



MEJORAMIENTO GENÉTICO EN PASTO JANEIRO (*Eriochloa polystachya*)



Autores:

DR. Juan Carlos Gómez Villalva. Ph.D.
DR. Hugo Javier Alvarado Álvarez. M.Sc.
ING. Fernando Javier Cobos Mora. MBA.
ING. Lenin Pedro Arana Vera

Juan Carlos Gómez Villalva
Hugo Javier Alvarado Álvarez
Fernando Javier Cobos Mora
Lenin Pedro Arana Vera

ISBN: 978-9942-8949-3-9



Mejoramiento Genético en Pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*)

Autores:

Juan Carlos Gómez Villalva
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Técnica de Babahoyo
jqomez@utb.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-3310-3722>

Hugo Javier Alvarado Álvarez
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Técnica de Babahoyo
halvaradoa@utb.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-4400-5941>

Fernando Javier Cobos Mora
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Técnica de Babahoyo
fcobos@utb.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0001-8462-9022>

Lenin Pedro Arana Vera
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Técnica de Babahoyo
larana@utb.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-5633-8591>

Primera Edición, septiembre 2021

Mejoramiento Genético en Pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*)

ISBN: 978-9942-8949-3-9 (eBook)

Editado por:

Universidad Técnica de Babahoyo

Avenida Universitaria Km 2.5 Vía a Montalvo

Teléfono: 052 570 368

© Reservados todos los derechos 2020

Babahoyo, Ecuador

www.utb.edu.ec

E-mail: editorial@utb.edu.ec

Este texto ha sido sometido a un proceso de evaluación por pares externos.

Diseño y diagramación, montaje y producción editorial

Universidad Técnica de Babahoyo

Babahoyo – Los Ríos – Ecuador

Queda prohibida toda la reproducción de la obra o partes de la misma por cualquier medio, sin la preceptiva autorización previa.



PREFACIO

La alimentación de los mamíferos en el trópico se fundamenta en el uso de pastos y forrajes, los cuales constituyen la dieta básica y más económica en la alimentación de rumiantes (bovinos, bufalinos, caprinos y ovinos). Sin embargo, la producción de materia seca de los pastos y forrajes a través del año es irregular en cantidad y calidad debido a limitaciones climáticas y edáficas.

Los pastos son importantes en principio porque pueden crecer en condiciones marginales donde otros cultivos no pueden, lo cual se atribuye a su mayor eficiencia en el uso del agua y aun máximo aprovechamiento de los nutrientes del suelo, además los pastos proporcionan materia orgánica al suelo, lo que ayuda en su conservación. Es importante considerar que su sistema radicular favorece la aireación e infiltración del agua en el suelo, mientras que el crecimiento en terrenos con topografía accidentada evita el arrastre de capa vegetal, y con ello se reducen los procesos de erosión que se puedan generar.

Los ambientes donde se desarrollan estas especies están muy influidos por el hombre y se consideran altamente estresantes, ya que combinan un gran número de factores de estrés biótico y estrés abiótico. En este sentido, el desarrollo de nuevas variedades adaptadas al estrés abiótico es un aspecto que ha pasado inadvertido. Por ello el desarrollo de programas de mejora específicos para condiciones locales constituye una necesidad urgente para la producción de pastos y forrajes. Los métodos convencionales de mejoramiento vegetal se han utilizado con éxito para obtener variedades mejoradas; sin embargo, el uso de modernas herramientas de la genética y la biotecnología ha marcado un nuevo hito en el mejoramiento genético de pastos, el cual está orientado, fundamentalmente, a la obtención de variedades tolerantes a estreses abióticos.

Si bien las técnicas convencionales han contribuido sustancialmente al mejoramiento de las especies forrajeras, la aplicación de diferentes biotecnologías en los últimos años ha redundado en importantes progresos, especialmente en lo que se refiere a calidad de forraje. En este trabajo se describen los aportes de las herramientas biotecnológicas hacia el objetivo de ampliar la variabilidad genética para los cultivos forrajeros. Se mencionan además el rol de la biotecnología como complemento del mejoramiento convencional, la situación actual y las perspectivas en este campo.

Existe una gamma de estrategias que pueden utilizarse para iniciar y mejorar el cultivo de los pastos y forrajes, las cuales serán detalladas a lo largo del contenido de este libro editado por la EDITORIAL UTB. La difusión de este libro se realizará por la celebración del 50 aniversario de la creación de la Universidad Técnica de Babahoyo, en la Provincia de Los Ríos.

Los temas tratados en el presente libro comprenden el mejoramiento genético realizado en los últimos años dentro del proyecto de investigación científica aprobado y financiado por la Universidad Técnica de Babahoyo con el código PID-004-16 Mejoramiento genético de los pastos Saboya (*Panicum maximun*) y Janeiro (*Eriochloa polystachya*) mediante mutagenesis inducida. Estos temas que han sido desarrollados por investigadores de la UTB de amplia trayectoria en el medio científico presentan aspectos relevantes a nuevas opciones forrajeras, descripción de los

procesos de mejoramiento genético aplicados para la obtención de plantas mutantes y otros aspectos de gran importancia en el manejo de pastos y forrajes tropicales.

Es de sumo interés para la Universidad Técnica de Babahoyo ofrecer un material de consulta de referencia nacional e internacional, dirigido a productores, ganaderos, estudiantes de las ciencias agropecuarias, con la finalidad de contribuir al impulso y a la adopción de las técnicas necesarias para incrementar la productividad de las fincas en las zonas tropicales, para de esta forma motivar a la mejora de la alimentación de los rumiantes y de la calidad de las producciones de leche y carne como una importante contribución a la Soberanía y Seguridad Agroalimentaria de Ecuador.

Los Autores

CONTENIDO

CAPÍTULO I.....	11
PASTO JANEIRO	12
Importancia de las gramíneas	12
Origen y descripción general del pasto janeiro.....	13
Taxonomía del pasto janeiro	13
Morfología del pasto janeiro	13
Requerimientos edafoclimáticos del cultivo	14
Valor nutritivo y palatabilidad.....	14
Manejo.....	15
Uso y características como planta forrajera	15
Efecto de la fertilización y la frecuencia de corte en el valor nutritivo del pasto janeiro.	15
Productividad, digestibilidad y proteína del pasto Janeiro.	17
Descriptores para pasto janeiro.....	18
CAPÍTULO II.....	21
MEJORAMIENTO GENÉTICO	22
Mutaciones y Modificación Genética.	23
Uso de la radiación para generar variabilidad en gramíneas forrajeras.	24
Inducción de mutaciones en plantas.	25
Mutagénicos físicos.	27
Mutagénicos químicos.....	29
Análogos de bases.....	29
Ácido nitroso (HNO ₂).....	29
Hidroxilamina (NH ₂ OH)	29
Agentes intercalantes.....	30
Agentes alquilantes.....	30
Tipos de materiales y métodos.....	31
Dosis de rayos gamma y DL ₅₀ utilizadas para la obtención de mutantes.....	31
Irradiación aguda versus crónica.....	32
Tratamientos de irradiación recurrente.....	33
Factores que afectan la efectividad y eficiencia de los mutagénicos.....	33
Edad de las semillas	33

Contenido de agua.....	34
Estado nutricional.....	34
Oxígeno.....	34
Temperatura.....	34
Almacenamiento	35
Dosis	35
Factores que influyen en la quimiosensitividad.	35
Temperatura.....	35
Dosis	35
Pre-imbibición	36
pH de la solución mutagénica	36
Efectos posteriores	36
Efecto de los tratamientos con mutagénicos.	36
Altura de la plántula	37
Sobrevivencia.....	37
Emergencia.....	37
Manchas o líneas en las hojas	38
Efectos citológicos	38
Mutantes clorofílicos	38
Mejoramiento de caracteres de importancia por mutaciones	39
Mejora del rendimiento.....	39
Adaptabilidad	41
Tipo de planta, habito de crecimiento y arquitectura	42
Tolerancia a estreses abióticos	42
Sequía.....	43
Salinidad	43
Temperatura.....	43
Tolerancia/resistencia a estreses bióticos	44
Resistencia a enfermedades.....	44
Resistencia a plagas	46
CAPÍTULO III.....	47
INVESTIGACIONES EXPERIMENTALES.....	48

Determinación de la dosis letal media de irradiación con rayos gamma en <i>Eriochloa polystachya</i> Kunth.	48
Localización.	48
Procedimiento experimental.....	48
Tratamientos.	48
Manejo de los estolones irradiados.	49
Variables evaluadas.	49
Análisis estadístico.....	49
Resultados y Discusión.....	50
Conclusiones.....	56
Determinar la dosis letal media (DL ₅₀) en estolones de pasto Janeiro sometido al mutagénico Etil – metasulfanato.	57
Localización.	57
Procedimiento experimental.....	57
Variables evaluadas.	59
Análisis estadístico.....	59
Resultados y Discusión.....	61
Conclusiones.....	63
Evaluación del comportamiento agronómico del pasto Janeiro tratado con EMS bajo condiciones de invernadero.....	64
Localización.	64
Procedimiento experimental.....	64
Variables evaluadas.	64
Análisis estadístico.....	65
Resultados y discusión.....	66
Conclusiones.....	71
Caracterización del comportamiento agronómico de estolones M ₂ de pasto Janeiro (<i>Eriochloa polystachya</i>) irradiado con rayos gamma.	72
Metodología	72
Manejo del ensayo.....	72
Variables Evaluadas	73
Resultados	74
Discusión.....	81

Conclusiones.....	81
BIBLIOGRAFÍA.....	82



CAPÍTULO I

PASTO JANEIRO

PASTO JANEIRO

Importancia de las gramíneas

En las regiones tropicales la principal fuente de alimentación para los rumiantes son las gramíneas, por lo que el rendimiento y la calidad forrajera son de gran interés para mitigar la baja productividad en los sistemas de pastoreo.

De hecho, el 70 % de la superficie cultivable mundialmente está sembrada con gramíneas y el 50 % de las calorías que son consumidas por la humanidad son provenientes de las numerosas especies, que se utilizan directamente en la alimentación como es el arroz (*Oryza sativa* L.) uno de los principales cereales básicos utilizados para la alimentación humana (Cobos *et al.*, 2021). Existen más de 670 géneros y cerca de 10 000 especies descritas (Castañeda, *et al* 2015).

Sin embargo, en estas regiones la producción del forraje y su uso se determina por las necesidades de alimentar a los rumiantes, sin considerar el momento oportuno de cosecha para su utilización. La mayoría de los estudios en forrajes utilizan la producción de materia seca (MS) y el valor nutritivo, sin considerar que los caracteres morfogenéticos y estructurales de las plantas son importante en la dinámica de rebrote y persistencia de las especies forrajera (Cruz *et al.*, 2017).

Cruz *et al.*, (2017b) manifiesta que en las regiones tropicales, los forraje son las principales fuentes de alimentación para los rumiantes ; sin embargo las condiciones ambientales y el manejo de las praderas indican directamente en el rendimiento y calidad de los mismos de modo que el valor nutritivo y producción de la materia seca es variable durante el año, en este sentido la estacionalidad juega un papel importante en la producción de forraje, con una disminución del rendimiento durante la época seca atribuido a la falta de agua y excedente en la temporada de lluvia.

Riera, (2019) indica que en muchas explotaciones ganaderas los forrajes son considerados la fuente de alimento de menor costo para suplir las necesidades de los animales, su utilización en sistemas de pastoreo directo o los ya conocidos métodos de 4 estabulado y semi estabulado, sino que también sus cualidades se extienden al tener la capacidad de poder ser almacenados por largos periodos de tiempo.

Existen pastos en casi todos los climas, puede decirse que no existe ni el “mejor pasto” ni el “pasto malo”, sólo el “pasto mejor adaptado” a las condiciones que brinde el terreno de la explotación. La principal ventaja de los pastos es su gran capacidad para producir biomasa de calidad (follaje) a partir de la fotosíntesis, pero esta calidad nutricional es afectada por la lignificación de la planta y la época del año, a medida que el pasto madura (florece-espiga) o cuando llega el verano (etapa más seca), todos los nutrientes decaen drásticamente (Riera, 2019).

Para optimizar la producción de Pasto, es necesario efectuar un manejo muy eficiente, integrando diferentes tecnologías, tanto de manejos, como de utilización de insumos, la

fertilización resulta una práctica de gran impacto productivo en los pastos, mejorando la producción de (MS), además del valor nutritivo de forraje (Moran, 2019).

Origen y descripción general del pasto janeiro

El pasto janeiro es nativo de Sudamérica tropical, Centro América y el Caribe. En el Ecuador se desarrolla bajo de la Cuenca del Río Guayas, en las provincias de: El Oro, Guayas y Los Ríos. También se lo encuentra, pero en menor grado en las ganaderías intensivas de la provincia de Santo Domingo de Los Tsáchilas. Es considerado de buen valor nutritivo por su alto contenido de proteína cruda de 15,20 % a los 28 días y su descenso es mínimo con la edad. La digestibilidad de la materia seca va de 52 a 47 %, lo que lo hace apetecido por parte del ganado (INIAP, 1989).

Es una especie vigorosa y se propaga vegetativamente, de crecimiento rápido, a los dos meses de sembrado ya ha cubierto el terreno formando un denso colchón produce tallos decumbentes, presenta vainas y nudos pubescentes, las panículas terminales tienen un número variable de ramas las cuales son extendidas y ascendentes (Contreras, 2019).

Taxonomía del pasto janeiro

Martínez, (2019) detalla la siguiente descripción taxonómica del pasto Janeiro:

Reino: Plantae

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Subfamilia: Panicoideae

Tribu: Paniceae

Género: Eriochloa

Especie: E. polystachya

Morfología del pasto janeiro

Es una gramínea perenne, muy robusta con tallos decumbentes (son algo quebradizos). Su inflorescencia es una panícula abierta, las espiguillas son infértiles. Crece en plantas aisladas, macolla bien y emite tallos gruesos y jugosos que alcanzan hasta 2 m de longitud. Produce buena cantidad de hojas estas son alternadas no pubescentes y algunas inflorescencias producen poca semilla. Las raíces son abundantes y relativamente superficiales (Cepeda, 2016).

El pasto janeiro es de crecimiento rastrero y estolonífero, que puede alcanzar una altura de hasta 1.20 m dependiendo de condiciones y exigencia del pasto, tiene una buena producción de hojas de forma lanceolada de aproximadamente 20-25 cm de largo y de 8-10 mm de ancho. Produce semillas, pero de muy baja viabilidad y presenta tallos huecos (INIAP, 1989).

Este pasto es muy robusto con tallos erectos cuando son jóvenes y decumbentes cuando adulta (son algo quebradizos). Su inflorescencia es una panícula abierta, las espiguillas son infértiles. En este género tenemos otros cultivares como son la *Echinochloa coloniao* L, es un

pasto anual de una altura de 90 cm, con contenido de proteína de 13,8 % a las cuatro semanas, la *Echinochloa frumentacea* Roxb, es otra gramínea anual (Rendon, 2011).

