

## Respuesta *in vitro* de epicótilos de *Phaseolus vulgaris* L. frente a Geneticina G-418 para la transformación genética

Dionys González-Hernández<sup>1,2</sup>, Novisel Veitía<sup>1\*</sup>, Luis Rojas<sup>1</sup>, Bárbara Ocaña<sup>1</sup>, Damaris Torres<sup>1</sup>, Leonardo Rivero<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5,5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5,5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP 54 830.

### RESUMEN

El establecimiento de un esquema de selección es uno de los pasos críticos en los protocolos de transformación genética. El objetivo de este trabajo fue determinar la respuesta de epicótilos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) frente al antibiótico Geneticina G-418 para su empleo como agente selectivo en la transformación genética. Se evaluaron dos tipos de explantes: epicótilos con cuatro y 10 días de germinada la semilla (dgs). Ambos fueron expuestos a diferentes concentraciones del agente selectivo (10, 20, 30, 40 y 50 mg l<sup>-1</sup>) y un control sin antibiotico. Los epicótilos de cuatro dgs fueron afectados en todas las concentraciones evaluadas. La exposición al antibiótico provocó clorosis en los explantes. Se observó mortalidad en todos los explantes en presencia de 40 y 50 mg l<sup>-1</sup>. Sin embargo, los explantes de 10 dgs mostraron afectaciones menores y porcentajes de supervivencia en todas las concentraciones evaluadas. Los porcentajes de mortalidad en las concentraciones de 40 y 50 mg l<sup>-1</sup> fueron inferiores al 40%. Se seleccionaron los epicótilos de semillas germinadas a los cuatro días (4 dgs) como explante inicial para la transformación genética mediante *Agrobacterium tumefaciens*.

**Palabra clave:** antibiótico, cultivo *in vitro*, explantes, frijol común, selección

### *In vitro* response of *Phaseolus vulgaris* L. epicotyls against Geneticin G-418 for genetic transformation

### ABSTRACT

The selection scheme establishment is one of the most critical steps inside any genetic transformation protocol. The aim of this work was to determinate the response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) epicotyls versus the antibiotic Geneticine G-418, in order to use it as selective agent in genetic transformation. Two types of explants were evaluated: four and 10 days germinated seeds epicotyls. They were both exposed to different selective agent concentrations (10, 20, 30, 40 y 50 mg l<sup>-1</sup>) and a control without antibiotics. Four days epicotyls were affected by all the evaluated concentrations. Antibiotic exposure caused explant chlorosis. The mortality rates using the 40 and 50 mg l<sup>-1</sup> concentration were complete. However, 10 days explants show just minor affectation and high to maximum survival percentages. The mortality rates using the 40 and 50 mg l<sup>-1</sup> concentration were less than 40%. The four days germinated seeds epicotyls were selected as initial explant for genetic transformation via *Agrobacterium tumefaciens*.

#### Editora:

Yelenys Alvarado-Capó  
Instituto de  
Biotecnología de las  
Plantas, Universidad  
Central Marta Abreu de  
Las Villas.

#### \*Correspondencia:

e-mail:  
novisel@ibp.co.cu

**Recibido:** 15-01-2023

**Aceptado:** 05-03-2023

Este es un artículo de  
acceso abierto  
distribuido bajo una  
Licencia Creative  
Commons Atribución-  
NoComercial 4.0  
Internacional (CC BY-NC  
4.0)  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/> Está permitido  
su uso, distribución o  
reproducción citando la  
fuente original y los  
autores.

**Keywords:** antibiotic, common bean, explants, *in vitro* culture, selection

## INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las leguminosas más difundidas en el mundo, y representa una de las mayores fuentes calórico-proteica (Espinoza-García *et al.*, 2016). Este cultivo se ha visto afectado progresivamente por la incidencia de plagas, enfermedades, condiciones edafoclimáticas adversas y competencia de otras plantas (González *et al.*, 2011; López-Sánchez *et al.*, 2018).

