicas (Pinzón-Sandoval *et al.*, 2024). Se utilizó un diseño completamente al azar con 15 repeticiones. El análisis estadístico se hizo con la prueba de Kruskal-Wallis (etapas fenológicas) y Whitney U (germinación).

Organogénesis directa

Inducción de brotes

Se extrajeron nudos cotiledonares, ejes cotiledonares, eje embrionario y cotiledones. Los explantes se cultivaron en medios básicos de MS y B5 (Gamborg *et al.* 1968), ambos adicionados con 72 µM de 6-benciladenina (BA). Los explantes se sembraron en frascos de vidrio de 45 mL con 10 mL de medio. El diseño experimental fue en bloques al azar generalizado (DEBAG) con cuatro bloques y dos tratamientos con 15 repeticiones. El análisis estadístico se efectuó con la prueba de Kruskal-Wallis. Las variables cuantificadas fueron número de brotes por explante (NBE) y necrosamiento del tejido (%).

Además, se evaluó, el efecto de 6-benciladenina (54, 72 y 90 µM) y tidiazurón (54, 72 y 90 µM) en la inducción de brotes de las tres variedades de *Phaseolus vulgaris* L. Se sembraron como explantes ejes y nudo cotiledonares en frascos de 45 mL con 10 mL de medio básico MS. Se empleó un diseño experimental DEBAG con dos bloques y seis tratamientos con 10 repeticiones. Los datos se analizaron mediante análisis de varianza y la prueba de Tukey. Las variables cuantificadas fueron número de

brotos por explante (NBE) y necrosamiento del tejido (%).

Multiplicación de brotes

Se sembraron como explantes ejes y nudos cotiledonares en medio MS adicionado con 6-benciladenina (54, 72 y 90 μM) y tidiazurón (54, 72 y 90 μM). Se cuantificó NBE, tamaño de brote (cm) y necrosamiento del tejido (%). Se empleó un DEBAG con 10 repeticiones. Los datos se examinaron mediante análisis de varianza y la prueba de Tukey. Se aplicó transformación raíz cuadrada a los datos de la cantidad de brotes.

Alargamiento de brotes

Se evaluó el efecto de sales inorgánicas del medio MS (50 y 100 %) y dosis de AG_3 (0.0, 1.4, 2.8, 4.2, 5.6 y 7.0 μM). Se sembraron racimos de cinco a siete brotes como explantes en frascos de vidrio de 100 mL con 20 mL de medio MS. Se evaluó el tamaño de brote (cm) y necrosamiento del tejido (%). El diseño experimental fue completamente al azar con 12 tratamientos y dos factores. Los datos se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Germinación *in vitro*

Efecto de diferentes concentraciones hipoclorito de sodio

El NaOCl comercial ha sido ampliamente utilizado en procesos de desinfección de semillas en cultivo *in vitro*; sin embargo, en trabajos como el de Salazar-Mercado *et al.* (2019) se reporta que es citotóxico en *Pisum sativum*, reduciendo crecimiento radicular e inhibiendo mitosis (> 50 %). Las concentraciones del 10 y 20 % de NaOCl no afectaron significativamente la germinación ni el desarrollo de plántulas, manteniendo la contaminación por debajo del 5 % en las variedades Negro Jamapa y Peruano, aunque se observó una alta incidencia de patógenos fúngicos en la variedad Flor de Mayo. Haliloğlu *et al.* (2023) reportaron el uso de hipoclorito de sodio en el proceso de desinfección efectiva de semillas de *P. vulgaris* utilizándolo durante 35 min al 1 % (lejía comercial 20 %)

Las concentraciones de NaClO para controlar la presencia de organismos nocivos como hongos y bacterias en esta investigación difieren entre variedades, esto concuerda con Aguilar-Rito *et al.* (2024), quienes en agave hallaron diferencias significativas entre especies ante el proceso de desinfección, indicando que la respuesta depende de factores genéticos y del tiempo de exposición.