Figura 1. Pasto Janeiro (*E. polystachya*).



Fuente: (Riera, 2019).

Requerimientos edafoclimáticos del cultivo

Crece en zonas húmedas o en lugares bajos. Durante la época seca es susceptible al ataque de áfidos o insectos chupadores. Para su reproducción se utiliza material vegetativo. En cuanto a su manejo en la época seca, los períodos de descanso son de 42 a 45 días después del último pastoreo. (Rolando *et al.*, 1989).

Es poco exigente al tipo de suelo, rindiendo más en los arcillosos que en los arenosos, su mérito está en la adaptación a suelos bajos e inundables, se usa tanto para pastoreo como para corte, proporciona forraje verde, tierno y abundante, no se presta para ser henificado por el secamiento de los tallos es muy lento, tiene una calidad nutricional de: Proteína cruda 5 % - 14 % y digestibilidad 65 %, no se ha reportado ninguna toxicidad, con un potencial de producción de 8 - 10 t/ha/año de materia seca (León, 2006).

Se adapta bien a zonas húmedas con una buena lámina de agua. Soporta suelos medianamente ácidos, como los situados en la Cuenca del Guayas, en donde su crecimiento es vigoroso. No es tolerante a sequía y tiene buena recuperación después de la quema (INIAP, 1997).

Valor nutritivo y palatabilidad

Esta especie tiene buena aceptación por parte del ganado. Su valor nutritivo es bueno especialmente cuando el material es joven, disminuyendo su calidad a medida que la planta madura.

Tabla 1. Porcentaje de Proteína Cruda (PC) y de Digestibilidad in vitro (DIV) de pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*).

Épocas	21		28		35		42		56	
	PC	DIV	PC	DIV	PC	PC	PC	DIV	PC	DIV
Seca 75	16,80	57,00	15,20	53,00	13,1	50	12,80	49,00	11,30	47,00
Lluviosa 76	16,50	58,00	13,20	52,00	11,8	51	11,30	50,00	11,00	47,00

Fuente: INIAP, 1997

Manejo

En zonas bajas el manejo del pastizal depende de la intensidad de las épocas lluviosa y seca. Cuando el pastizal se inunda no es aconsejable realizar pastoreos durante este tiempo, por el daño que puede causar el animal en la estructura del suelo y en el desprendimiento de la especie, lo que repercutirá en el rendimiento posterior del pastizal. Durante la época seca, los períodos de descanso son más largos y se debe tener muy en cuenta la carga animal para evitar el deterioro del potrero, los mismos que pueden ser de 42 a 45 días de descanso después del último pastoreo (INIAP, 1997).

Uso y características como planta forrajera

Su uso está orientado a la ganadería extensiva y el pastoreo, su propagación es esencialmente vegetativa dado que es una especie que produce poca semilla fértil y de muy baja viabilidad (Enríquez *et al.*, 2015).

Estudios sobre el pasto Janeiro muestran que el rendimiento de biomasa llega a 11,3 t/ha/corte de materia seca, mientras que el largo y el ancho de hoja alcanza 30 y 1,8 cm, respectivamente; el prendimiento puede llegar hasta un 72,5 % y la proteína un 12 % (Benites *et al.*, 2017).

Briones (2016) indica que en un trabajo realizado utilizando el pasto Janeiro para medir su rendimiento de materia verde por hectárea a diferentes intervalos de fecha de corte, obtuvo los siguientes resultados: cosechado a 45 días con una altura de 0,60 m el rendimiento fue de 11,4 t/corte/ha de forraje verde, a 60 días de cosecha con altura de 0,83 m el rendimiento fue de 19,5 t/corte/ha de forraje verde, a 75 días con un altura de 1,09 m el rendimiento fue de 33,0 t/corte/ha y a 90 días de cosecha con una altura de 1,53 m el rendimiento fue de 57,2 t/corte/ ha, con lo que se demostró su alta producción de materia verde para el trópico.

Según Calderero (2011), en su trabajo denominado Viabilidad de cuatro densidades de siembras de los pastos, Janeiro (*Eriochloa polystachya*) y pasto dulce (*Brachiaria Humidicola*), para la producción bovina en zonas inundables de la parroquia La Victoria del cantón Salitre, logró excelentes rendimientos en pasto Janeiro con una altura de planta de 1,33 m y una producción de 44 778 kg/ha.

Efecto de la fertilización y la frecuencia de corte en el valor nutritivo del pasto janeiro.

Méndez Carvajal (2013) manifiesta que la fertilización presiembra depende del análisis de suelos y los requerimientos propios del cultivo. Es necesario utilizar fertilizantes de lenta

liberación que servirán para la nutrición de los esquejes tales como sulfato de calcio, superfosfato triple o magnesio incorporado al suelo.

Aquino Zacarías & Gómez Villanes (2019) indican que para garantizar la calidad nutritiva de los alimentos se deben implementar estrategias de biofortificación agronómica de los cultivos (Cedeño *et al.*, 2018). Se concibe las prácticas agrícolas orgánicas (suministro de bioestimulantes orgánicos al suelo o área foliar), como herramientas que permiten reducir el estrés, minimizando los efectos negativos de las variaciones edafoclimáticas (Cruz *et al.*, 2015); además, proveen mayor resistencia a plagas y enfermedades (Granados 2015) e incrementan la velocidad metabólica y fotosintética, siendo activas a nivel celular y molecular, actuando como un todo en el organismo de la planta (Cruz *et al.*, 2015), estimulando el crecimiento radicular generando mayor resistencia al estrés hídrico (Freitag, 2014), promoviendo la utilización de menor cantidad de insumos externos y minimizando el uso de fertilizantes químicos, y otros insumos nocivos, permitiendo obtener rendimientos agrícolas saludables (Mendoza *et al.*, 2014).

Perez *et al.*, (2008) indican que el nitrógeno sirve de partida a la planta para la síntesis de proteínas, enzimas y vitaminas de sus tejidos, por ello hay estados vegetativos en los que la planta tiene una elevada necesidad de nitrógeno, durante el crecimiento activo para formar raíces, órganos reproductores y de fecundación, etc. y es el factor que determina los rendimientos, constituyéndose en la base del abonado.

Los problemas de pérdida de fertilidad, hace referencia a la fertilidad química del suelo, y se conoce como una "deficiencia de nutrientes". Esto significa que uno o más nutrimentos están en el suelo en una cantidad que no permite que un cultivo satisfaga sus necesidades y entonces se presentan problemas de crecimiento, desarrollo y producción. Los síntomas pueden ser: la reducción del área foliar que provoca menor intercepción de la radiación, resultando en plantas más pequeñas, deficientes y con menor rendimiento (Fontanetto & Bianchini 2010).

Infoagro (2008), publica que el nitrógeno añadido como abono, puede estar como urea, NH_4^+ y NO_3^- . Este nitrógeno sigue los mismos modelos de reacción que el nitrógeno liberado por los procesos bioquímicos a partir de residuos de plantas.

Perez *et al.*, (2008) manifiestan que el déficit de nitrógeno se traduce en síntomas variados, el rendimiento de un cultivo puede bajar incluso antes de la manifestación sintomática. El primer síntoma que se presenta es la clorosis; es decir la pérdida de moléculas de clorofila, tomando la planta un color amarillento. La producción y síntesis orgánica se frena y baja de esta manera la velocidad de crecimiento y desarrollo.

La fertilización mínima (del elemento en kg/ha) N 50; P_2O_5 : 45.8, K_2O 18; Mg O: 24.75; SO_4 44,86. También, responde a la fertilización (N, P, K) a los 6-8 meses después de establecido. Se debe hacer rotación de potreros, teniendo especial cuidado con el tiempo de pastoreo, ya que no lignifica y los animales tienden a consumir abundantemente, se puede pastorear cada 45 días (Chavarría, 2013).

Con la aplicación máxima (en kg /ha) 120 kg N; 90 kg P₂O₅; 120 kg K₂O + 2 kg de bonanza, se logran los mayores rendimientos en producción de biomasa en pasto Janeiro donde se obtuvieron plantas con un mayor desarrollo en cuanto a tamaño y vigor (Terán, 2015).

Los pastos requieren un aporte continuo de (N, P, K) entre otros minerales tales como (Ca, Mg, Mn, Mo, etc.), así como recibir un estímulo de todo tipo microflora (hongos, bacterias, levaduras, micorrizas, actinomicetos, etc.), donde es importante dotar al vegetal de al menos un episodio de fertilización en toda su etapa de crecimiento (Díaz, 2017).

Las gramíneas forrajeras son plantas que forman la mayor parte de las áreas de producción de forraje para el ganado. Existen especies que son sembradas para pastoreo directo y otras que se siembran para ser utilizadas mediante cortes, en forma manual o mecanizada, para suministro en comederos, ya sea en forma fresca, uso en ensilaje o heno (Villalobos & Sánchez 2010).

La edad de corte causa varias modificaciones en la estructura de un pasto. No obstante, el corte a edades tempranas provoca efectos perjudiciales a la planta, porque la remoción continua de la biomasa foliar decrece el contenido de almacenamiento en las partes bajas de los tallos y raíces, con una afectación al rebrote y crecimiento vigoroso después del corte (Madera *et al.*, 2013).

Bohórquez Galarza (2018), realizó estudios de “Evaluación del rendimiento y proteína cruda del pasto Janeiro bajo cinco frecuencias de corte,” registrando resultados de producción de materia seca de 3480 Kg/ha con frecuencia de corte de tres semanas, con seis semanas 3 693,5 Kg/ha, con 9 semanas 4 169,0 Kg/ha, con doce semanas 4 576,6 Kg/ha y con quince semanas 5974,3 Kg/ha; así mismo reporta una producción de materia verde de 7 076,7 Kg/ha con frecuencia de corte de tres semanas, con frecuencia de seis semanas 7 446,0 Kg/ha, con nueve semanas 8 205,0 Kg/ha, con doce semanas 9 376,3 Kg/ha y con quince semanas 9 885,2 Kg/ha.

En la actualidad, el uso intensivo de pastos para corte debe considerarse como una herramienta de bajo costo, para incrementar la producción de los animales. Esto implica minimizar el desperdicio de forraje eliminando el pisoteo, evitando el gasto de energía durante el pastoreo y en alguna forma se disminuye la selección del animal que normalmente deja un residuo considerable en los potreros (Márquez *et al.*, 2007).

Briones (2016) manifiesta que en pasto elefante y caña de azúcar, el corte se recomienda lo más cerca del suelo, a unos 5 cm, en pasto Maralfalfa 10 cm, para pasto guinea unos 20 cm y Janeiro de 15-20 cm, dependiendo del lugar donde se encuentren las reservas para el rebrote de cada especie. Es importante la calibración de la altura de corte de la maquinaria, al igual que el filo de las cuchillas, por lo que se debe entrenar al personal en esta práctica. Con esto se evitarán daños a los macollos de donde provienen los rebrotes, siendo los más importantes para una pronta recuperación del pastizal.

Productividad, digestibilidad y proteína del pasto Janeiro.

Cepeda (2016) en su estudio realizado sobre la evaluación de cuatro densidades de siembra de los pastos Tanner (*Brachiaria arrecta*) y Janeiro (*Eriochloa polystachya*) para la producción

bovina en la zona baja inundable de Babahoyo, reporta valores de materia verde para el pasto Janeiro de 9 206,7 Kg/ha, superior estadísticamente al pasto Tanner con 7 445,6 Kg/ha, mientras que el peso de materia seca reportado para Janeiro fue de 4 811,3 Kg/ha, registro superior al pasto tanner con 3 680,5 Kg/ha.

Arce *et al.*, (2003) estudiaron la digestibilidad de gramíneas cultivadas: Dactilys (*Dactilys glomerata*), rye grass (*Lolium italiano* y *Lolium inglés*), braquiaria (*Brachiaria decumbens*), camerún (*Echinochloa polystachya*) y king grass (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum tipoides*), Leguminosas cultivadas: Alfalfa (*Medicago sativa*), trébol rojo (*Trifolium repens*), trébol blanco (*Trifolium perenne*), kudzu (*Pueraria phaseloides*), centrocema (*Centrocema pubescens*) y calopo o rastrea (*Calopogonio mucunoides*), Pastos naturales: Ichu (*Stipa ichu*), festuca (*Festuca dolicophyllia*), mulem-bergia (*Mulembergia fastigiata*), toro urco (*Axonopus compressus* y *Paspalum conjugatum*), reportando valores de porcentajes de digestibilidad para gramíneas cultivadas iguales a: Dactilys 75,91, Rye grass inglés 84,03, Rye grass italiano 83,25, Braquiaria 64,52, Camerún 49,56, King grass 51,17; Para leguminosas cultivadas iguales a: Alfalfa 80,83, Trébol rojo 85,02, Trébol blanco 92,90, Kudzu 58,81, Centrocema 57,41, Calopo 58,52; Para pastos naturales: Ichu 40,17; Festuca 48,71; Mulembergia 49,80; Toro urco 2 55,68 y Toro urco 3 56,25 %.

El momento de madurez de las pasturas es de gran importancia sobre el contenido de proteína y minerales presentes en las plantas, a medida que la planta crece se presenta una disminución gradual del contenido de minerales. Los elementos que limitan mayormente la productividad de los pastos son: el fósforo y el nitrógeno (Salamanca, 2010).

La producción anual del pasto janeiro varía entre 8 - 12 t de materia seca/hectárea y soporta cargas altas bajo manejo rotacional. Los contenidos de proteína en praderas bien manejadas están entre 10 – 13 por ciento, y la digestibilidad entre 50 – 55 por ciento (INIAP 1989).

Cepeda (2016) reporta que el porcentaje de proteína cruda (PC) en el pasto Janeiro cosechado a las tres semanas alcanzó un 4,2 % de PC, a las seis semanas 6,6 % de PC, a las nueve semanas 9,2 % de PC, a las doce semanas 13,0 % de PC y a las quince semanas 7,1 % de PC, lo que mostró que la proteína se incrementó hasta las doce semanas y a partir de esa fecha el valor comienza a descender.

Descriptores para pasto janeiro.

Un descriptor es el nombre que se le asigna a una característica o a una parte de la planta, fruto o semilla, el cual se quiere medir (Navarro *et al.*, 2008).

Torres (2007), indica que un descriptor es una variable o atributo que se observa en un conjunto de elementos, ejemplo: altura de planta, color de la flor, entre otros. Además, hace notar que la preparación de una lista de descriptores a menudo es un proceso repetitivo. Los descriptores pueden ser:

- De pasaporte: Son los que proporcionan la información básica que se utiliza para el manejo general de la accesión y describen los parámetros que se deberían observar cuando se recolecta originalmente la accesión.
- De manejo: Proporcionan las bases para el manejo de las accesiones en el banco de germoplasma y ayudan durante su multiplicación y regeneración.
- Del sitio y el medio ambiente: En estos se describen los parámetros específicos del sitio y del medio ambiente, que son importantes cuando se realizan pruebas de caracterización y evaluación. Se incluyen en esta categoría los descriptores del sitio de recolección del germoplasma.