Entre las herramientas biotecnológicas utilizadas por los programas de mejoramiento genético para sobreponerse a los problemas del cultivo se destaca la transformación genética, que posibilita la integración de genes de interés en genomas diana (Gatica-Arias *et al.*, 2010). Sin embargo, la regeneración *in vitro* de frijol común se considera a menudo difícil, lo que impacta negativamente en los resultados de la transformación genética. La estrategia más ventajosa para la regeneración de plantas en protocolos de transformación genética de esta especie ha resultado la organogénesis, tanto directa como indirecta (Collado *et al.*, 2016). Ambos sistemas presentan aún problemas específicos como la baja frecuencia de regeneración de plantas y la formación de estructuras de origen pluricelular, lo que deriva en la aparición de quimeras, cuando se emplea dicho sistema en un esquema de transformación genética (Kelly, 2013; Tormos-Bou, 2021).

El tipo de explante y los tejidos que contengan son importantes, tanto para la regeneración de plantas, como para el proceso de infección en la transformación genética mediada por *Agrobacterium tumefaciens* (Smith & Townsend) Conn. Por lo tanto, la selección de estos dependerá de la susceptibilidad que muestren los tejidos a la infección y del protocolo de regeneración establecido para dicho cultivo (Mukeshimana *et al.*, 2013). Además de estas características, resulta también decisivo el equilibrio intrínseco que presenten dichos explantes en relación con los reguladores de crecimiento (auxinas/citoquininas), pues influirá en su capacidad recuperativa y regenerativa (Prakash *et al.*, 2007).

Para la regeneración de plantas de *P. vulgaris*, se han empleado diferentes explantes: ápices, secciones de tallo, de epicótilo y de hipocótilo, yemas axilares, ejes embrionarios, callos, nudos cotiledonales, hojas y peciolo (Castillo *et al.*, 2015; Collado *et al.*, 2016; Hnatuszko-Konka *et al.*, 2019; Yu *et al.*, 2021). Al respecto, autores como Hnatuszko-Konka *et al.* (2019) refirieron que los epicótilos mostraron una superioridad indiscutible en la regeneración sobre los hipocótilos.

El establecimiento de un esquema de selección es uno de los pasos críticos en cualquier protocolo de transformación genética para evitar escapes o quimeras y asegurar la efectividad del proceso. Uno de los mecanismos más utilizados para este proceso, por su efectividad y rapidez, es el empleo de marcadores de selección, genes incorporados al casete de transformación que confieren resistencia a antibióticos o herbicidas. Esto permite seleccionar rápidamente, por simple mortalidad, los explantes transformados (Bermúdez-Carabaloso *et al.*, 2007; Sriprya *et al.*, 2008; Rastogi *et al.*, 2018). Entre los antibióticos empleados para la selección de explantes transformados de frijol común está la

geneticina (Bermúdez-Carabaloso *et al.*, 2007; Mukeshimana *et al.*, 2013). Atendiendo a que se requiere conocer primero la respuesta del explante al marcador de selección, el objetivo de este trabajo fue determinar la respuesta *in vitro* de epicótilos de frijol común, de semillas germinadas *in vitro*, frente a Geneticina G-418 para su empleo en la transformación genética.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Material vegetal*

Como material vegetal se emplearon semillas maduras de *P. vulgaris* cultivar BAT-93, obtenidas de plantas procedentes del banco de germoplasma del Instituto de Biotecnología de las Plantas. Las semillas se cosecharon en condiciones de casa de cultivo protegido y fueron almacenadas por tres meses luego de la cosecha.

### *Desinfección y germinación de semillas*

Para la desinfección de las semillas, primero se sumergieron en una solución de agua común y detergente, a la que se le adicionaron cinco gotas del agente tensoactivo Tween-20 y se mantuvieron en agitación por 20 minutos. Luego, fueron enjuagadas con agua corriente y se sumergieron en etanol 70<sup>2</sup>/<sub>2</sub> (v/v) por 20 segundos. Posteriormente, se transfirieron a una solución de Hipoclorito de Sodio (NaOCl) al 3% (v/v) con 20 gotas de Tween-20 y se mantuvieron en agitación por otros 20 minutos. Finalmente, dentro de una cabina de flujo laminar, en condiciones de asepsia, se realizaron tres enjuagues con agua desionizada estéril.