Efecto de diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno y tiempos de inmersión

Los resultados mostraron que para la variedad Flor de Mayo ($p = 0.06$), Negro Jamapa ($p = 0.12$) y Peruano ($p = 0.45$) no hay una diferencia significativa en el crecimiento de las plantas entre las diferentes concentraciones del H_2O_2 .

Al evaluar el efecto del tiempo de inmersión del H_2O_2 en el desarrollo de plántulas de *Phaseolus vulgaris* L. se determinó que la variedad Peruano mostró diferencias significativas ($p = 0.0001859$), lo cual fue confirmado por medio de la prueba de Tukey, que reveló que los tratamientos de 0 y 0.5 h de inmersión en H_2O_2 tienen valores significativamente más altos que el tratamiento de 4 h de inmersión en H_2O_2 , lo que sugiere que inmersiones más prolongadas pueden desfavorecer el desarrollo de las plántulas.

Las interacciones entre el tiempo de inmersión y la concentración de H_2O_2 mostraron diferencias significativas para las variedades Flor de Mayo y Peruano, sugiriendo que entre 1 y 2 h de inmersión a 3 % de H_2O_2 el desarrollo fenológico de las variedades disminuye.

Un uso importante del H_2O_2 en el proceso de germinación es su implementación como agente escarificante, lo cual favorece el proceso de germinación, como es el caso de *Acacia angustissima* (Mill.) (Rincón-Rosales *et al.*, 2003). Inmersiones prolongadas en H_2O_2 pueden limitar el desarrollo de las plántulas debido a la baja difusión de oxígeno, activando vías metabólicas anaeróbicas que producen menos ATP y generan compuestos que pueden oscurecer los tejidos (Veiga *et al.*, 2024) hecho que puede traer como consecuencia que al realizar inmersiones prolongadas disminuya la germinación.

Organogénesis directa

Inducción de brotes

En la variedad Flor de Mayo (Figura 1) no hubo diferencias significativas en inducción de brotes entre medios de cultivo ($p = 0.19$, Cuadro 1), pero sí entre tipos de explante ($p \leq 0.05$). El necrosamiento fue significativo entre medios de cultivo ($p = 0.04$) y tipos de explantes ($p \leq 0.05$), siendo mayor en MS y cotiledón.

En la variedad Negro Jamapa el necrosamiento no varió de manera significativa entre medios ($p = 0.25$), pero sí la generación de brotes ($p = 0.01$), siendo el medio B5 el más efectivo (Cuadro 1). El necrosamiento presentó diferencias significativas entre los tipos de explante ($p \leq 0.05$) con los

Cuadro 1. Evaluación del efecto de los medios de cultivo de Gamborg *et al.* (1968, B5) y de Murashige y Skoog (1962, MS) en la inducción y necrosamiento de brotes en tres variedades de *Phaseolus vulgaris* L. a las tres semanas de cultivo *in vitro*.

Medio de cultivo	Brotes (Núm.)	Necrosamiento de brotes (%)
Variedad: Flor de Mayo		
B5	1.68 a	29.78 a
MS	1.03 a	44.57 b
Variedad: Negro Jamapa		
B5	1.39 a	47.75 a
MS	0.44 b	34.14 a
Variedad: Peruano		
B5	1.36 b	38.17 a
MS	2.98 a	27.74 b

Medias con la misma letra en las columnas son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