Entre los principales descriptores que se han utilizado para realizar una caracterización morfológica en poblaciones de pastos está: la altura de follaje, altura de planta, densidad de tallos, grosor del tallo, ancho de hoja, largo de hoja, longitud de inflorescencia, ramillas por inflorescencia, espiguillas por ramillas, longitud de ramillas, raquis de inflorescencia, longitud de pedicelo, entre otros. Todos estos descriptores se han utilizado para evaluar diversidad morfológica y detectar ecotipos que tengan características deseadas o sobresalientes (Morales *et al.*, 2016).

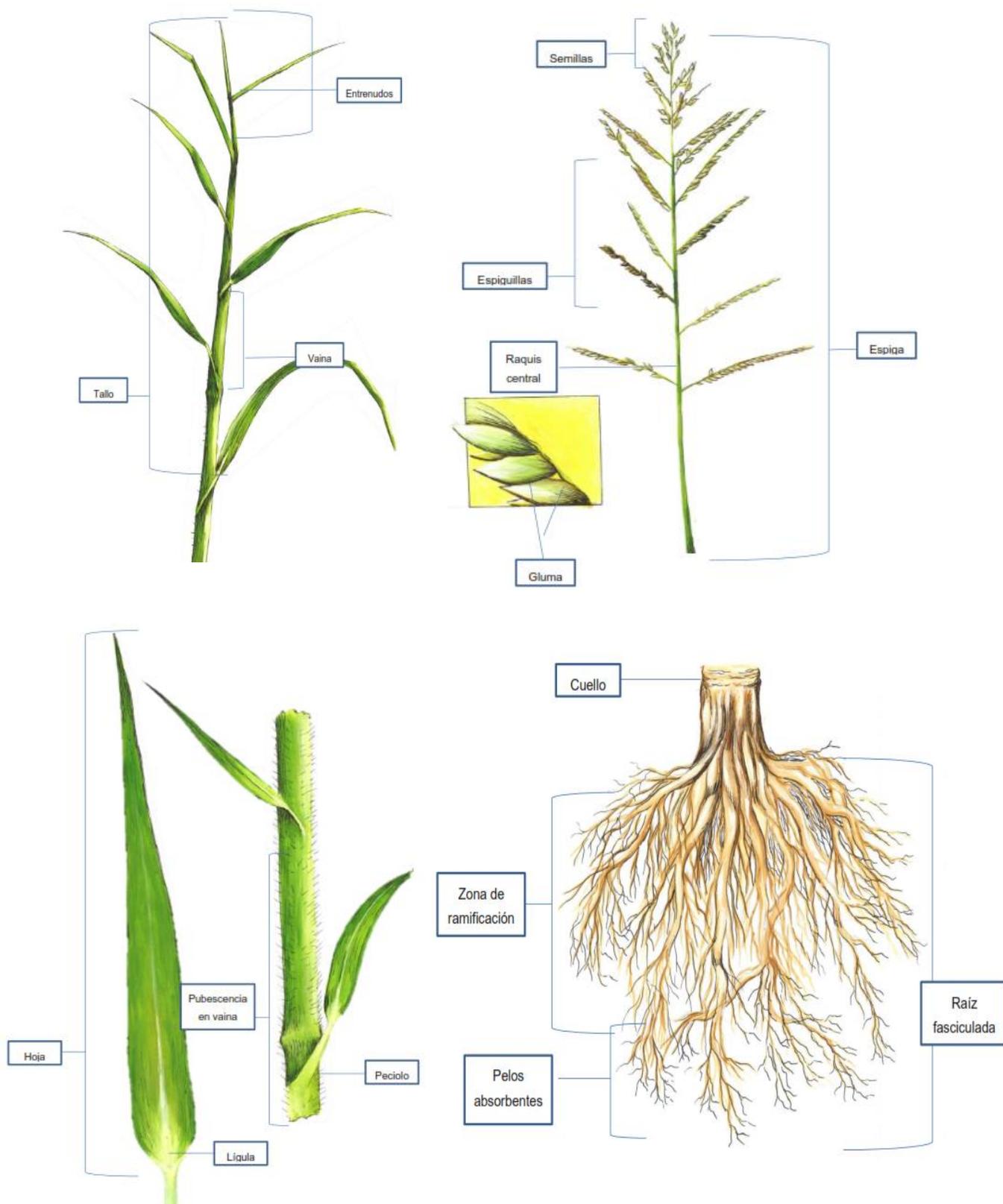
Los descriptores morfológicos incluidos en esta publicación tienen el objetivo de proporcionar una descripción de pasto janeiro lo suficientemente detallada para una adecuada descripción morfológica de un cultivar (Tabla 2). Esta lista contiene todos los descriptores claves usados para agrupar las entradas con alto coeficiente de similitud. Además, se incluyen figuras que muestran la variación en hojas, tallos, semillas y raíz para facilitar la selección de cultivares.

Tabla 2. Descriptores pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*).

Forma de lígula	aguda membranosa	1	Membranosa aguda y lacerada	2	ciliada o pilosa	3
Presencia de estolones	si	1	no	0		
Intensidad de color verde en el follaje	claro	3	medio	5	intenso	7
Color verde de tallo	claro	1	medio	2	intenso- morado	3
Pubescencia de tallo	si	1	no	0		
Pubescencia de hoja	si	1	no	0		
Pubescencia en nudo	si	1	no	0		
Color de flor	morada	1	marrón claro	2	marrón oscuro	3
Color de gluma	verde	1	marrón claro	2	marrón oscuro	3
Color de semillas	Blanco amarillento	1	marrón claro	2	marrón oscuro	3

Fuente: (Riera,2019).

Figura 2. Descriptores pasto janeiro (*E. polystachya*).



Fuente: (Riera, 2019).



CAPÍTULO II

MEJORAMIENTO GENÉTICO

MEJORAMIENTO GENÉTICO

Ha sido una constante preocupación para los mejoradores genéticos de pastos, la obtención de variedades dotadas de mecanismos que le permitan ofrecer producciones ventajosas en agroecosistemas cambiantes. Las investigaciones con respecto a nuevas variedades de pasto son muy pocas, la mayoría se enmarcan en la introducción de variedades mejoradas en otros países (FAO, 2015).

Aunque los métodos de mejoramiento genético de los cultivos parecen ser nuevos, los registros históricos demuestran que en el pasado el mejoramiento de las plantas se practicó cuando el hombre aprendió a seleccionar las mejores especies para las cosechas. Esta técnica inició con la domesticación bajo condiciones controladas y seleccionando aquellas que proporcionarían una mejor fuente de alimentos. Este mejoramiento fue fortuito y lento, hasta el reconocimiento de las leyes de Mendel a principios del siglo XX (Gutiérrez *et al.*, 2003).

El mejoramiento genético tiene como objetivo desarrollar variedades de alto valor económico, ecológico o social que permitirán cultivar en zonas y ambientes marginales, los cuales se van incrementando con el cambio climático (Cobos *et al.*, 2020), esto implica procesos reiterados de actividades como selección, cruzamientos dirigidos y evaluaciones genéticas (Southerton *et al.*, 2013). Una de las principales estrategias del mejoramiento genético clásico consiste en la selección fenotípica. Sin embargo, los métodos tradicionales son limitantes por los largos ciclos reproductivos de la mayoría de las especies, lo que representa varios años e incluso décadas para la obtención de resultados, en función de su biología (Grattapaglia, 2017).

La variabilidad morfológica en las especies se presenta por cambios genéticos provocados por el medio ambiente donde la radiación ha jugado un papel importante (Segura *et al.*, 2007). La biodiversidad vegetal parte de la cantidad y variedad de especies que conforman un ecosistema. La variación natural intraespecífica es definida como la variación fenotípica, causada por modificaciones en el ADN que surgen espontáneamente.

Uno de los propósitos del mejoramiento genético vegetal es incorporar resistencia a enfermedades y a plagas, o a condiciones adversas del ambiente, así como mejorar sabor, color, forma y tamaño de los órganos de importancia antropocéntrica. Sin embargo, en ocasiones es difícil obtener plantas mejoradas por este medio y hay que recurrir a métodos alternativos para producir variantes genéticas útiles (Jain, 2010).

Para cumplir con el principio de mutagénesis, la metamorfosis debe ser fijada y mantenerse en la naturaleza hasta un nuevo cambio genético, no obstante la transformación también puede darse de manera artificial (Thole *et al.*, 2012; Xia-Yun *et al.*, 2011). En la ingeniería genética se investiga la recombinación artificial de genes o grupos de genes y es posible ejercer la manipulación dirigida sobre características específicas. Cualquier método antes mencionado puede ser utilizado para mejorar o cambiar la expresión alélica en un vegetal.

Mutaciones y Modificación Genética.

La evolución ocurre principalmente por mutaciones espontáneas que generan nuevas estructuras genéticas y permiten la supervivencia de la especie, ya que al tener mayor oportunidad de reproducirse logran perpetuar sus genes. La evolución se basa en cuatro procesos para manifestar diferenciación individual (Pierce, 2010).

Selección natural: donde ciertas características permiten que un individuo tenga mayor éxito de supervivencia y persistencia, lo cual se interpreta de manera positiva (De Zulueta y Ayala, 2009).

Deriva genética: aquí se presenta un cambio estocástico en la expresión alélica por recombinación en la reproducción, pero a diferencia de la selección natural, los cambios pueden ser positivos, sin efecto o negativos para la supervivencia (Keinan *et al.*, 2007).

Flujo genético: también conocido como migración, consiste en transferir dominancia alélica de una población a otra, mediante movilidad de ciertos genes interespecíficos, ocurriendo así la hibridación (López *et al.*, 2007).

Mutación: esta es la principal fuente de variabilidad genética, puesto que es en este fenómeno es donde ocurren diferentes cambios en la estructura del genoma. Al igual que en deriva genética, este fenómeno puede tener efecto provechoso imparcial o adverso. Una mutación se puede dar mediante recombinación, duplicación o delección en una o varias secciones del ADN, presentarse en secuencias largas, secuencias pequeñas o incluso en un par de nucleótidos (Pierce, 2010).

El término inducción de mutaciones a cambios espontáneos que afectan a la herencia en los organismos cuya descendencia presenta variaciones en tamaño, forma o composición genotípica que pueden ser expresados en su fenotipo. Los cambios efectuados dentro de los límites de un gen, a nivel de ADN, se denominan mutaciones génicas o puntuales. Cuando se producen cambios estructurales que ocasionan ganancia, pérdida, o relocalización de los segmentos de un cromosoma, se clasifican como mutaciones cromosómicas. Si los cambios afectan la estructura de organelos citoplasmáticos que contienen material genético tales como plastidios y condriosomas, se conocen como mutaciones extranucleares. Cuando los cambios afectan el número total de cromosomas característico de la especie, se habla de mutaciones genómicas (Benítez, 2005).

La principal ventaja de la mutagénesis, con respecto a otras técnicas productoras de variabilidad genética, es que a partir de una misma población irradiada se pueden obtener genotipos con alteraciones en genes muy diversos debido a su acción aleatoria en el genoma de cada unidad irradiada (tallos, semilla, callos, células en suspensión, anteras). En arroz, por ejemplo, existen numerosas ventajas producto de la utilización de agentes mutagénicos físicos y químicos para la producción de poblaciones mutantes adecuadas tanto para la genética “delantera” y reversa por la alta densidad de mutaciones producida. (Giacconi y Escaff, 2004).

Existen diferentes agentes mutagénicos, que pueden ser: químicos; análogos de bases, antibióticos, agentes alquilantes entre otros compuestos. Otros mutágenos son los agentes

radiactivos, como la radiación ultravioleta, no obstante, ésta ha sido muy restringida en plantas por no ser ionizante y tener limitada habilidad de penetración. Los rayos X descubiertos por Roentgen en 1895, se han utilizado casi desde entonces en diferentes estudios biológicos, sin embargo, las respuestas bilógicas y fisiológicas en plantas han sido carentes. Las partículas alfa y beta producen un efecto mayor de penetración que los rayos X, pero aun así, la capacidad de penetración es menor a la de los rayos gamma, los cuales han tenido mayor importancia en la mutagénesis por radiación (Podevin *et al.*, 2013). Busey (1980) intentó causar mutaciones con radiación gamma utilizando esquejes de pasto de cespced y encontró que en ciertas accesiones con dosis de 45 Gy causó el 50 % de retraso en crecimiento y una supervivencia de 40 %. Otras accesiones con 40 Gy presentaron el 100 % de mortalidad. A medida que la radiactividad aumenta, los individuos mutantes regularmente presentan cambios negativos o degenerativos. Sin embargo, con dosis moderadas de radiación ionizante los impactos sobre la estructura del ADN pueden ser benéficos (Songsri *et al.*, 2011).

Uso de la radiación para generar variabilidad en gramíneas forrajeras.

El fenómeno de mutagénesis es un proceso natural para los procesos evolutivos. Los rayos cósmicos que logran penetrar la atmósfera causan ligeros cambios en el ADN y la acumulación de estos pequeños cambios, son causa de mutaciones que dan origen a variaciones en las especies vegetales y animales (Ochoa-Carrillo *et al.*, 2016). La mutagénesis inducida es una técnica que acelera los procesos de mutación a partir del uso de agentes mutagénicos. Esta práctica se comenzó a utilizar a principios de 1900 y fue a partir de 1927 cuando ésta se intensificó. Sin embargo, la prioridad del mejoramiento genético bajo esta técnica siempre han sido los cultivos focales: arroz, cebada, maíz, trigo entre otros (Ramchander *et al.*, 2015). La *Arabidopsis thaliana* y el arroz (*Oryza sativa*) se han estudiado ampliamente bajo esta técnica, ya que presentan los genomas más pequeños en plantas vasculares. Esto ha permitido que en estas especies las mutaciones puedan ser dirigidas (Rajarajan *et al.*, 2016). Esta técnica se ha practicado también en especies utilizadas para céspced. En 1997 mediante radiación gamma con Co^{60} se produjo la variedad TifEagle de pasto bermuda (*Cynodon dactylon*). Esta variedad se caracterizó por poseer hojas con lámina muy fina, densidad de tallos extremadamente alta y gran resistencia al pisoteo; actualmente es muy utilizada en campos de golf (Hanna y Elsner, 1999). En otras investigaciones se ha logrado producir variedades de céspced con talla ultra baja y de mayor resistencia a estrés hídrico (Lu *et al.*, 2009). Otra especie cespitosa en la que se ha empleado mutagénesis es el pasto San Agustín (*Stenotaphrum secundatum*). En esta especie se obtuvieron diferencias morfológicas al irradiar estolones a dosis entre 10 y 100 Gy (Li *et al.*, 2010). Otras gramíneas modificadas por mutagénesis son el finger millet (*Eleusine coracana*) y el mijo perla (*Pennisetum glaucum- typhoides*). En el Sur de Asia y África éstas especies se usan para doble propósito; producción de grano para humano y producción de forraje para ganado (Ambavane *et al.*, 2015). Así mismo, con radiación gamma se ha generado variabilidad en pasto sudan (*Sorghum sudanense*) (Golublnova y Gecheff, 2011), pasto elefante (*Pennisetum purpureum*); (Pongtongkam *et al.*, 2005) y zacate guinea (*Panicum máximum*); (Pongtongkam *et al.*, 2006).