Para la germinación, se colocaron 10 semillas por frasco de cultivo de polipropileno de 500 ml con 30 ml del medio de cultivo de germinación que contenía sales MS (Murashige y Skoog, 1962), 1.0 mg l<sup>-1</sup> de tiamina, 1.13 mg l<sup>-1</sup> de 6-bencilaminopurina (6-BAP), 30 g l<sup>-1</sup> de sacarosa y 6.0 g l<sup>-1</sup> de agar. Estas fueron mantenidas en oscuridad total a 27 ± 2 °C, por un período de cuatro días. Pasado este tiempo, los explantes se colocaron en cámara de crecimiento de luz solar hasta alcanzar los 10 días de germinados.

### *Preparación de los explantes*

Se emplearon dos materiales vegetales diferentes: semillas con cuatro días de germinadas, transferidas directamente de la oscuridad y otras tras 10 días de germinadas en cámara de crecimiento de luz solar. Al material vegetal correspondiente a los cuatro días de germinadas las semillas (dgs), se le removió la testa adherida a los cotiledones y se extrajo el epicótilo completo, justo por encima del nudo cotiledonal (Figura 1 A). En el caso del material vegetal con 10 dgs (Figura 1 B), se extrajeron de los segmentos apicales de los epicótilos.

## **Respuesta *in vitro* de epicótilos de frijol común frente a Geneticina G-418**

Los explantes se colocaron en placas de vidrio con 10 ml del medio de cultivo que contenía sales MS, vitaminas B5, 0.1 mg l<sup>-1</sup> de ácido naftalenacético (ANA),

4.5 mg l<sup>-1</sup> de 6-BAP, 30 g l<sup>-1</sup> de sacarosa y 6.0 g l<sup>-1</sup> de agar con diferentes concentraciones de Geneticina G-418: 10, 20, 30, 40 y 50 mg l<sup>-1</sup>. Se incluyó un control sin antibiótico. A los 15 días de cultivo, se describieron las características de los explantes, se cuantificó el número de explantes cloróticos y se calculó el porcentaje de mortalidad. Se realizaron tres réplicas por tratamiento. Se seleccionó el explante donde se constataron los mayores efectos del antibiótico según la variable evaluada.



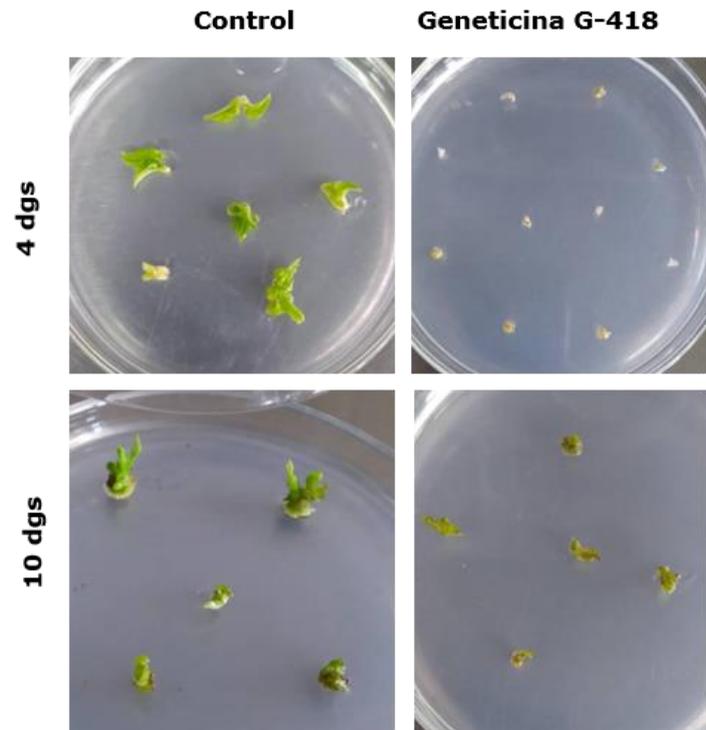
**Figura 1.** Explantes tomados a partir de semillas germinadas *in vitro* de *Phaseolus vulgaris* cv. BAT-93. (A) cuatro días y (B) 10 días de germinadas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto de la geneticina sobre los explantes se manifestó a través de clorosis del tejido vegetal y la inhibición del crecimiento sin la formación de nuevas hojas. Se consideraron explantes vivos aquellos que presentaron color verde y crecimiento activo con formación de nuevas estructuras.