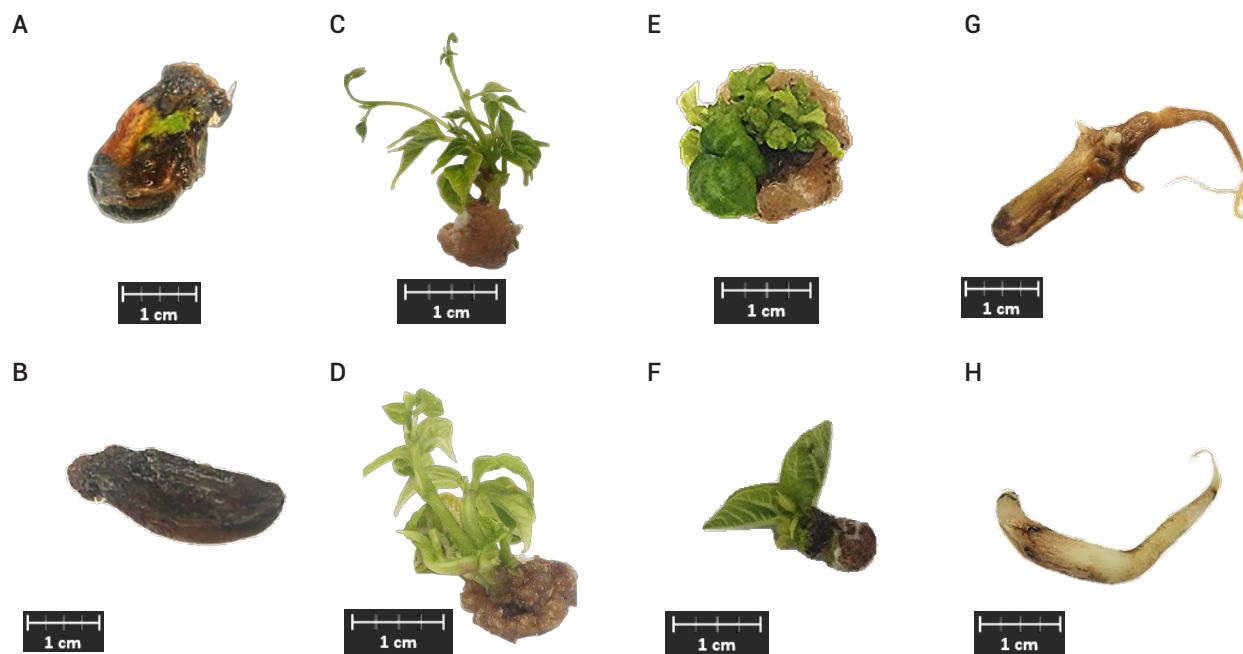


Figura 1. Inducción de brotes de tres variedades de *Phaseolus vulgaris* L. con 72 μ M de 6-benciladenina. A) cotiledón de la variedad Flor de Mayo cultivado en medio B5, B) cotiledón de la variedad Flor de Mayo cultivado en medio MS, C) eje cotiledonar de la variedad Negro Jamapa cultivado en medio B5, D) eje cotiledonar de la variedad Negro Jamapa cultivado en medio MS, E) nudo cotiledonar de la variedad Peruano cultivado en medio B5, F) nudo cotiledonar de la variedad Peruano cultivado en medio MS, G) eje embrionario de la variedad Flor de Mayo cultivado en medio B5, H) eje cotiledonar de la variedad Negro Jamapa cultivado en medio MS, a las tres semanas de cultivo *in vitro*.

valores más altos en cotiledón (98.41 %) y nudo cotiledonar (67.38 %).

En la variedad Peruano para los tipos de medios hubo diferencias significativas en inducción de brotes ($p = 0.02$) y necrosamiento ($p = 0.02$), con la inducción de brotes más alta en el medio MS y la menor cantidad de necrosamiento en el medio B5. El eje cotiledonar y el nudo cotiledonar presentaron el porcentaje de necrosamiento más bajo.

La mayor cantidad de brotes se presentó en el eje cotiledonar y el nudo cotiledonar para las tres variedades (Cuadro 2).

En las tres variedades, ni las concentraciones de BA y TDZ ni su interacción con los tipos de explante afectaron significativamente la inducción de brotes. Flor de Mayo y Negro Jamapa presentaron mayor inducción de brotes en los ejes cotiledonares; en la variedad Peruano no se presentó diferencia significativa. Por otro lado, para las tres variedades el menor necrosamiento se registró en el eje cotiledonar (Cuadro 3).