Con el esclarecimiento de las bases moleculares de la herencia, a partir de los estudios realizados por James Watson y Francis Crick en la década de los años cincuenta, se estableció el conocimiento de la estructura molecular del ácido desoxirribonucleico (ADN). Del conocimiento de la estructura y del sistema de duplicación del ADN, se estableció la oportunidad de inducir cambios en el mensaje genético; es decir, la oportunidad de construir genes diferentes a los ya presentes en las plantas. Este cambio se conoce como una mutación. Las mutaciones se producen por variaciones en las bases nitrogenadas del ADN. Existen sustancias químicas y físicas que son capaces de inducir cambios en la secuencia de las bases nitrogenadas; son los llamados agentes mutagénicos. Dentro de los agentes mutagénicos físicos las irradiaciones emanadas por elementos químicos radiactivos como el Uranio, el Cesio y el Cobalto, tienen un efecto ionizante sobre las bases nitrogenadas que los hace capaces de inducir mutaciones (Serrat *et al.*, 2014).

Las mutaciones son el origen primario de la variabilidad genética y el control de la frecuencia y espectro de las mismas, constituye una herramienta valiosa en el mejoramiento de las plantas. Las poblaciones de plantas aumentan su variabilidad genética debido a las fuerzas microevolutivas. Se considera fuerza microevolutiva a cualquier proceso capaz de cambiar la frecuencia de alelos en las poblaciones. Estas fuerzas son: la mutación, la migración, la recombinación, la selección y la deriva genética. La mutación es la única fuente primaria de variación, ya que es el único mecanismo que genera nuevos tipos (Fita *et al.*, 2015).

Inducción de mutaciones en plantas.

Quintas Madueño (2019), indica que fue el primero que estableció de manera moderna la teoría de la mutación, que consiste en que nuevas formas se desarrollan repentinamente por grandes cambios o por la acumulación gradual de pequeñas variaciones. Siendo este investigador, quien enfatiza que las mutaciones son la base fundamental de la evolución de las especies.

El mejoramiento genético de plantas o fitotecnia exige variación genética de las características útiles para mejorar los cultivos y cuándo no se logra a través de las hibridaciones, se puede emplear agentes mutagénicos, como la radiación y algunos productos químicos, para inducir mutaciones y generar variaciones genéticas de los cuales pueden seleccionarse los mutantes deseados. El tratamiento con agente mutagénicos altera los genes o causa cambios estructurales en los cromosomas (Novak & Brunner, 1992).

Tabla 3. Agentes mutagénicos físicos y químicos empleados en la inducción de mutaciones.

AGENTES FÍSICOS	AGENTES QUÍMICOS
Rayos gamma	Etil metano sulfonato
Rayos X	Dietil sulfonato
Rayos ultravioleta	Azida sódica
Partículas alfa	Etil inina
Partículas beta	Colchicina

Fuente: (Fita *et al.*, 2008).

Las condiciones que debe reunir un agente mutagénico son: debe ser lo suficientemente efectivo sobre el material hereditario para causar cambios en su estructura y, al mismo tiempo, inocuo para el hombre. La capacidad mutagénica se mide por la dosis letal media (DL₅₀) que es la dosis que mata al 50% de los individuos tratados. (Cubero, 2003).

La sensibilidad de las plantas diploides y poliploides tratadas con agentes mutagénicos, disminuye la tasa de mutación con el aumento de nivel de ploidía de las plantas. Este resultado apoya la hipótesis de que la duplicación de genes en poliploides reduce la frecuencia de mutación. Los cambios en la secuencia de bases en el ácido desoxirribonucleico (ADN) se producen de forma espontánea y pueden ser intensificadas por mutágenos físicos y químicos tales como, por ejemplo, la radiación gamma (⁶⁰Co) y etilmetanosulfonato (EMS). Por lo tanto, esta técnica permite el desarrollo de nuevas combinaciones genéticas a través de cambios y / o modificaciones alélicas en el cromosoma (Coimbra *et al.*, 2005).

Las radiaciones ionizantes son un instrumento valioso para alterar el genoma; su utilización en el fitomejoramiento permite obtener nuevas formas frecuentemente, reduciendo el tiempo para obtenerlas con respecto a los métodos convencionales. Por esto, la radioinducción de mutaciones es una técnica auxiliar de reconocida utilidad en el mejoramiento genético de plantas. Los resultados exitosos obtenidos por diversos investigadores demuestran que puede ser muy útil para obtener variedades mejoradas de trigo (Gomez-Pando, 2013), banano (Reyes, 2007), con alta productividad y resistencia a factores bióticos y abióticos; con la ventaja de que esta técnica permite acortar los periodos de selección y aportar nuevos genes que no estén restringidos a la constitución genética de los progenitores (Salcedo Aceves, 2012).

Las radiaciones ionizantes constituyen en la actualidad, una vía importante que puede usar el mejorador para crear variabilidad genética. Debido a las altas energías que poseen, los rayos gamma constituyen un tipo de radiación ionizante capaz de penetrar en la materia más profundamente que la radiación alfa y la beta. Pueden causar graves daños o modificaciones al núcleo de las células. Así, se han realizado numerosos trabajos utilizando rayos gamma, con el fin de obtener cultivos de alto rendimiento, variedades resistentes a enfermedades, tolerantes a la falta de agua y a la alta salinidad de los suelos (Harding *et al.*, 2012). Así mismo, se han reportado trabajos relacionados con la obtención de genotipos resistentes a herbicidas de amplio espectro (Mussi *et al.*, 2016).

El uso de la radiación ionizante como los rayos x, rayos gamma y neutrones, así como los mutágenos químicos para inducir variación está bien establecido, debido a la gran cantidad de trabajos en el área de la mutagénesis convencional y en varios cultivos como en tomate (Estrada-Basaldua *et al.*, 2011).

Gomez-Pando (2013) indica que existen muchos informes de mejora en características morfológica y fisiológica de cereales, granos de leguminosas, semillas oleaginosas, cultivos de fibras, vegetales y plantas ornamentales después de la inducción de mutación, siendo los rayos gamma el agente preferido; el tipo de planta y el rendimiento, son los rasgos más comúnmente reportados.

La inducción de mutaciones puede disminuir el tiempo requerido para la obtención de una nueva variedad. Esta técnica ha contribuido significativamente a la mejora genética de las plantas a escala mundial, ya que se han obtenido 2.363 nuevas variedades a partir de su empleo (González *et al.*, 2009).

Valarezo (2015), indica que existe un gran número de agentes que inducen mutaciones, las cuales se atribuyen a causas ambientales conocidas, estas pueden contrastarse con las mutaciones espontáneas, que nacen de manera natural durante el proceso de replicación del ADN.

Entre los agentes mutagénicos más empleados se destaca la radiación gamma, proveniente mayormente de una fuente de ^{60}Co , que es un isótopo radiactivo con alta capacidad ionizante que ha sido utilizado en mejoramiento genético de diferentes cultivos para inducir mutaciones (Corrales, 2017).

Los rayos gamma, emitidos por cobalto radiactivo o radioisótopos, causan daños en células vegetales y suelen utilizarse para irradiar plantas completas o parte de estas, incluyendo el polen (Rossi *et al.*, 2009). Los rayos gamma son mutágenos físicos que han demostrado ser útiles para la modificación de nuevas variantes de rasgos que pueden dar lugar a la mejora de los cultivos y se puede utilizar como una herramienta complementaria en fitomejoramiento (Babaei *et al.*, 2010).

Las mutaciones inducidas han permitido generar plantas mejoradas en diversas especies. Fuchs *et al.*, (2002) obtuvieron mutantes estables de caña de azúcar resistentes al carbón (*Ustilago scitaminea* Syd) mediante inducción de mutaciones con rayos gamma sobre esquejes, estas plantas mostraron buenas características de rendimiento y adaptación a diferentes ambientes. Al inducir mutagénesis con rayos gamma y EMS obtuvieron una cantidad significativa de variabilidad genética para varios rasgos cuantitativos en comparación con el control en la generación V2.

Mutagénicos físicos.

Valarezo (2015), manifiesta que en los últimos años se ha incrementado el uso de las radiaciones sobre los mutágenos químicos. Los principales tipos de radiación son los Rayos X; Radiación Gamma: $^{137}\text{Cesio}$ y $^{60}\text{Cobalto}$, son las principales fuentes utilizadas en trabajos de radiobiología. El $^{137}\text{Cesio}$ es usado en muchas instalaciones teniendo en cuenta que tiene una vida media más larga que el $^{60}\text{Cobalto}$. La radiación ultravioleta tiene limitada habilidad de penetración en los tejidos, por lo que su uso en experimentos biológicos está restringido al tratamiento de esporas o granos de polen. La radiación beta (las partículas beta-electrones) como los isótopos radiactivos fósforo (^{32}P) y azufre (^{35}S), producen un efecto similar a los rayos X o Gamma, pero con más baja habilidad de penetración. Los Neutrones tienen un amplio rango de energía y son obtenidos de la fisión en un reactor nuclear con ^{235}U . Los neutrones han mostrado ser muy efectivos en la inducción de mutaciones en plantas. Las partículas de aceleradores tales como protones, deuterones o partículas alfa, se han utilizado básicamente para estudios fundamentales en la determinación de los efectos radiobiológicos.

Figura 3. Máquina de rayos gamma en los Laboratorios de Investigación y Aplicaciones Nucleares del Ecuador.



Fuente: Autor

La cantidad de energía impartida por las radiaciones ionizantes por unidad de masa, se conoce como dosis absorbida. Su unidad en el Sistema Internacional de medidas es Julio/kilogramo ($J\ kg^{-1}$) y su nombre especial es Gray (Gy). Un gray significa la absorción de un Julio de energía en forma de radiación ionizante por un kilogramo de materia (Lagoda, 2012).

La radiación puede inducir inestabilidad genómica en células, la cual es transmitida a su progenie a través de generaciones de replicación celular con efectos genéticos en generaciones posteriores tales como mutaciones y aberraciones cromosómicas. En este sentido se debe tener en cuenta que la exposición a altas dosis de radiación puede inducir varios eventos mutacionales por célula, con el riesgo creciente de que una mutación favorable sea acompañada por cambios genéticos no deseables (Otaola *et al.*, 2001). Por otro lado, Caro-Melgarejo *et al.*, (2012) exploraron técnicas alternativas como la aplicación de radiación ionizante, con el objeto de inducir alteraciones cromosómicas en yemas axilares de *P. peruviana* aplicando dosis de 50, 100, 200 y 300 Gy, con la finalidad de ampliar la variabilidad genética y obtener plántulas con características fenotípicas favorables. El mayor porcentaje de células con alteraciones cromosómicas se cuantificó en ápices radicales de plántulas regeneradas de yemas irradiadas con 200 Gy.

Otra vía para la obtención de nuevas variedades de *P. purpureum* fue la irradiación de la semilla agámica con rayos gamma, provenientes de una fuente de ^{60}Co . La primera etapa consistió en la obtención de las curvas de radiosensibilidad, que permitieron establecer la dosis de irradiación para obtener mutantes (Herrera, 2015).

Al respecto, el cultivo de tejidos constituye una valiosa herramienta para el estudio o la investigación de especies de reproducción vegetativa, ya que facilita la regeneración masiva de plantas fieles al tipo y con ello la producción, conservación *in vitro* y el mejoramiento de recursos

fitogenéticos, así como también la aplicación de mutagénesis in vitro para la producción de nuevas variantes o mutantes con características de interés agrícola (Pardo *et al.*, 2015).

Mutagénicos químicos.

Existe una serie de sustancias químicas capaces de producir mutaciones, entre las cuales se pueden citar: análogos de bases de DNA, antibióticos, agentes alquilantes, azidas, hidroxilaminas, ácido nitroso, acridinas. De los grupos de mutagénicos anteriormente mencionados, el más importante es el de los agentes alquilantes, donde se encuentra el etil metano sulfonato (EMS). Los mutagénicos químicos pueden ser clasificados en cuatro grupos (Tulmman, 1986).

Análogos de bases

Estos compuestos están estrechamente relacionados con las bases adenina, guanina, citosina o timina y pueden ser incorporados al DNA sin impedir su replicación. Sin embargo, puesto que el análogo difiere de la base normal en ciertos sustituyentes, su estructura electrónica se modifica y puede esperarse que los errores ocasionales de apareamiento ocurran en el momento de incorporación en DNA o en el momento de repetición de DNA después de que el análogo ha sido incorporado. Los análogos más utilizados son el 5-bromo-uracil (BU) y 5-bromo-deoxyuridine (BudR), los cuales son análogos de timina y 2-amino-purina (AP), el cual es un análogo de timina (JOINT FAO, 1977).

Los análogos de bases son de poca importancia para la aplicación práctica ya que para las cepas industriales, que son poco conocidas genéticamente, puede ser bastante costoso establecer las condiciones óptimas para la mutagénesis. Por ejemplo, la incorporación de 5-bromouracilo en el DNA tiene lugar sólo si el organismo está creciendo en condiciones de deficiencia de timina. Por tanto se utilizan auxotrofos de timina, lo que puede dar lugar a una producción reducida de la sustancia que se desea (International Atomic Energy Agency, 1977).

Ácido nitroso (HNO_2)

Su efecto es aminorar la adenina a hipoxantina y la citosina a uracilo. Debido a las distintas propiedades de apareamiento de los productos de deaminación (hipoxantina se aparea con citosina; uracilo con adenina) se producen transiciones AT— GC y/o GC —AT. Es usado en soluciones buffer pH 5 (Pardo *et al.*, 2015)

Hidroxilamina (NH_2OH)

Reacciona con la citosina donde el grupo amino es reemplazado por un grupo hidroxilamino. Este derivado de la citosina se aparea con adenina produciéndose transiciones GC-3AT. Produce aberraciones cromosómicas en plantas. (Caro *et al.*, 2006).

Agentes intercalantes

Las acridinas y el bromuro de etidio son moléculas planas que se insertan entre dos pares de bases del DNA, separándolas entre sí. Durante la replicación, esta conformación anormal puede conducir a microinserciones o microdeleciones en el DNA, originando mutaciones por corrimiento de lectura. (Caro *et al.*, 2006).

Aunque las acridinas son útiles en investigación, no son muy adecuadas para el aislamiento rutinario de mutantes durante el desarrollo de cepas, ya que tienen poco o ningún efecto mutagénico en bacterias (JOINT FAO, 1977).

Agentes alquilantes

Los agentes alquilantes son los mutagénicos más potentes para aplicaciones prácticas. Los compuestos más utilizados son el etil metano sulfonato (EMS), metil metano sulfonato (MMS), dietil sulfato (DES), diepoxi butano (DEB), N-metil-N-nitro-N-nitrosoguanidina (NTG), N-metil-N-nitroso urea y gas mostaza (Tulmman, 1986).