Los epicótilos de 4 dgs fueron afectados en los tratamientos con todas las concentraciones de Geneticina G-418 que se emplearon en el estudio. Los explantes se caracterizaron por presentar una coloración blanca y no mostraron hojas nuevas durante los 15 días de cultivo en medio de cultivo selectivo (Figura 2). Mientras, los controles mantuvieron una coloración verde y se observó la formación de hojas (Figura 2). Con las concentraciones de 20 y 30 mg l<sup>-1</sup>, en los explantes de 4 dgs, se alcanzaron porcentajes de mortalidad entre el 80 y 90%. Con las concentraciones superiores todos los epicótilos murieron (Figura 3).

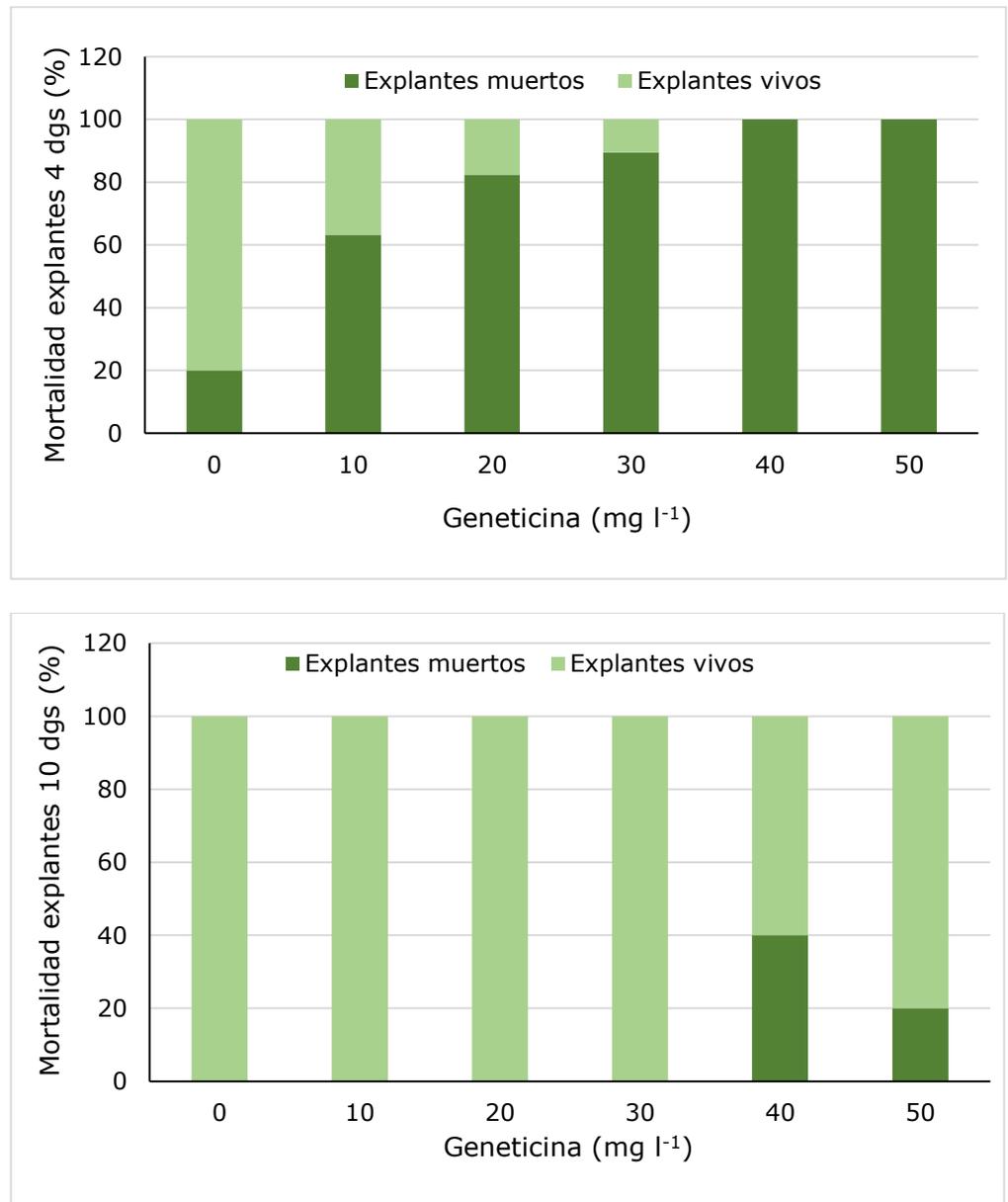
Al contrario, en los epicótilos de 10 dgs mostraron explantes vivos en los tratamientos con todas las concentraciones evaluadas y solo evidenciaron afectaciones menores en los explantes y porcentajes de mortalidad inferiores al 40% en las concentraciones de 40 y 50 mg l<sup>-1</sup> (Figura 2, Figura 3).