Los resultados indican que la inducción de brotes no fue significativa cuando se utilizaron cotiledones como explantes, lo cual difiere de lo reportado en otras especies

cercanas como voandzou (*Vigna subterranea*) (Koné *et al.*, 2013), la diferencia con respecto a estos autores puede atribuirse a que en su investigación reportan resultados de organogénesis indirecta. Estos hallazgos pueden estar relacionados con la variabilidad genética y la respuesta diferencial a los reguladores de crecimiento vegetal en los diferentes tipos de explante, como se ha observado en estudios con otras especies vegetales (Song *et al.*, 2021).

Multiplicación de brotes

En Flor de Mayo no hubo diferencias significativas en número de brotes entre tipos de explantes ($p > 0.05$, Cuadro 4), pero sí en longitud, siendo mayor en el eje cotiledonar (0.36 cm). En Negro Jamapa y Peruano se presentó diferencia significativa entre explantes, con el eje cotiledonar con mayor cantidad de brotes y de mayor tamaño.

En las variedades estudiadas BA y TDZ no presentaron diferencias significativas en el número de brotes, pero en Peruano BA aumentó la longitud de los brotes.

En la variedad Flor de Mayo no hubo diferencias significativas en número de brotes ($p > 0.05$), aunque el valor más alto se presentó en eje cotiledonar + 72 μ M TDZ.

Cuadro 2. Evaluación del efecto del tipo de explante en la inducción y necrosamiento de brotes en tres variedades de *Phaseolus vulgaris* L. a tres semanas de cultivo *in vitro*.

Tipo de explante	Brotes (Núm.)	Necrosamiento de brotes (%)
Variedad Flor de Mayo		
Cotiledón	0.03 b	89.17 b
Eje cotiledonar	2.95 a	12.40 a
Eje embrionario	0.00 b	18.48 a
Nudo cotiledonar	3.67 a	6.83 a
Variedad Negro Jamapa		
Cotiledón	0.00 b	98.42 b
Eje cotiledonar	1.35 a	7.71 a
Eje embrionario	0.00 b	8.83 a
Nudo cotiledonar	1.78 a	67.39 b
Variedad Peruano		
Cotiledón	0.84 b	40.32 b
Eje cotiledonar	4.19 a	37.21 a
Eje embrionario	0.00 b	33.86 b
Nudo cotiledonar	3.84 ab	18.00 a

Medias con la misma letra en las columnas son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

Cuadro 3. Efecto del tipo de explante en inducción y necrosamiento de brotes en tres variedades de *Phaseolus vulgaris* L. a las tres semanas de cultivo *in vitro*.

Explante	Brotes (Núm.)	Necrosamiento de brotes (%)
Variedad Flor de Mayo		
Eje cotiledonar	14.86 a	12.61 a
Nudo cotiledonar	8.04 b	21.61 b
Variedad Negro Jamapa		
Eje cotiledonar	3.31 a	13.42 a
Nudo cotiledonar	2.26 b	24.57 b
Variedad Peruano		
Eje cotiledonar	12.09 a	12.02 a
Nudo cotiledonar	11.52 a	15.12 b

Medias con la misma letra en las columnas no son significativamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.5$).

Cuadro 4. Efecto del tipo de explante de tres variedades de *Phaseolus vulgaris* L. en la multiplicación y longitud de brotes a las tres semanas de cultivo *in vitro*.

Explante	Brotes (Núm.)	Longitud de brotes (cm)
Variedad Flor de Mayo		
Eje cotiledonar	20.20 a	0.36 a
Nudo cotiledonar	19.64 a	0.19 b
Variedad Negro Jamapa		
Eje cotiledonar	3.63 a	0.38 a
Nudo cotiledonar	1.78 b	0.28 b
Variedad Peruano		
Eje cotiledonar	20.20 a	0.51 a
Nudo cotiledonar	15.27 b	0.35 b

Medias con la misma letra en las columnas en las columnas no son significativamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.5$).

La mayor longitud se observó con BA 54 μM y TDZ 90 μM en eje cotiledonar, y BA 90 μM en nudo cotiledonar (Cuadro 5).