Estos agentes se caracterizan por ser uno de los grupos más importantes de mutagénicos químicos para la inducción de mutaciones en plantas cultivadas. Contienen uno o más grupos alquilantes que pueden ser transferidos a otras moléculas en posiciones donde la densidad de los electrones es suficientemente alta. Todas estas sustancias reaccionan con el DNA por alquilación de los grupos fosfato y también de las purinas y pirimidina. La mutagénesis con agentes alquilantes se produce a través de varias vías ya que originan la formación de un espectro completo de bases alquiladas en el DNA lo cual produce transiciones y deleciones (Jankowicz-Cieslak y Till, 2015).

Estos agentes tienen la característica de ser muy tóxicos cuando reaccionan con el agua, razón por la cual no deben ser almacenados después de ser utilizados. (Chomon, 1972). Un ejemplo claro es el EMS, que cuando reacciona con el agua sufre un proceso de hidrólisis que hace que se divida en dos compuestos muy tóxicos: el ácido metano sulfato y el alcohol etílico. En general, es importante tener en cuenta la forma de manipulación de este tipo de mutagénicos químicos puesto que pueden ser potencialmente cancerígenos, en especial las etilaminas, ya que son muy volátiles (b.p. = 56 °C/760 mm), lo cual hace necesaria la utilización de campanas de vidrio como medio de protección durante la manipulación (Henry *et al.*, 2014).

El etil metano sulfonato (EMS) es considerado el mutagénico químico alquilante más poderoso y más recomendado en el tratamiento de semillas, de fácil aplicación y control de los efectos posteriores. La base genética de las mutaciones provocadas por el EMS tiene que ver con que introduce un metilo en la guanina que ya no se aparea con la citosina provocando la transición GC— AT. Teniendo en cuenta que el EMS es un agente alquilante, este solo reacciona con sustancias polares, una de ellas es el agua. Sin embargo, al utilizar agua se producen ácidos que reducen la eficiencia del agente mutagénico, además puede producir sustancias tóxicas para las células, razón por la cual se hace necesaria la utilización de buffer con pH óptimo. En el caso del EMS el pH debe estar entre 6 y 10 para no producir aberraciones cromosómicas (Chomon, 1972).

En cuanto al grado de infusión del EMS, se ha reportado que este se relaciona con la hidratación previa del embrión, ya que este procedimiento asegura la permeabilidad de la membrana celular y por lo tanto la entrada del mutagénico hacia el interior de la célula (JOINT FAO, 1977).

El uso de agentes mutagénicos químicos presenta una serie de ventajas y desventajas; algunos de los aspectos favorables son el predominio de mutaciones de punto, poco daño a nivel cromosómico y la producción de mutaciones en altas frecuencias en ciertos sistemas ya conocidos. A cambio, se presentan aspectos desfavorables como la dificultad de penetración en sistemas multicelulares y en el manejo de los agentes químicos debido a que requieren un cuidado especial por poseer propiedades carcinogénicas (Caro *et al.*, 2006).

Tipos de materiales y métodos.

La mayoría de los experimentos de producción de mutaciones son llevados a cabo con especies de propagación por semillas. Estas son embebidas en una solución mutagénica, siendo este el método preferido en la inducción de mutaciones con mutagénicos químicos. Sin embargo, también se pueden tratar tubérculos, bulbos o cormos, brotes, estolones y otros órganos similares por los cuales la planta pueda ser fácilmente propagada (figura 4). Aquí el procedimiento del tratamiento es más complicado y aún no se han logrado resultados completamente satisfactorios (JOINT FAO, 1977).

Los cultivos propagados asexualmente son dicotiledóneos, los cuales tienen tres o más capas de células en el meristemo apical, y desde que la mutación sea de una célula, una mutación somática, generalmente lleva a una quimera mericlinal (JOINT FAO, 1977). El tratamiento debe ser aplicado cuando el primordio consiste en pocas células.

Debe limitarse a los brotes o partes de plantas de las cuales las mutaciones pueden ser aisladas después. La producción de mericlinales, o quimeras seccionales en mutagénesis puede ser evitada por el tratamiento de polen y cigotos. El tratamiento del polen está limitado por la viabilidad en algunas especies. Sin embargo, presenta algunas ventajas como evitar la producción de quimeras y el estudio en algunos experimentos de mutaciones somáticas en el endospermo. Para los cigotos existen referencias sobre el tratamiento con irradiaciones, pero no información sobre el tratamiento con mutagénicos químicos (Caro *et al.*, 2006).

Dosis de rayos gamma y DL₅₀ utilizadas para la obtención de mutantes.

Ángeles-Espino *et al.*, (2013) manifiestan que, durante el proceso de inducción de mutación, los individuos presentan cambios negativos en una frecuencia creciente conforme aumenta la dosis de radiación, por lo que es importante conocer la dosis letal media (DL₅₀), que se determina cuando un carácter manifiesta una disminución del 50 por ciento en su expresión con respecto al tratamiento testigo, pues la radiación absorbida provoca cambios en el ADN y origina mutaciones somáticas, mismas que causan alteraciones en la fisiología de la plántula.

En el caso de semillas, la DL_{50} corresponde a la cantidad de radiación absorbida con la cual sobrevive el 50 por ciento de la población que ha sido expuesta, proporción que se considera como el rango donde se favorece la aparición de mutaciones útiles en los programas de mejoramiento genético (Ángeles-Espino *et al.*, 2013).

Entre las especies de pastos mutantes obtenidas por irradiación con rayos gamma, se encuentran el *Cynodon dactylon* de nombre común grama. La variedad mutante Tifway II, fue identificada con el número 234 de acuerdo al registro en IAEA, originaria de los Estados Unidos, y aprobada oficialmente en 1981. Fue desarrollada por irradiación de rizomas latentes con rayos gamma (90 Gy), y los atributos mejorados principales de la variedad mutante son la resistencia a los nematodos, resistencia a las bajas temperaturas, mejor crecimiento en la primavera, más densa y más césped libre de malezas, cuyo modo de propagación es a través de rizomas, y se usa como forraje (IAEA/MVD 1981).

Otra variedad de *Cynodon dactylon* registrada en la IAEA en 1995 con el número 295 es la Tift 94, obtenida por irradiación con rayos gamma (DL_{50} 80 Gy). Los principales atributos mejorados de la variedad mutante son la calidad del césped, la resistencia a insectos y resistencia a baja temperatura, propagación es a través de rizomas, y se usa como forraje (IAEA/MVD 1995).

Al igual que *Cynodon sp* del mismo nombre común grama es otra variedad mutante registrada en la IAEA en 1983 con el número 237 originaria de los Estados Unidos, la variedad mutante Tifgreen II, fue desarrollada por irradiación de rizomas latentes con rayos gamma (70 Gy). Los principales atributos mejorados de la variedad son el crecimiento vigoroso, césped más denso, nudo de la raíz más vigoroso, modo de propagación rizomas, y se utiliza como forraje (IAEA/MVD 1983).

El pasto rosado (*Melinis repens* Willd.), es una gramínea nativa de Sudáfrica, la radiación gamma en la semilla modificó algunas plantas de este pasto con una DL_{50} de 304 Gy. Todos los M_1 presentaron variabilidad morfológica y nutricional con respecto a los M_0 en alguna de las etapas fenológicas. En específico, el pasto mutante R250-10 fue el que presentó modificaciones deseables en atributos morfológicos y nutricionales de interés agronómico con respecto al M_0 (Corrales 2019).

Irradiación aguda versus crónica.

La frecuencia de mutaciones inducidas por la radiación ionizante en un genoma parece ser directamente proporcional a la dosis. Se pueden esperar diferentes resultados dependiendo de si las mutaciones inducidas son causadas como un evento de un solo golpe, como una deficiencia o delección cromosómica simple, o si aparecen como mutaciones puntuales resultantes de varios eventos de un solo golpe distribuidos por todo el genoma. Por lo tanto, existe la necesidad de sopesar la necesidad de dosis altas durante un período corto versus dosis bajas durante un tiempo más largo. Kovalchuk *et al.* (2000) observaron una fuerte y significativa correlación entre la frecuencia de recombinación homóloga (HR) en las plantas, la radioactividad de las muestras de suelo y las dosis de radiación absorbidas por las plantas.

Las exposiciones que continúan durante largos períodos de tiempo (generalmente semanas, meses o años) se denominan “crónicas”, las exposiciones administradas en minutos o unas pocas horas se denominan “agudas”. Casi cualquier fuente de radiación puede usarse para exposiciones agudas. Una comparación de irradiación aguda versus crónica generalmente implica una comparación de tasas de dosis altas versus bajas y/o radiactividad alta versus baja para emisores gamma.

Se han realizado estudios comparativos sobre los efectos de las dosis agudas y crónicas de rayos X y rayos gamma en términos de crecimiento, supervivencia, fertilidad, y rendimiento e inducción de mutaciones después de la exposición de semillas y plantas. La irradiación aguda de las semillas podría ser más efectiva para inhibir el crecimiento y disminuir la supervivencia y la fertilidad debido a los fenómenos de recuperación a bajas intensidades de irradiación con irradiación crónica.

Tratamientos de irradiación recurrente.

El procedimiento de irradiación recurrente (material vegetal irradiado que ya ha sido irradiado en una o más generaciones anteriores) se ha propuesto como un método para acumular y expandir la variabilidad genética que se utilizará en el fitomejoramiento. Se han elegido estrategias apropiadas en la inducción de mutaciones como la aplicación de dosis fraccionadas y la irradiación recurrente combinada con técnicas de cultivo in vitro para evaluar su aplicabilidad económica en plantas ornamentales.

Se sabe que los agentes físicos y químicos causan diferentes tipos de mutaciones. Por eso, los tratamientos recurrentes que utilizan varios mutágenos químicos como el metanosulfonato de etilo (EMS) o la hidroxilamina (HA) por separado en una combinación o alternativamente asociados con mutágenos físicos como los rayos X y también la combinación de luz UV y rayos X también se han investigado en varias plantas (Chopra, 2005).

Factores que afectan la efectividad y eficiencia de los mutagénicos.

La respuesta de las plantas ante el tratamiento con mutagénicos físicos o químicos se ve afectada por varios factores biológicos, medio ambientales y químicos. Estos factores modifican la efectividad y eficiencia de los mutagénicos en las células de las plantas (Gaul *et al.*, (1972).

Edad de las semillas

En el momento de evaluar el efecto de la radiación, este aspecto es muy importante. ya que las semillas envejecidas presentan baja germinación y crecimiento de las plántulas y aumentan la frecuencia de mutaciones espontáneas y de aberraciones cromosómicas. En cuanto a las semillas de arroz, en buenas condiciones de almacenamiento pueden permanecer viables hasta un año (Caro *et al.*, 2006).

Contenido de agua

Es un factor que se debe tener en cuenta especialmente cuando se trabaja con semillas. Su importancia radica en el hecho de que el agua es un factor regulador que determina la influencia relativa de otros factores en respuestas biológicas y tratamiento con radiaciones. El agua sirve como medio de difusión de los productos de irradiación, como radicales libres, regulando las actividades metabólicas de las células. Al comparar semillas secas y semillas hidratadas, se revela que las últimas presentan mayor sensibilidad. Según estudios realizados en la irradiación de semillas de arroz se ha demostrado que la radiosensibilidad de estas semillas aumenta cuando su contenido de agua es mayor al 15% (Tulmman, 1986).

La influencia de la hidratación está relacionada probablemente con la iniciación y el desarrollo de procesos metabólicos, porque el agua rompe la dormancia de las semillas y aumenta la actividad metabólica que se modifica con la irradiación, causando mayor efecto biológico en las semillas hidratadas. El contenido de humedad de las semillas utilizadas en la inducción de mutaciones en arroz es del 12 al 14% (Van Harten, 1998).

Estado nutricional

La ausencia de algunos elementos esenciales en las semillas o plantas pueden alterar la radiosensibilidad. Como se ha observado en diversos estudios realizados con semillas de arroz cultivadas en un medio deficiente de fósforo, hay un aumento de la radiosensibilidad y la frecuencia de mutantes clorofílicos en plantas M₂ (Tulmman, 1986).

Oxígeno

Numerosos trabajos han demostrado la gran influencia del oxígeno en la radiosensibilidad de las plantas. Esto se debe principalmente a que al ser sometidas las semillas u otras partes de la planta a irradiación, se liberan radicales libres en presencia de oxígeno reaccionan formando diferentes productos químicos que causan daños (Nairy *et al.* (2014).

Temperatura

Es un factor que influye en la radiosensibilidad si no es controlado antes, durante y después del tratamiento. Según algunas investigaciones, en el caso de los cereales la temperatura durante el tratamiento debe ser menor o igual a 20 °C, aumentando la radiosensibilidad cada vez que se aumenta 1 °C (Caro *et al.*, 2006).

El tratamiento con calor antes y después de la irradiación reduce el daño en las semillas, dado que aumenta la movilidad de los radicales libres produciendo combinaciones de tipo radical-radical y excluyendo interacciones radical-oxígeno altamente dañinas. Sin embargo, el tratamiento con bajas temperaturas disminuye la movilidad de los radicales libres y, por tanto, su interacción con el oxígeno (Tulmman, 1986).

Almacenamiento

Cuando se almacenan semillas irradiadas por periodos prolongados de tiempo, los efectos biológicos de las irradiaciones en plantas germinadas aumentan. Sin embargo, estos efectos están en estrecha relación con condiciones tanto internas como externas del material, como el contenido de agua de las semillas, concentración de oxígeno y temperatura (Caro *et al.*, 2006).

Dosis

De acuerdo con el tiempo de irradiación la dosis puede ser clasificada en aguda si el tiempo de irradiación es corto y crónica si el tiempo de irradiación es largo. Con la dosis crónica se han observado menos daños fisiológicos que con la dosis aguda.

Sin embargo, en un trabajo realizado con semillas secas de arroz que fueron irradiadas con dosis de 5-30 KRad de rayos gamma con una tasa de dosis de 10 Rad/h, 10 KRad/h y 30 KRad/h, las semillas con mayor tasa de dosis mostraron mayor radiosensibilidad (Kawai, 1962).

Factores que influyen en la quimiosensibilidad.

En el tratamiento con mutagénicos químicos es importante tener en cuenta factores similares a los de la irradiación, como el estado nutricional, la edad de las semillas, la temperatura y la dosis; sin embargo, la influencia de algunos de ellos es diferente. A su vez se encuentran factores adicionales como la pre-imbibición, el pH de la solución mutagénica, los iones metálicos y los efectos posteriores (JOINT FAO, 1977).

Temperatura

La temperatura de la solución mutagénica tiene una gran influencia en la mutagénesis química, puesto que el promedio de difusión del químico es muy poco al ser afectado por la temperatura.