**Figura 2.** Epicótilos de semillas de *Phaseolus vulgaris* L. cv. BAT-93 germinadas *in vitro* cultivados en medio de cultivo con  $40 \text{ mg l}^{-1}$  de Geneticina G-418.

Esta respuesta de inducción de clorosis en los explantes, ha sido referida como una de las principales ventajas del empleo de Geneticina para identificar explantes no transformados (Choudhury y Rajam, 2021). Sin embargo, el empleo del antibiótico Geneticina como agente de selección en esquemas de transformación genética, según refiere la literatura científica, arroja resultados variables. Por ejemplo, Parrott *et al.* (1989) emplearon geneticina como agente de selección en un esquema de transformación de cotiledones inmaduros de soya (*Glycine max* L. Merr), y lograron obtener células transformadas viables. Kadir *et al.* (2007) evaluaron cuatro antibióticos y un herbicida como agentes selectivos en la transformación de embriones inmaduros de palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq), pero la Geneticina, aunque efectiva, requirió de concentraciones muy elevadas en comparación con los demás tratamientos. En este estudio con  $40 \text{ mg l}^{-1}$  ya se observó mortalidad en el 100% de los explantes obtenidos de semillas germinadas durante cuatro días en la oscuridad.

Por otra parte, autores como Chong-Pérez *et al.* (2008) determinaron la concentración mínima inhibitoria (CMI) de Geneticina durante la formación de callos de *Digitalis purpurea* L. Sin embargo, la presencia de escapes en dicho sistema condujo a que trabajos posteriores, como el de Kairúz *et al.* (2013) emplearan el antibiótico Higromicina B como agente selectivo para dicha especie. Franco-Arango (2019), por su parte, logró utilizar Geneticina satisfactoriamente para seleccionar tejido positivamente editado mediante el sistema CRISPR/Cas en caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.). Estos hallazgos experimentales confirman la necesidad de evaluar la respuesta de los explantes al antibiótico en los sistemas de selección que se establezcan.



**Figura 3.** Respuesta de epicótilos de *Phaseolus vulgaris* L. con cuatro días (4 dgs) y 10 días (10 dgs) de germinación de las semillas frente a distintas concentraciones del antibiótico Geneticina G-418 en el medio de cultivo.