La variedad Peruano presento valores significativos que concordaron con lo reportado por Kwapata *et al.* (2010), quienes mencionaron que el medio más eficiente tuvo 2.5 mg L⁻¹ BA, generando 20 brotes en promedio por explantes, mientras que el de 2.5 mg L⁻¹ TDZ proporcionó una respuesta significativamente menor. Estos resultados también coinciden con los de Zarinjoei *et al.* (2014), quienes describieron que para la multiplicación de brotes de *Gleditsia caspica*, el tratamiento más efectivo consistió en un medio MS suplementado con BA 4.4 μM .

Se observó que tanto el tipo de explante como la

concentración de los reguladores de crecimiento influyeron significativamente en la longitud de los brotes. Estos resultados se asemejan con los de Oros *et al.* (2024), quienes en *Passiflora* evaluaron cuatro tipos de explantes (segmento internodal, fragmento foliar, sépalos y receptáculo floral) con distintas combinaciones de reguladores de crecimiento vegetal 2,4-D (2 mg L⁻¹), BA (0.5 y 1 mg L⁻¹) y Kin (0.5 y 1 mg L⁻¹).

Alargamiento de brotes

En Flor de Mayo no hubo diferencias significativas en longitud de brotes entre concentraciones de sales MS, pero sí en necrosamiento ($p = 0.04$), siendo menor con 100 % de sales inorgánicas (28.87 %) (Cuadro 6).

Cuadro 5. Efecto de la interacción entre tipo de explante y 6-benciladenina (BA) o tidiazurón (TDZ) en la multiplicación y longitud de brotes de *Phaseolus vulgaris* L. variedad Flor de Mayo a las tres semanas de cultivo *in vitro*.

Tipo de explante	Concentración (µM)		Brotos (Núm.)	Longitud de brote (cm)
	BA	TDZ		
Eje cotiledonar	54	-	20.89 a	0.42 a
	72	-	20.29 a	0.31 abc
	90	-	19.14 a	0.33 abc
	-	54	20.00 a	0.29 abc
	-	72	23.14 a	0.37 ab
	-	90	17.88 a	0.40 a
	-	-	-	-
Nudo cotiledonar	54	-	22.14 a	0.23 abc
	72	-	22.33 a	0.16 bc
	90	-	14.60 a	0.46 a
	-	54	16.56 a	0.13 bc
	-	72	19.80 a	0.12 c
	-	90	21.00 a	0.19 abc
	-	-	-	-

Medias con la misma letra en las columnas no son significativamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.5$).

Cuadro 6. Efecto de la concentración de sales inorgánicas del medio de Murashige y Skoog (1962) en el alargamiento y necrosamiento de brotes en tres variedades de *Phaseolus vulgaris* L. a las tres semanas de cultivo *in vitro*.

Medio MS (Sales inorgánicas, %)	Longitud de brotes (cm)	Necrosamiento de brotes (%)
Variedad Flor de Mayo		
50	0.28 a	32.06 b
100	0.29 a	28.87 a
Variedad Negro Jamapa		
50	0.26 b	59.53 b
100	0.46 a	39.44 a
Variedad Peruano		
50	0.34 b	45.18 a
100	0.47 a	40.95 a

Medias con la misma letra en las columnas no son significativamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.5$).

En Negro Jamapa las concentraciones de sales inorgánicas MS influyeron en la longitud promedio de brotes ($p \leq 0.05$), siendo mayor con 100 % de sales minerales (0.46 cm). El necrosamiento no fue significativo (Cuadro 6).

En la variedad Peruano las concentraciones de sales inorgánicas MS afectaron significativamente la longitud de brotes ($p = 0.03$), siendo mayor el 100 % de sales MS, con una longitud promedio de 0.43 cm. El necrosamiento no fue significativo (Cuadro 6).

Los resultados obtenidos en esta investigación coinciden con los de Varisai *et al.* (2006) y Zarinjoei *et al.* (2014), los cuales utilizaron una concentración de sales del 100 % en el alargamiento de brotes de *P. vulgaris* L.