Teniendo en cuenta que el promedio de hidrólisis decrece a bajas temperaturas, un mutagénico puede estar estable por más tiempo. Sin embargo, se recomiendan tratamientos cortos (0,5-2 h) a temperatura de 20-25 °C para semillas que han sido embebidas por diferentes tiempos y temperaturas. Estas condiciones facilitan la absorción del mutagénico incrementando la actividad metabólica de las semillas y mejora el promedio de reacción entre el químico y el material genético (Caro *et al.*, 2006).

Dosis

La dosis, en términos de aplicación de un mutagénico a una planta, no está definida. Esta depende de la cantidad del mutagénico, de la concentración y del tratamiento o del tiempo de vida del compuesto. La dosis requerida para un experimento en particular depende de los efectos deseados y puede ser restringida por los efectos indeseados del tratamiento (Caro *et al.*, 2006).

Las dosis recomendadas por el manual Mutation Breeding para el tratamiento mutagénico en cereales son: en el caso del EMS dosis de 0,05 a 0,3M o de 0,3 a 1,5%; para el dES dosis de

0,015M a 0,02M o de 0,1 a 0,6%; para el ENH y el MNH dosis de 1,2 a 14 mM o de 0,01 a 0,03% y para el NaN³ dosis de 0,001 a 0,004 M (Caro *et al.*, 2006).

Pre-imbibición

Al ser embebidas, las semillas presentan cambios importantes. Estos cambios también dependen de las condiciones de imbibición (duración, temperatura y solución) y del tipo de semilla (Lagoda, 2012).

Uno de los principales fenómenos observados es la transferencia de sustancias solubles en agua a las semillas. Estas sustancias incluyen metabolitos libres e inhibidores de germinación. Otra fase en el proceso de imbibición es la hidratación de las membranas celulares y macromoléculas. Esta fase parece depender de la temperatura y la iniciación se relaciona estrechamente con las capacidades metabólicas de los sistemas bioquímicos celulares. Probablemente más tejidos de esta pueden ser hidratados a una temperatura que inhiba la actividad metabólica y especialmente la división celular relativa a la hidratación del sistema (Valarezo, 2015).

Según lo reportado por varios trabajos, uno de los primeros puntos de sensibilidad está relacionado con la síntesis de DNA y el segundo con ciertos productos metabólicos que tienen efecto sensibilizante lo cual indica que las células están entrando a la síntesis de DNA.

pH de la solución mutagénica

Algunos mutagénicos producen ácidos fuertes como productos de hidrólisis en la solución mutagénica. Dentro de las células estos ácidos producen daños fisiológicos que pueden ser reducidos con el uso de buffers. Está reportado que el promedio de mutaciones genéticas y de aberraciones cromosómicas aumenta con el incremento del pH de la solución del EMS, por lo tanto, este debe encontrarse entre 6 y 10 (Rossi *et al.*, 2009).

Efectos posteriores

La manipulación de las semillas después del tratamiento hasta la iniciación del crecimiento puede alterar drásticamente la eficiencia mutagénica. Los factores más importantes son la duración y la temperatura del almacenamiento de las semillas tratadas. Las semillas posteriormente lavadas y secas pueden ser almacenadas entre 0 y 4 °C por largos periodos de tiempo sin alteraciones en los efectos mutagénicos (Caro *et al.*, 2006).

Efecto de los tratamientos con mutagénicos.

En un tratamiento con mutagénicos, tanto físicos como químicos, se pueden obtener tres clases de mutaciones: mutaciones génicas, cromosómicas y extra nucleares. Otro de los efectos que se puede obtener por medio de estos tratamientos, de gran interés en genética y en el mejoramiento de plantas, son los llamados efectos fisiológicos (Babaei *et al.*, 2010).

Cualquiera de las tres mutaciones puede ser transferida de la generación M_1 a las siguientes generaciones, mientras que los efectos o daños fisiológicos son generalmente limitados a la M_1 . Las mutaciones génicas no pueden ser observadas en la M_1 y las cromosómicas pueden ser observadas a través de análisis citológicos. Los efectos fisiológicos son cambios que pueden ser determinados citológicamente o medidos en un determinado órgano o en la reacción de todo un organismo. Estos efectos dependen de las dosis, donde los efectos fisiológicos constituyen un límite práctico para el aumento de las mismas (Babaei *et al.*, 2010).

Los cambios producidos en la M_1 pueden ser medidos cuantitativamente de varias maneras: altura de plántulas, disminución de la longitud de la raíz, germinación en condiciones de laboratorio o emergencia en condiciones de campo, sobrevivencia, número de espigas por planta, número de flores por espiga, número de semillas por espiga y frutos o semillas por planta (3). Otro tipo de efecto importante es la presencia de puntos blancos en las hojas y quimeras deficientes de clorofila, en forma de manchas o líneas, en plántulas M_2 (Caro *et al.*, 2006).

Altura de la plántula

La altura de la plántula representa un método rápido y simple para determinar el efecto de un tratamiento mutagénico en semillas de muchas especies de plantas. (5). Las semillas son tratadas con dosis crecientes de mutagénico y colocadas para germinación en cajas de madera o en cajas de petri con papel filtro. La medida de la altura se lleva a cabo cuando la primera hoja cesa su crecimiento (entre 10 y 14 días). En algunas. días antes, se deben tomar medidas para determinar cuándo para de crecer la hoja (Rossi *et al.*, 2009).

Sobrevivencia

Por lo general, las plantas sobrevivientes son contadas cuando se cosecha la generación M_1 . En muchas especies de plantas, las sobrevivientes pueden ser definidas como las plantas que producen por lo menos una espiga o inflorescencia (Caro *et al.*, 2006).

En el caso de no disponer del tiempo para esperar hasta la cosecha de la M_1 , una alternativa es hacer un experimento preliminar (cuatro semanas) para realizar el conteo de los sobrevivientes y la selección de dosis. En algunas especies se ha demostrado que existe cierta correlación entre la altura de la planta y la sobrevivencia de una población (Valarezo, 2015).

Emergencia

La emergencia es uno de los parámetros más evidentes cuando se trata de evaluar la eficiencia de mutagénicos en condiciones de campo, a diferencia de la germinación, parámetro evaluado en condiciones de laboratorio. Se contabiliza como el número de semillas con la capacidad de salir del suelo en un tiempo determinado y generalmente presenta reducción en respuesta a los tratamientos mutagénicos (Babaei *et al.*, 2010).

Manchas o líneas en las hojas

Este fenómeno consiste en la aparición de manchas o franjas cloróticas, y se ha podido comprobar que su frecuencia depende de la dosis. Es de gran importancia para los investigadores, ya que demuestra una estrecha relación con los efectos mutagénicos (Pardo *et al.*, 2015).

Aunque este fenómeno es importante en estudios sobre inducción mutagénica, el origen de manchas no es exactamente conocido, sin embargo se ha demostrado que existe relación entre las manchas cloróticas o líneas en las hojas de plántulas en la M₁ y las plantas de clorofila en la M₂ (Caro *et al.*, 2006).

Efectos citológicos

Algunos efectos generados de los tratamientos con mutagénicos pueden ser observados citológicamente. Modificaciones bien definidas se denominan mutaciones cromosómicas y pueden ser identificadas en meiosis y mitosis (Rossi *et al.*, 2009).

Mutantes clorofílicos

El término mutante clorofílico no es muy aceptado dado que los bloqueos en la síntesis de clorofila son mínimos, por lo cual se prefieren denominar como mutantes en la coloración de la hoja (Babaei *et al.*, 2010).

El empleo de los mutantes clorofílicos o mutantes en la coloración de la hoja, ha sido significativo debido a la facilidad de reconocimiento y clasificación. Con relación a la clasificación, los principales tipos de mutantes de clorofila son: albina (planta blanca), viridis (planta verde claro), xanta (planta amarilla), estriata (planta con líneas longitudinales de blanco y verde normal) y maculata (planta con manchas blancas y verde normal) (Caro *et al.*, 2006).

Un incremento de la dosis de irradiación o concentración de mutagénico químico produce un aumento en la mutación de la clorofila. Cuanto mayor sea la frecuencia de mutaciones de clorofila, mayor será la oportunidad de detección y selección de otras mutaciones de interés económico. De lo anterior surgen dos conceptos importantes: efectividad y eficiencia mutagénica (Caro *et al.*, 2006).

La efectividad mutagénica se refiere a la producción de mutaciones por dosis de mutágeno; la eficiencia mutagénica, a la producción de mutaciones deseables o útiles, con relación a las indeseables, definida como la relación entre mutaciones clorofílicas y letalidad, daño, esterilidad o mutaciones cromosómicas.

Existen varios métodos para evaluar la frecuencia de mutaciones en plantas, sin embargo, diferentes estudios sugieren que el más correcto estadísticamente es calcular el número de mutantes por 100 ó 1.000 plantas en la M₂ de arroz durante la división celular (Pardo *et al.*, 2015).

Mejoramiento de caracteres de importancia por mutaciones

Las estrategias utilizadas para seleccionar y mejorar las características deseables y específicas en un programa de fitomejoramiento varían con las especies de plantas, el ambiente donde se van a cultivar, los métodos de cultivo disponibles y la utilidad y demanda del producto final.

Los objetivos de un programa de mejoramiento por mutación son básicamente los mismos que los de cualquier otro método de mejoramiento. Las ventajas son que el mejoramiento por mutación apunta a mejorar un genotipo élite generalmente para un solo carácter (mejor rendimiento, calidad, resistencia al estrés, agronomía, etc). La inducción y detección de mutaciones deseadas son un medio acelerado de alcanzar la variedad superior (Bado *et al.*, 2015). En teoría, todos los caracteres genéticos pueden ser el objetivo del mejoramiento por mutaciones y en este apartado, intentaremos mostrar la amplia gama de variedades mutantes que se han producido en muchos cultivos y caracteres, en todo el mundo.

Mejora del rendimiento

Alto rendimiento potencial y estable en un amplio rango de condiciones ambientales es probablemente el objetivo más importante de la mayoría de los programas de fitomejoramiento. El rendimiento es un carácter complejo fuertemente influenciado por otros objetivos de mejoramiento, como la arquitectura de la planta, la madurez, la eficiencia de la utilización de nitrógeno, la resistencia al estrés biótico y abiótico, etc. Es difícil utilizar el mejoramiento por mutación para mejorar el potencial de rendimiento de los cultivos que están bien establecidos y que han sido objeto de mejoramiento intenso y refinado durante largos períodos de tiempo.

A pesar de la dificultad de detectar mutantes de rendimiento, no hay dudas acerca de su existencia y se han liberado una serie de variedades mutantes con incrementos en este carácter. Las mutaciones positivas de rendimiento se forman a baja frecuencia, quizás entre 1/1000 y 1/500 de plantas en una población M₂ (Saeed y Hassan, 2009). Por lo tanto, cuando se planifica la inducción de mutaciones para mejorar el rendimiento, se necesitan grandes poblaciones para aumentar la probabilidad de encontrar mutantes.

Dado que el rendimiento está muy influenciado por las fluctuaciones ambientales, uno no puede esperar reconocer mutantes de rendimiento mediante la observación de plantas individuales. Los métodos de selección merecen más atención en comparación con los caracteres cualitativos. El método de selección para un carácter como el rendimiento se complica aún más por el hecho de que los mutantes espontáneos o inducidos pueden reaccionar de manera diferente del genotipo materno a los cambios ambientales. Sin embargo, los cambios en las interacciones genotipo x ambiente pueden utilizarse en el cultivo práctico de los cultivos. Si, por ejemplo, los cambios ambientales están representados por la ubicación o el nivel de aplicación de nitrógeno, el problema es cómo elegir aquellos mutantes que compiten mejor por la ubicación dada o por un nivel particular de fertilizante. Otro punto importante es el de la competencia entre

plantas. La mayoría de los genotipos se cultivan como materiales homogéneos y no compiten con otros genotipos. Por lo tanto, el examen debe hacerse con esto en mente. Por ejemplo, si se cultiva una variedad de plantas altas de tipo silvestre junto con plantas semi-enanas inducidas, estas últimas estarán sombreadas, pero esta interacción nunca ocurrirá en condiciones agrícolas normales donde a menudo un cultivar semi-enano tiene una ventaja de rendimiento.

Hay dos métodos de selección diferentes para mutantes con rendimiento mejorado. En el primer método, se seleccionan y aíslan mutantes para caracteres cualitativos. Su capacidad de rendimiento se prueba en generaciones posteriores. La idea detrás de este método es que algunos genes para caracteres cualitativos pueden exhibir un efecto pleiotrópico positivo sobre el rendimiento, o que los cambios en dichos genes pueden estar relacionados con otras mutaciones que afectan el rendimiento. El método ha dado resultados positivos en muchos casos. Como ejemplo, deben mencionarse los mutantes erectoides en la cebada. El carácter de erectoides está asociado con un alto rendimiento en algunos casos, especialmente con alta fertilización con nitrógeno, sin embargo, el método tiene claras limitaciones. Este carácter erectoide se rige por muchos loci en los que pueden ocurrir mutaciones, y no todos están asociados con una alta productividad. Según el razonamiento general, se debe esperar que el rendimiento esté gobernado por muchos loci, cada uno de los cuales tiene un efecto relativamente pequeño. Sin embargo, no todos pueden asociarse con cambios cualitativos visibles en el fenotipo.

El segundo método de selección es directo y, por lo tanto, considera las limitaciones mencionadas anteriormente. Es análogo a los métodos de selección aplicados en poblaciones derivadas del cruzamiento; el procedimiento de selección comienza con la prueba de la progenie de plantas individuales. Dado que se necesitan grupos de plantas para detectar mutantes de rendimiento, las pruebas de progenie solo pueden comenzar en las familias M_3 lo antes posible.

En el trabajo de mejoramiento práctico en cultivos autopolinizados, a veces puede ser aconsejable retrasar las pruebas de progenie hasta las generaciones posteriores, M_5 o M_6 . En esa etapa, se alcanza un grado bastante alto de homocigosidad (uniformidad), y las familias seleccionadas no necesitan ser re-seleccionadas antes de ser entregadas para pruebas a gran escala en experimentos de campo.

Dado que la influencia del medio ambiente en el rendimiento es tan alta, se deben hacer esfuerzos para minimizar este efecto tanto como sea posible, particularmente en experimentos con progenies de una sola planta. Mediante un gran espaciamiento de la población de plantas a analizar, se pueden obtener suficientes semillas para repeticiones en el experimento con progenies de una sola planta. Los experimentos de este tipo tendrán, en general, un gran número de familias. Para controlar el error experimental se requieren diseños especiales, como el diseño de parcela dividida ampliamente utilizado introducido por Gaul (1964). En este caso, cada parcela incluye una fila de control y filas de prueba de plantas individuales de material no tratado y tratado del mismo genotipo. Todas las medidas se toman en parcelas divididas. Los datos de dicho experimento pueden usarse para construir curvas de distribución para caracteres continuamente variables (Kusaksiz y Dere, 2010).