Los resultados de este trabajo contribuirán al desarrollo de las investigaciones de mejoramiento genético en frijol común que se llevan a cabo en el Instituto de Biotecnología de las Plantas. Previamente, la geneticina se empleó por Bermúdez-Caraballosa *et al.* (2007) e Iglesias-Rodríguez (2022), el cultivo de callos organogénicos de *P. vulgaris*. En el primer caso, el esquema de selección no fue del todo efectivo y llevó a ese mismo grupo de trabajo a emplear en su lugar, glufosinato de amonio (Bermúdez-Caraballosa *et al.*, 2012). Mientras, en

el segundo caso, la selección fue satisfactoria, con niveles similares al empleo del propio glufosinato de amonio, también evaluado en dicho estudio. Sin embargo, en epicótilos obtenidos de semillas germinadas *in vitro* no se había ensayado.

Para la transformación genética de plantas leguminosas se han empleado varios tipos de explantes, con valores variables de expresión y de supervivencia. Algunos, como las hojas, destacan por presentar alta susceptibilidad a la infección por *A. tumefaciens*, y facilitan el proceso, pero carecen de un sistema de regeneración viable (Mukeshimana *et al.*, 2013; Hnatuszko-Konka *et al.*, 2014). Sin embargo, aquellos explantes que contienen tejidos meristemáticos, como el nudo cotiledonal o los ejes embrionarios, se mantienen con la mejor respuesta regenerativa y con una alta tasa de expresión (Song *et al.*, 2020). En el caso de epicótilos, utilizados por diferentes autores (Collado *et al.*, 2016), Hnatuszko-Konka *et al.* (2019) corroboraron que el potencial de regeneración estaba fuertemente relacionado con el tipo de explante y recomendamos su uso después de haber investigado seis cultivares de frijol común y cuatro variantes de dos medios de cultivo basales. Estos resultados previos y la respuesta frente a Geneticina en esta investigación abren nuevas oportunidades de su uso en la transformación genética de frijol común.

Partiendo del hecho demostrado por Veltcheva y Svetleva (2005) de que la edad del explante juega un papel fundamental en la pérdida del potencial regenerativo de las células y a la vez en el incremento de su resistencia fisiológica, en los últimos años se desarrollaron varios protocolos de regeneración vía organogénesis directa de esta especie. Estos destacan por los niveles de regeneración y proliferación de brotes alcanzados. Por ejemplo, Thi *et al.* (2013) emplearon nudos cotiledonales de brotes con siete días de germinación. Además, Castillo *et al.* (2015) utilizaron ejes embrionarios con solo un día de germinados y Hnatuszko-Konka *et al.* (2019), por su parte, usaron secciones de hipocótilos y epicótilos, también de siete días tras la germinación. Sin embargo, Yu *et al.* (2021) estudiaron nudos cotiledonales con uno y ambos cotiledones, ejes embrionarios y segmentos de raíces, todo con cinco días de germinación. La respuesta diferente de los explantes obtenidos de semillas de 4 y 10 días de germinadas en oscuridad y luz corroboran que la edad del explante es muy importante.

## CONCLUSIONES

Epicótilos de frijol común tomados a partir de semillas germinadas *in vitro* en diferentes tiempos, muestran una respuesta diferente frente al agente selectivo Geneticina G-418. Epicótilos de semillas germinadas a los cuatro días pueden emplearse como explante inicial para la transformación genética, mediante *A. tumefaciens*.

## REFERENCIAS

Bermúdez-Caraballosa I, Collado R, García LR, Veitía N (2012) Determinación de la concentración mínima inhibitoria de Glufosinato de amonio en callos organogénicos de *Phaseolus vulgaris* L. cv. 'CIAP 72-47F'. Biotecnología Vegetal 12(4): 203-210

Bermúdez-Carabaloso I, Collado R, García LR, Veitía N, Torres D, Romero C, Angenon G (2007) Empleo de los agentes selectivos Geneticina G-418 e Higromicina B para la transformación genética en *Phaseolus vulgaris* variedad CIAP 72-47. *Biotecnología Vegetal* 7(4): 205-210

Castillo B, Gallardo J, Iturriaga G (2015) *In vitro* Plants of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) obtained by Direct Organogenesis. *Journal of Agricultural Science* 7(11): 169-179; doi: 10.5539/jas.v7n11p169