CONCLUSIONES

La desinfección y cultivo *in vitro* de semillas de *Phaseolus vulgaris* L. reveló que el hipoclorito de sodio (NaOCl) es un agente efectivo para la desinfección, con concentraciones óptimas de 30 % en la variedad Flor

de Mayo y 20 % en Negro Jamapa y Peruano. El uso de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) no aportó beneficios en la germinación bajo las condiciones evaluadas. Se constató que la viabilidad de las semillas de las tres variedades permaneció alta en cultivo *in vitro*, mostrando un desarrollo exitoso en el medio Murashige y Skoog (MS), tanto al 50 como al 100 % de concentración de sales inorgánicas; además, estas variedades evidenciaron una significativa capacidad morfogénica para organogénesis directa en explantes de nudo cotiledonar y eje cotiledonar. La respuesta a reguladores de crecimiento vegetal como 6-benciladenina (BA), tidiazurón (TDZ) y BA combinado con ácido 1-naftalenacético (ANA) fue similar en todas ellas. La concentración de 4.2 µM de ácido giberélico (AG₃) propició el mayor alargamiento de brotes, aunque su eficacia varió entre las variedades. Asimismo, el medio MS al 100 % favoreció un crecimiento mayor de los brotes y redujo el necrosamiento en comparación con el medio al 50 %. En términos morfogénicos, Flor de Mayo y Peruano demostraron mejor rendimiento en la inducción, multiplicación y elongación de brotes que Negro Jamapa. Finalmente, se evidenció la recalcitrancia de *P. vulgaris* L., y las diferencias significativas entre las variedades en condiciones *in vitro* sugieren la necesidad de desarrollar protocolos específicos para cada una de ellas.

AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo por el uso de las instalaciones.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbas A., A. Rehman and M. Javed (2021) Exploring the potential of *in vitro* tissue culture in breeding programs of legume and pulse crops: utilization and present condition. *Bulletin of Biological and Allied Sciences Research* 6:36, <https://doi.org/10.54112/bbasr.v2021i1.36>
- Aguilar-Rito M. G., A. M. Arzate-Fernández, H. G. García-Núñez y T. H. Norman M. (2024) Establecimiento de un protocolo eficiente de desinfección *in vitro* en semillas de siete especies de *Agave* spp. *Revista Mexicana de Fitopatología* 42:5, <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2310-1>
- Alcázar-Valle M. M., S. García-Morales, L. Mojica, N. Morales-Hernández, E. Sánchez-Osorio, L. Flores-López, ... and E. Lugo-Cervantes (2021) Nutritional, antinutritional compounds and nutraceutical significance of native bean species (*Phaseolus* spp.) of Mexican cultivars. *Agriculture* 11:1031, <https://doi.org/10.3390/agriculture11111031>
- Fonseca H. D., L. Mojica, M. A. Berhow, K. Brownstein, E. Lugo C. and E. Gonzalez M. (2023) Black and pinto beans (*Phaseolus vulgaris* L.) unique Mexican varieties exhibit antioxidant and anti-inflammatory potential. *Food Research International* 169:112816, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112816>
- Gamborg O. L., R. A. Miller and K. Ojima (1968) Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research* 50:151-158, [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(68\)90403-5](https://doi.org/10.1016/0014-4827(68)90403-5)
- Gatti I., F. Guindón, C. Bermejo, A. Espósito and E. Cointry (2016) *In vitro* tissue culture in breeding programs of leguminous pulses: use and current status. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 127:543-559, <https://doi.org/10.1007/S11240-016-1082-6>
- Haliöglu K., A. Türkoğlu, Ö. Balpınar, H. İ. Öztürk, G. Özkan and P. Poczai (2023) Effects of mammalian sex hormones on *in vitro* organogenesis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Scientific Reports* 13:3337, <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30090-4>
- Koné M., T. Koné, H. T. Kouakou, S. Konaté and J. S. Ochat (2013) Plant regeneration via direct shoot organogenesis from cotyledon explants of Bambara groundnut, *Vigna subterranea* (L.) Verdc. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 17:584-592.
- Kwapata K., R. Sabzikar, M. B. Sticklen and J. D. Kelly (2010) *In vitro* regeneration and morphogenesis studies in common bean. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 100:97-105, <https://doi.org/10.1007/S11240-009-9624-9>
- Murashige T. and F. Skoog (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-497, <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Oros P., M. Cantor and C. Cătană (2024) The effect of explant type and growth regulators on callus induction in *Passiflora quadrangularis*. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture* 81:62-69.
- Pinzón-Sandoval E. H., W. C. Silva, W. and P. E. R. Marchiori (2024) Phenology, mass accumulation patterns and growing degree days in common bean. *Revista de Ciencias Agrícolas* 41:e3239, <https://doi.org/10.22267/rcia.20244103.239>
- Ramírez-Jaramillo G., M. G. Lozano-Contreras and J. H. Ramírez-Silva (2023) Agroclimatic suitability of *Phaseolus vulgaris* L., in the Yucatan Peninsula of Mexico. *Open Access Library Journal* 10:e10996, <https://doi.org/10.4236/oalib.1110996>
- Rincón-Rosales R., N. R. Culebro-Espinosa, F. A. Gutierrez-Micelli and L. Dendooven (2003) Scarification of seeds of *Acacia angustissima* (Mill.) Kuntze and its effect on germination. *Seed Science and Technology* 31:301-307, <https://doi.org/10.15258/sst.2003.31.2.07>
- Romero-Arenas O, M. A. Damián H., J. A. Rivera T., A. Báez S., M. Huerta L. and E. Cabrera H. (2013) The nutritional value of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and its importance for feeding of rural communities in Puebla-Mexico. *International Research Journal of Biological Sciences* 2:59-65.
- Salazar-Mercado S. A., C. A. Torres-León and J. P. Rojas-Suárez (2019) Cytotoxic evaluation of sodium hypochlorite, using *Pisum sativum* L as effective bioindicator. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 173:71-76, <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.027>
- Soltani A., S. M. Weraduwege, T. D. Sharkey and D. B. Lowry (2019) Elevated temperatures cause loss of seed set in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) potentially through the disruption of source-sink relationships. *BMC Genomics* 20:312, <https://doi.org/10.1186/S12864-019-5669-2>
- Song H., W. Mao, Y. Shang, W. Zhou, P. Li and X. Chen (2021) A regeneration system using cotyledons and cotyledonary node explants of *Toona ciliata*. *Journal of Forestry Research* 32:967-974, <https://doi.org/10.1007/S11676-020-01189-5>
- Tapia G., J. Méndez, L. Inostroza and C. Lozano (2022) Water shortage affects vegetative and reproductive stages of common bean (*Phaseolus vulgaris*) Chilean landraces, differentially impacting grain yield components. *Plants* 11:749, <https://doi.org/10.3390/plants11060749>
- Varisai M. S., J. M. Sung, T. Jeng and C. S. Wang (2006) Organogenesis of *Phaseolus angularis* L.: high efficiency of adventitious shoot regeneration from etiolated seedlings in the presence of N₆-benzylaminopurine and thidiazuron. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 86:187-199, <https://doi.org/10.1007/s11240-006-9107-1>
- Veiga J. B., M. T. F. Piedade, A. C. Franco, G. S. Costa G. and C. S. Ferreira (2024) Prolonged seed submersion influences germination and early seedling growth of Amazonian floodplain trees. *Seed Science Research* 34:129-136, <https://doi.org/10.1017/S0960258524000138>
- Zarinjoei F., M. S. Rahmani and N. Shabanian (2014) *In vitro* plant regeneration from cotyledon-derived callus cultures of leguminous tree *Gleditsia caspica* Desf. *New Forests* 45:829-841, <https://doi.org/10.1007/s11056-014-9440-x>