En cuanto al rendimiento, el objetivo de mejoramiento es casi siempre aumentar la media (selección direccional). Por lo tanto, la mitad izquierda de la curva de distribución tiene poco o ningún interés. Si la capacidad de rendimiento se considera sola, solo son interesantes aquellas familias mutantes que producen más que el genotipo materno. Sin embargo, el valor práctico de una variedad depende del valor de varios caracteres, todo lo cual debe considerarse en un experimento de selección. Este y otros problemas relacionados con la intensidad de la selección son exactamente los mismos en los ensayos de mutación que en el de cruzamiento.

Cuando la selección continúa en las siguientes generaciones, hay más semillas disponibles de cada familia. Por lo tanto, el tamaño de la parcela puede aumentarse y comenzar la repetición, incluidos los experimentos de múltiples localidades, y la detección entre familias puede ser más precisa. Incluso si se puede hacer un experimento con familias M_4 con bastante precisión, no se debe poner demasiado énfasis en los resultados de los experimentos individuales. La razón de esto es, nuevamente, la interacción genotipo \times ambiente. Las interacciones genotipo \times año también son comunes entre las familias derivadas del material tratado con mutágenos. Este tipo de interacción no puede utilizarse en la práctica y debe tratarse como un error experimental. Para una selección posterior, ej.: en M_4 y M_5 , es mejor basar la selección en el rendimiento medio durante dos o más años.

Las declaraciones presentadas hasta ahora se aplican principalmente a las especies de cultivos anuales autopolinizados. En la actualidad, existen muchos menos resultados experimentales y experiencias prácticas con la inducción de cambios mutacionales en la capacidad de rendimiento y otros caracteres cuantitativos para cultivos de polinización cruzada, perennes y propagados vegetativamente. Para especies propagadas vegetativamente, los experimentos de variabilidad del tipo descrito también deberían ser apropiados para el inicio de la selección entre clones.

Adaptabilidad

La amplia adaptabilidad geográfica se ha convertido en un carácter importante para las variedades de cultivos en los últimos años, principalmente en relación con el cambio climático previsto. Un estudio de la FAO (Burke *et al.*, 2009) sobre el cambio en los climas africanos para 2050 y las implicaciones para la mejora de los cultivos, examinó ampliamente la variación tanto en el posible cambio de isoyetas como en la dificultad para identificar “cultivos análogos” que se utilizarán para una mejor adaptabilidad en diferentes regiones.

La insensibilidad al fotoperíodo es un prerrequisito para una amplia adaptabilidad cuando los cultivares se van a cultivar en diferentes localidades y latitudes, y se han informado mutantes insensibles a las diferencias fotoperiódicas. Sin embargo, se logra una gran adaptabilidad, no solo por la respuesta fotoperiódica, sino que se requiere que la variedad responda o permanezca neutral a una serie de otras condiciones ambientales. Por lo tanto, está relacionado con muchos caracteres fisiológicos, incluidos los relacionados con la biología reproductiva. Las variedades mutantes de trigo durum mostraron una adaptabilidad más amplia que su variedad madre,

especialmente en regiones donde la fertilidad del suelo y los recursos hídricos no fueron factores limitantes (Donini y Sonnino, 1998). Los mutantes en proyectos de mejoramiento práctico deben probarse en diferentes lugares y condiciones ambientales. Uno de los usos potenciales más prometedores de las mutaciones inducidas es romper las barreras en los límites exteriores de la adaptabilidad de una especie. Ya existen varios ejemplos prácticos de esto, p. ej.: Mari, una variedad mutante de cebada (Xia *et al.*, 2017). Por lo tanto, la cebada ahora se puede cultivar en temporada corta en Escandinavia y en regiones ecuatoriales con días cortos. También su cultivo se extiende desde lugares bajo el nivel del mar hasta los Andes altos.

Tipo de planta, hábito de crecimiento y arquitectura

El mejoramiento por mutación se usa con frecuencia para alterar la arquitectura de la planta. Este carácter incluye varias variables fenotípicas como la altura de la planta (es decir, la longitud del tallo de los cereales), tipo de planta, hábito de ramificación (por ejemplo, número de macollos), tamaño, número, forma y orientación de las hojas, caracteres del estolón, tamaño y número de flores. Los principales ejemplos son mutantes que poseen una altura reducida de la planta, que generalmente tienen efectos positivos en el aumento del rendimiento al reducir el acame y aumentar la macolla. Uno de los usos más exitosos de las mutaciones en la altura de las plantas es el despliegue del semi-enanismo en los cultivos anuales de cereales, ej.: genes *rht* (altura reducida) en trigo, *sdw* en cebada y *sd1* en arroz. El gen mutante *sd1* del arroz produce tallos cortos y rígidos, lo que también confiere mayores rendimientos de grano a través de una reducción en el acame y una mayor movilización de recursos hacia el grano.

Tolerancia a estreses abióticos

Los estreses abióticos consideran varias condiciones ambientales desfavorables, como la salinidad del suelo, la sequía, el pH extremo, las inundaciones y el mal tiempo. Los enfoques utilizados en el mejoramiento por mutaciones de plantas para tales caracteres son a menudo bastante simples. Recientemente, se han reportado dos líneas de arroz tolerantes a la sal inducidas con haces de iones de carbono y neón (Abe *et al.*, 2007).

Aunque se desconocen muchos de los mecanismos fisiológicos de la tolerancia abiótica, la amenaza del calentamiento global y el cambio climático obliga a nuevos enfoques para adaptar los cultivos a entornos fluctuantes. Se han generado enormes cantidades de genotipos potencialmente útiles a partir de la investigación de mejoramiento por mutación y programas de mejoramiento y están disponibles en colecciones de germoplasma, p. ej.: tolerancia al frío, calor, duración del día y sequía, disponible en China, Japón, EE. UU., etc. (<http://mvd.iaea.org>).

Hasta ahora, los métodos de mejoramiento por mutación se han utilizado solo en un grado muy pequeño para desarrollar variedades con tolerancia a la baja temperatura, calor, sequía y salinidad del suelo. Por lo tanto, se proporciona una breve revisión de los resultados de los métodos de mejoramiento convencionales y cierta información sobre las bases genéticas de la tolerancia.

Sequía

El cambio climático es responsable no solo del aumento de la temperatura global sino también de los aumentos o disminuciones de las precipitaciones en regiones específicas. La escasez de agua tiene un impacto negativo en la producción agrícola y esto es particularmente grave en los países en desarrollo. Las plantas de los cultivos no pueden crecer sin agua, es esencial para todas las etapas del desarrollo del cultivo, desde la germinación hasta el crecimiento vegetativo y los períodos reproductivos (desarrollo de frutos y semillas). Los cambios en las precipitaciones (duración y tiempo) pueden afectar todas las etapas de la producción en todas las regiones climáticas, áridas, templadas, tropicales, etc.

Salinidad

Hay dos formas de desarrollar nuevas variedades mutantes con tolerancia a la salinidad. Una es mutar una variedad de alto rendimiento pero susceptible a la salinidad, la otra es mutar una variedad de bajo rendimiento pero tolerante a la salinidad, como una variedad local tradicional cultivada en el área afectada. En tal caso, debido a que es mucho más fácil mejorar el rendimiento agronómico que mejorar la tolerancia a la salinidad, esta última es la mejor opción. Sin embargo, es importante en tal situación elegir cuidadosamente el mutágeno y la tecnología más adecuados para lograr este objetivo específico. El paso final es implementar un método eficiente para la detección y validación de mutantes. Como en todos los programas de mejoramiento por mutaciones, después de la selección, es importante verificar y confirmar si el carácter mutado seleccionado es heredable.

Temperatura

Durante las últimas décadas se ha trabajado mucho en la tolerancia a las bajas temperaturas, particularmente en cereales, papas, frutas y plantas forestales. La base genética de la tolerancia a las heladas es muy complicada y evidentemente no es uniforme entre los diferentes tipos de plantas cultivadas. En la cebada, la tolerancia al invierno está controlada no solo por genes dominantes sino también recesivos, y existe una correlación entre el grado de dominación y la tolerancia promedio al invierno. Según algunos autores, se debe suponer la acción de un sistema poligénico, probablemente complementado por series de múltiples alelos. Además, en el trigo harinero, grupos enteros de diferentes genes son efectivos y muestran una herencia transgresiva. La tolerancia al invierno parece ser dominante en el trigo y obviamente hay una variación en el grado de dominio en relación con los padres utilizados para las hibridaciones. Se ha identificado la acción de siete genes dominantes que influyen en el carácter 'tolerancia a la baja temperatura' en el arroz (*Oryza sativa*) (Cruz *et al.*, 2013).

Otras indicaciones de una amplia variación genéticamente condicionada con respecto a este carácter se observaron en repollo (*Brassica oleracea*), rábano (*Raphanus sativus*), trigo sarraceno (*Fagopyrum spp.*), Guisante (*Pisum sativum*), alfalfa (*Medicago sativa*) y en diferentes especies de lupino (*Lupinus spp.*). Además, debe mencionarse que ciertas papas silvestres y

algunas papas cultivadas primitivas se caracterizan por un grado considerablemente alto de tolerancia al invierno. También se podría encontrar un sistema poligénico en estas especies y la característica 'tolerancia al invierno' se hereda en parte de manera dominante, en parte de manera intermedia. Además, podría demostrarse que los genes que causan una cierta tolerancia a la baja temperatura están incluso presentes en los genomas de plantas cultivadas que crecen en zonas relativamente cálidas de la tierra. Esto puede ser válido con respecto al algodón (*Gossypium sp.*), el tabaco (*Nicotiana sp.*), el maíz (*Zea mays*) y algunas especies de tomates silvestres como el tomate (*Lycopersicon hirsutum* y *L. peruvianum*).

Los primeros resultados, con métodos de mejora genética por mutaciones para el estrés abiótico, fueron la resistencia al frío en la cebada. Las variedades de cebada de invierno se produjeron mediante la aplicación de rayos X a las variedades de verano durante la primera época de la investigación de mutaciones (Van Harten, 1998). Se descubrió que la tolerancia al invierno era un carácter recesivo en este material vegetal. También hay mutantes de avena tolerantes al invierno (*Avena sativa*) que muestran más ácido ascórbico en comparación con sus líneas parentales iniciales, que eran susceptibles a las bajas temperaturas. Se obtuvo una cepa mutante de soya (*Glycine max*) inducida por rayos gamma que puede germinar a una temperatura de 4 °C, mientras que la temperatura de germinación de las variedades de soja normales es de aproximadamente 8 °C (Khan y Tyagi, 2013). No hay duda de que este mutante representará un valioso material básico para desarrollar líneas y variedades que puedan cultivarse en regiones más frías.

Existe una situación comparable en el campo de la tolerancia al calor. Se han seleccionado genotipos tolerantes al calor en varios cultivos. De hecho, este tipo de tolerancia se estudia en detalle a raíz del cambio climático y sus probables efectos en la agricultura.

Tolerancia/resistencia a estreses bióticos

Resistencia a enfermedades

Los estreses bióticos son principalmente enfermedades causadas por hongos, bacterias y virus, y los daños inducidos por insectos, animales, nematodos, malezas y cualquier otra causa biológica. El mejoramiento por mutaciones ha tenido éxito en mejorar la resistencia a las enfermedades, el éxito en la lucha contra la resistencia a las plagas aún no ha llegado a ese nivel. Las enfermedades implican una interacción compleja entre la planta huésped y un patógeno. Por lo tanto, la respuesta de resistencia/susceptibilidad puede involucrar varios componentes. Esto implica que hay muchos objetivos para la mejora de la mutación. Por ejemplo, las mutaciones inducidas pueden cambiar la interacción e inhibir ciertos pasos en el mecanismo de infección. Se han desarrollado numerosos mutantes mediante la inducción de mutaciones, que muestran una mayor resistencia a diversas enfermedades: virus, bacterias y en cierta medida, hongos (Lebeda y Svabova, 2010).

A diferencia de las enfermedades, existe poca interacción entre las plantas hospederas y sus

plagas de insectos, ya que una plaga puede atacar a otras especies de plantas o incluso a diferentes géneros de plantas. Esta interacción depredador - huésped puede explicar por qué hay menos ejemplos de variedades mutantes que porten resistencia inducida para plagas. La tolerancia a los insectos es una reacción cuantitativa y puede incluir características como el vigor de la planta, la capacidad de producir muchos brotes y muchas raíces, así como, la resistencia del tejido del tallo y la evasión poco o ningún crecimiento vegetativo cuando las plagas de insectos son frecuentes. Recientemente, ha habido algún progreso en la identificación de los genes de resistencia al saltamonte marrón de la planta de arroz (Fujita *et al.*, 2013), por lo tanto, es posible inducir mutantes resistentes del arroz de manera eficiente al atacar el(los) gen(es) identificado(s) relacionado con el mecanismo de resistencia. De hecho, este aspecto fue la base del mejoramiento transgénico para el éxito de la resistencia a las plagas, ej.: cultivos OGM portadores del gen de la toxina Bt.

El desafío constante en el mejoramiento de la resistencia a enfermedades y plagas es lidiar y superar el desarrollo de nuevas cepas o biotipos agresivos de los patógenos. Los avances en tecnología molecular y los hallazgos recientes en la clonación de genes de resistencia a las enfermedades (R) deberían permitir la mejora de la resistencia a las enfermedades de los cultivos mediante la aplicación de un enfoque holístico que incluya herramientas tradicionales de mejoramiento, genómica, despliegue transgénico y/o mutagénesis. El descubrimiento de la resistencia genética en las plantas se atribuye a Orton, quien a fines del siglo pasado seleccionó el algodón por su resistencia al marchitamiento causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* según lo citado por Epstein *et al.*, (2017). Para revisiones recientes sobre la genética de la resistencia (huésped) y la patogenicidad (organismo de la enfermedad) (Servin *et al.*, 2015).

Pero como la enfermedad es el producto de una interacción entre el organismo huésped y el organismo patógeno, la variabilidad genética puede expresarse en el primero y en el segundo. En el patógeno, la variabilidad se expresa mediante genes de virulencia o avirulencia cuya diferenciación en un conjunto de variedades diferenciales permite la identificación del fenotipo conocido como “razas fisiológicas” o “patógenas”. Este tipo de interacción se identifica en el huésped como resistencia específica, que en muchos casos ha demostrado tener un valor temporal en el mejoramiento porque el organismo patógeno crea nuevas razas virulentas incluso mientras el obtentor desarrolla nuevas variedades resistentes, lo que crea así un equilibrio dinámico. Por lo tanto, cuando se trata de la resistencia a las enfermedades de las plantas, uno también debe considerar a ambas partes y tener un enfoque holístico que incluya la patología de las plantas y otros campos relacionados. Barah y Bones, (2015) en una extensa revisión de estudios sobre interacciones planta-insecto con diferentes herramientas biológicas, afirmaron que muy probablemente, en un futuro cercano, la combinación de técnicas de fenotipado de alto rendimiento y de alto contenido, herramientas bioinformáticas y datos publicados de estudios ecológicos proporcionarán formas de lograr una comprensión integral a nivel de sistemas de varios aspectos relacionados con las respuestas de defensa de las plantas. Ellos a su vez pueden usarse para desarrollar mejores variedades de cultivos con todas las herramientas de mejoramiento disponibles actualmente, incluida la inducción de mutaciones.