Chong-Pérez B, Pérez-Alonso N, Águila ZO, Capote A, Pérez A (2008) Determinación de la concentración mínima inhibitoria de Geneticina G418 en el proceso de formación de callos de *Digitalis purpurea* L. *Biotecnología Vegetal* 8(2): 115-118

Choudhury A, Rajam MV (2021) Genetic transformation of legumes: an update. *Plant Cell Reports* 40(10):1813-1830; doi: 10.1007/s00299-021-02749-7

Collado R, García L, Bermúdez I, Veitía N, Torres D (2016) *Phaseolus vulgaris* L. regeneration systems and their application for *Agrobacterium*-mediated genetic transformation. *Biotecnología Aplicada* 33: 2521-2523

Espinoza-García N, Martínez-Martínez R, Chávez-Servia JL, Vera-Guzmán AM, Carrillo-Rodríguez JC, Heredia-García E, Velasco-Velasco VA (2016) Contenido de minerales en semillas de poblaciones nativas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Fitotecnia Mexicana* 39(3): 215-223

Franco Arango CM (2019) Edición genética de la variedad de caña UFCP 82-1655 para inactivar el GEN BU1 y modificar la función del gen ALS mediante CRISPR/CAS9. Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia, Colombia

Gatica-Arias AM, Muñoz-Valverde J, Ramírez-Fonseca P, Valdez-Melara M (2010) *In vitro* plant regeneration system for common bean (*Phaseolus vulgaris*): effect of N6-benzylaminopurine and adenine sulphate. *Electronic journal of Biotechnology* 13(1): 6-7

González YR, Sous JRG, Ruíz RE, Ferrer EM, Caturla CA (2011) Afectaciones directas producidas por el complejo de chinches (Hemiptera: Pentatomidae) en granos de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y determinación de *Nematospora* sp. *Fitosanidad* 15(3): 179-183

Hnatuszko-Konka K, Kowalczyk T, Gerszberg A (2014) *Phaseolus vulgaris* - Recalcitrant potential *Phaseolus vulgaris* - Recalcitrant potential. *Biotechnology Advances* 32(7): 1205-1215; doi: 10.1016/j.biotechadv.2014.06.001

Hnatuszko-Konka K, Kowalczyk T, Gerszberg A, Glińska S, Grzegorzczak-Karolak I (2019) Regeneration of *Phaseolus vulgaris* from epicotyls and hypocotyls via direct organogenesis. *Scientific Reports* 9(1): 6248; doi: 10.1038/s41598-019-42723-8

Iglesias-Rodríguez D, Ruiz de Leon L, Torres-Rodríguez D, Collado-López R (2022) Regeneración de brotes de tejido transformado de *Phaseolus vulgaris* cultivares 'Ica pijao' y 'Bat 93'. *Acta Biológica Colombiana* 27(2): 240-248

Kadir G, Parveez A, Majid A, Zainal A, Rasid OA (2007) Determination of minimal inhibitory concentration of selection agents for selecting transformed immature embryos of oil palm. *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology* 15(3): 133-146

Kairúz E, Pérez-Alonso N, Capote A, Pérez A (2013) Concentración mínima letal de higromicina B en la formación de callos y multiplicación de brotes de *Digitalis purpurea* L. *Biotecnología Vegetal* 13(1): 23-31

Kelly JD (2013) Factors influencing regeneration and *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of common bean *Phaseolus vulgaris* L. Factors influencing regeneration and *Agrobacterium tumefaciens* - mediated transformation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Biotechnology Reports* 7: 59-70; doi: 10.1007/s11816-012-0237-0

López-Sánchez RC, Gómez-Padilla E, Campos-Posada R, Eichler-Löbermann B, Rodríguez-Larramendi, LA, Guevara-Hernández F, Gongora-Mora G (2018) Afectaciones en el rendimiento de líneas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) provocado por salinidad. *Cultivos Tropicales* 39(1): 74-80

Mukeshimana G, Ma Y, Walworth AE, Song G, Kelly JD (2013) Factors influencing regeneration and *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Biotechnology Reports* 7(1): 59-70

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497

Parrott W, Hoffman L, Hildebrand D, Williams E, Collins G (1989) Recovery of primary transformants of soybean. *Plant Cell Reports* 7: 615-617

Prakash DP, Deepali BS, Asokan R, Ramachandra YL, Anand L, Hanur VS (2007) Effects of growth regulators and explant-type on *Agrobacterium*-mediated transformation in brinjal (*Solanum melongena* L.) cv. Manjarigota. *Journal of Horticultural Sciences* 2(2): 94-98

Rastogi J, Bubber P, Singh RK, Singh RB (2018) Determination of minimal inhibitory concentration of kanamycin as selective agents and marker genes for use in *Agrobacterium* mediated transformation in sugarcane. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 7(6): 1861-1864

Song G-q, Han X, Wiersma AT, Zong X, Awale HE, Kelly JD (2020) Induction of competent cells for *Agrobacterium tumefaciens*-mediated stable transformation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *PLoS ONE* 15(3): e0229909; doi: 10.1371/journal.pone.0229909

Sripriya R, Raghupathy V, Veluthambi K (2008) Generation of selectable marker-free sheath blight resistant transgenic rice plants by efficient co-transformation of a cointegrate vector T-DNA and a binary vector T-DNA in one *Agrobacterium tumefaciens* strain. *Plant Cell Reports* 27(10): 1635-1644

Thi N, Hassan F, Jacobsen HJ (2013) *In vitro* propagation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J Sci & Devel 11(6): 868-876

Tormos-Bou M (2021) Regeneración de plantas de *Phaseolus vulgaris* L. mediante cultivo *in vitro*. Trabajo final de grado, Universitat Politècnica De València, España

Veltcheva M, Svetleva D (2005) *In vitro* regeneration of *Phaseolus vulgaris* L. via organogenesis from petiole explants. J Cent Eur Agric 6: 53-58

Yu Y, Liu D, Liu C, Yan Z, Yang X, Feng G (2021) *In vitro* regeneration of *Phaseolus vulgaris* L. via direct and indirect organogenesis. Plant Biotechnology Reports 15(3): 279-288; doi: 10.1007/s11816-021-00681-6

**Financiamiento:** Este trabajo fue financiado a través del proyecto: Mejoramiento genético de *Phaseolus vulgaris* L. para la búsqueda de resistencia a estrés biótico y abiótico (código P131LH001.30), del Programa Nacional Producción de Alimentos y su Agroindustria. Los financistas no tuvieron participación en el diseño del estudio, la colecta y análisis de los datos. La decisión de publicar y la preparación del manuscrito fueron de las instituciones participantes y el colectivo de autores del proyecto.

**Conflicto de interés:** Los autores no declaran conflictos de intereses.

**Contribución de los autores:** Conceptualización NV, DGH, Análisis formal NV, DGH, Investigación NV, DGH, LR, BO, DT, LR, Metodología NV, DGH, Escritura: primera redacción DGH NV, Escritura: revisión y edición DGH NV.

**Disponibilidad de datos:** Los datos del estudio se presentan en el artículo. Para otras consultas dirigirse a la autora para correspondencia.

Dionys González-Hernández, <https://orcid.org/0000-0003-0938-7590>

Novisel Veitía, <https://orcid.org/0000-0001-6357-4843>

Luis E. Rojas, <https://orcid.org/0000-0002-0107-1842>

Bárbara Ocaña, <https://orcid.org/0000-0003-0722-3736>

Damaris Torres, <https://orcid.org/0000-0001-8443-4209>

Leonardo Rivero, <https://orcid.org/0000-0003-3627-9421>

**Cómo citar:**

González-Hernández D, Veitía N, Rojas L, Ocaña B, Torres D, Rivero L (2023) Respuesta *in vitro* de epicótilos de *Phaseolus vulgaris* L. frente a Geneticina G-418 para la transformación genética. Biotecnología Vegetal 23: 230410