Resistencia a plagas

Desde los albores de la agricultura, los mejoradores y los agricultores han logrado seleccionar y cultivar materiales con varios tipos de resistencia para garantizar el crecimiento y la productividad de las plantas. La contribución de los agrónomos y científicos de suelos ha proporcionado una protección mejorada con el uso de herbicidas y/o insecticidas. Sin embargo, el uso prolongado de estos productos ha afectado el medio ambiente y posteriormente la salud humana. Por lo tanto, el desarrollo de plantas resistentes a los insectos y a los herbicidas se ha vuelto importante para proteger el medio ambiente y la salud humana.

Oerke, (2006) en una extensa revisión declaró que, entre los cultivos, la pérdida potencial global total debido a las plagas varió de aproximadamente 50 por ciento en trigo a más de 80 por ciento en algodón, de 26 a 29 por ciento en soja, trigo y algodón, y de 31, 37 y 40 por ciento en maíz, arroz y papas, respectivamente. El autor también señaló que en general; las malezas produjeron la mayor pérdida potencial (34 por ciento). Las plagas y patógenos animales son menos importantes (pérdidas del 18 y 16 por ciento). Por lo tanto, se orientan mayores esfuerzos en la inducción de mutaciones para abordar las causas que generan mayores pérdidas. Varios mutantes resistentes a los insectos han sido registrados en la base de datos MVD del OIEA: arroz, maíz, frijol negro (*Vigna mungo*), lupino blanco, remolacha forrajera, colza, maíz híbrido y calabaza amarga en China, la Federación Rusia, Vietnam e India, respectivamente (<http://mvd.iaea.org/>).



CAPÍTULO III

INVESTIGACIONES EXPERIMENTALES

INVESTIGACIONES EXPERIMENTALES

Una de las primeras acciones que se deben realizar cuando se utiliza algún agente mutagénico es determinar la dosis media letal, en este caso los rayos gamma; para esto se realizó la siguiente investigación.

Determinación de la dosis letal media de irradiación con rayos gamma en *Eriochloa polystachya* Kunth.

Localización.

Con el objetivo de estimar la dosis media letal se realizaron las actividades en dos localidades. La colecta de los estolones y la siembra de estos post irradiación se llevaron a cabo en la Granja Experimental San Pablo de la Universidad Técnica de Babahoyo, ubicada en el Km. 7.5 de la vía Babahoyo-Montalvo. Las coordenadas geográficas en UTM fueron X: 1,7723946; Y: 79,7102593. La zona presenta un clima tropical húmedo, con una temperatura que oscila entre los 24 y 26 °C, con humedad relativa de 88 %, precipitación promedio anual de 1 262 mm, a una altitud de 8 msnm y 990 horas de heliofanía de promedio anual.

La irradiación con rayos gamma de los estolones de pasto Janeiro con un nudo, se realizó en el irradiador con isótopos ^{60}Co de 11 500 Curies, Modelo 109-68, perteneciente a la Dirección Nacional de Investigación y Aplicaciones Nucleares del Ministerio de Electricidad y Energía Renovable, localizado en Aloag, Pichincha-Ecuador.

Procedimiento experimental.

Para la presente investigación se utilizaron 8 600 estolones de pasto Janeiro colectados en la Granja Experimental San Pablo de la Universidad Técnica de Babahoyo. Estos fueron obtenidos de plantas maduras en la etapa de floración, los estolones tenían en promedio a ocho centímetros de largo e incluyeron un nudo.

Los estolones fueron cortados con tijeras de jardinería y lavados con agua destilada estéril (tres enjuagues). Luego fueron sumergidas en una solución compuesta de azoxistrobina + difeconazole (fungicida) por 15 minutos; luego los estolones se empaquetaron en número de 430, en bolsas plásticas con orificios y se identificaron con cinta adhesiva luego de su respectivo sorteo de aleatorización, se transportaron en una nevera con hielo hasta el sitio donde se realizó la irradiación (Sánchez *et al.* 2018). Los estolones que correspondían al grupo testigo (0 Gy), tuvieron el mismo manejo que los irradiados.

Tratamientos.

Se aplicaron cuatro dosis de radiación: 25, 50, 75, 100 Gy, incluyéndose también la dosis 0 (control). El tiempo de duración desde la colecta de los estolones, transporte ida y vuelta al instituto de irradiación y siembra del material irradiado, fue un total de 28 horas.

Manejo de los estolones irradiados.

Los estolones irradiados se sembraron en platabandas que fueron preparadas con los siguientes materiales: 50 Kg de cáscara de arroz, 50 Kg de viruta de madera, 50 Kg de arena y 150 Kg de tierra suelta y fresca. Todos estos elementos fueron mezclados hasta conseguir una mezcla homogénea (Acosta-Durán *et al.* 2008). Se sembraron 430 estolones por cada unidad experimental y por cada repetición incluyendo el testigo, las platabandas fueron regadas hasta obtener humedad óptima de campo antes de la siembra de los estolones irradiados.

Los estolones fueron sembrados en la platabanda de manera erecta, dejando la yema enterrada a un centímetro de la superficie del suelo aproximadamente. La distancia entre estolones fue de 5 cm y la distancia entre hileras fue de 8 cm aproximados. Los estolones fueron regados con frecuencia de aproximadamente cada tres días, manteniendo siempre húmeda la platabanda. El control de malezas se realizó manualmente cada vez que se requería.

VARIABLES EVALUADAS.

Las variables evaluadas fueron, porcentaje de prendimiento, porcentaje de mortalidad y longitud de planta. Estas variables fueron registradas semanalmente por un tiempo de 30 días.

El porcentaje de prendimiento se determinó aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ prendimiento} = \frac{\text{No. de estolones sembrados} - \text{No. estolones muertos} \times 100}{\text{No. de estolones sembrados}}$$

El porcentaje de mortalidad fue determinado con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ mortalidad} = \frac{\text{No. de estolones sembrados} - \text{No. estolones vivos} \times 100}{\text{No. de estolones sembrados}}$$

La longitud de planta se registró en centímetros y se obtuvo midiendo con una regla milimetrada desde el nivel del suelo hasta la inserción de la última hoja apical del estolón.

Análisis estadístico.

Se utilizó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con arreglo factorial (AxB) con cuatro dosis de irradiación y el testigo sin irradiar (0, 25, 50, 75 y 100 Gy), cuatro momentos de evaluación (8, 16, 22, y 30 días) y cuatro repeticiones.

El modelo aditivo lineal correspondió de la siguiente manera:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha \beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Valor estimado de la variable.

μ = Media general.

α_i = Efecto del i-ésimo tratamiento.

β_j = Efecto del j-ésimo bloque.

$(\alpha \beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el i-ésimo tratamiento y el j-ésimo bloque.

ϵ_{ijk} = Efecto del error experimental en el i-ésimo tratamiento y el j-ésimo bloque.

Los datos correspondientes al prendimiento, mortalidad y longitud de planta, fueron sometidos a un análisis de varianza utilizando el paquete estadístico InfoStat y para determinar la significancia estadística entre las medias de los tratamientos, se aplicó la prueba de LSD Fisher al 0,05 % de significancia. Se realizaron análisis de correlación entre la dosis de irradiación y las variables prendimiento, mortalidad y longitud de planta, para lo cual se utilizó el análisis de regresión con el modelo lineal probit, utilizando el paquete estadístico Statgraphics Centurión XVI. II.

Para el cálculo de la dosis letal media (DL_{50}), se utilizó un modelo lineal generalizado de respuesta binomial con factor de respuesta logit, el cual es un modelo recomendado por la Universidad de California (UCLA 2016).

Este modelo está definido por Logit (Y) = constante + coef*X, donde X equivale a la dosis de radiación utilizada y logit equivale al Log ($P/1-P$), siendo P la proporción de prendimiento. Los modelos Probit son no lineales en los parámetros, por lo cual los estimadores se obtienen mediante el método de máxima verosimilitud.

Resultados y Discusión.

Efecto de la radiación gamma sobre el prendimiento, mortalidad y longitud de planta.

El análisis de los datos mostró diferencias significativas ($p < 0.01$) de las dosis de radiación sobre prendimiento, longitud de planta y mortalidad. Al analizar el efecto de la dosis de radiación absorbida (radio sensibilidad) en el prendimiento (Tabla 3), se encontró que esta variable difiere significativamente ($p < 0.05$) entre los estolones irradiados a 50 Gy; 75 Gy y 100 Gy con el testigo (0 Gy); no difiriendo significativamente ($p < 0.01$) entre los estolones irradiados con 25 Gy. Según estos resultados, se puede apreciar que el prendimiento de los estolones, disminuye con el incremento de la dosis. Resultados similares fueron obtenidos por Valdez *et al.*, (2004), quienes indican que el crecimiento del callo en caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) es afectado por el incremento de la dosis de radiación, ya que el mayor crecimiento de callos se presentó con una dosis de 10 Gy, aunque fue significativamente menor que el de los callos no irradiados, y el crecimiento se redujo más a medida que aumentó la dosis de radiación hasta los 30 Gy. Al igual que en el Janeiro del presente estudio, la tendencia del prendimiento se redujo a medida que aumentó la dosis de radiación, con la dosis de 100 Gy el prendimiento fue de menos del 3 %.

Tabla 4. Promedio de prendimiento, mortalidad y longitud de plantas irradiadas con diferentes dosis de radiación gamma.

Variables	Dosis de irradiación (Gy)				
	0	25	50	75	100
Prendimiento %	85 ^a	88 ^a	65 ^b	6 ^c	3 ^c
Longitud de planta (cm)	16.00 ^{a,b}	17.85 ^a	14.19 ^b	7.84 ^c	7.27 ^c
Mortalidad %	15 ^c	12 ^c	35 ^b	94 ^a	97 ^a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Al analizar el efecto de la dosis de radiación absorbida (radio sensibilidad) en la longitud de planta, no se encontró que esta variable fue afectada significativamente ($p < 0.05$) con las dosis de radiación 25 y 50 Gy; sin embargo, la longitud de la planta si se vio afectada negativamente ($p < 0.05$) al incrementarse la dosis de radiación arriba de 50 Gy como se aprecia en la Tabla 3. La longitud de planta varió significativamente en función del nivel de radiación, esta variable fue afectada negativamente con el incremento de la dosis de radiación. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Ángeles-Espino *et al.* (2013) quienes determinaron en un estudio con irradiación en vitroplántulas de Agave tequilana var. Azul que las dosis de radiación absorbidas tuvieron efecto directo en el desarrollo de las plántulas y en el desarrollo de callos, pues ambas variables presentaron altos índices de reducción con dosis superiores a 30 Gy.

Respecto a la variable mortalidad se encontraron diferencias altamente significativas entre tratamientos ($p < 0.01$); siendo los tratamientos 0 y 25 Gy los que presentaron menor mortalidad con un promedio de 15 y 12 %, respectivamente. La mayor mortalidad se observó en los tratamientos con 75 y 100 Gy con un promedio de 94 y 97 %, respectivamente, lo que muestra que la mortalidad aumenta con el incremento de la dosis de irradiación. En la presente investigación se determinó que la menor mortalidad, se dio en tratamientos con bajas dosis de radiación (0, 25 y 50 Gy), lo que ratifica que la mortalidad aumenta con el incremento de la dosis de irradiación. Estos resultados concuerdan con lo expresado por Songsri *et al.* (2011); Thole *et al.* (2012); Olasupo *et al.* (2016) y Corrales (2017); quienes expresan que, al exponer un organismo a radiación ionizante con dosis bajas, los impactos sobre la estructura celular o del ADN son mínimos; mientras que, con altas dosis, el genoma sufre múltiples impactos y puede ser causa de muerte. Por esta razón, el primer paso para inducir mutagénesis efectiva con radiaciones ionizantes, es determinar la dosis óptima de radiación a través de curvas de radiosensibilidad. Fuchs *et al.* (2002) y Corrales (2017), señalaron que en estas dosis existe mayor frecuencia de mutaciones útiles para programas de mejoramiento genético.

Repuesta del prendimiento, mortalidad y longitud de planta a diferentes fechas de evaluación.

En el Tabla 5. se presentan los resultados del análisis del efecto en el tiempo de evaluación de cuatro fechas después de la irradiación con rayos gamma en estolones del pasto Janeiro. En el prendimiento se puede apreciar que el mayor porcentaje ($p < 0,05$) ocurrió a los 16 y 22 días, mientras que a los 8 y 30 días el porcentaje de prendimiento fue menor ($p < 0,05$). Estos resultados sugieren que el prendimiento de Janeiro requiere por lo menos dos semanas lo que

podría deberse a que los estolones generan a partir de los nudos tanto raíces como parte aérea, lo que demanda movilización de reservas y crecimiento de nuevas células. El menor porcentaje de sobrevivencia a los 30 días es probable que se deba a la baja capacidad de adaptación del estolón a las condiciones experimentales. Otahola-Gomez *et al.* (2001) en los resultados obtenidos para el carácter sobrevivencia en explantes de crisantemos de tres centímetros de largo irradiados con diferentes dosis de rayos gamma evaluados a los 7, 14, 21 y 28 días, observaron que a los 7 días después de la siembra, la dosis 1,5 Krad (15 Gy) y el testigo sin irradiar presentaron el mayor porcentaje de sobrevivencia. Resultados que difieren con este trabajo de investigación al presentar los mayores porcentajes de prendimiento a los 16 y 22 días.

Tabla 5. Promedio de prendimiento, longitud de planta y mortalidad a los 8, 16, 22 y 30 días después de la siembra.

Variables	Días después de la siembra			
	8	16	22	30
Prendimiento (%)	45 ^b	55 ^a	56 ^a	42 ^b
Longitud de planta (cm)	5,1 ^a	9,63 ^b	15,4 ^{bc}	20,3 ^c
Mortalidad (%)	55 ^a	45 ^b	44 ^b	58 ^a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

En lo que respecta a la longitud de planta, en el Tabla 5 se aprecia que existen diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre las fechas evaluadas (8, 16, 22 y 30 días), como se observa la longitud incrementa con el tiempo. En general, se observó que a medida que transcurren los días aumenta la tasa de crecimiento, observándose sin embargo, que el crecimiento de los estolones es muy lento en los primeros días (entre 8 y 16 días), pero después de esa fecha se produce mayor crecimiento. Esto concuerda a lo expresado por Otahola-Gomez *et al.* (2001) quienes indican que al irradiar explantes de crisantemo (*Dendrathera grandiflorum* Ramat) con dosis de 5 a 20 Gy, evaluaron su crecimiento a los 7, 14, 21 y 28 días posteriores a la irradiación, encontraron que a los 7 días no hubo diferencias significativas en el crecimiento entre las dosis de 5 a 15 Gy, con respecto al testigo; en las fechas posteriores el mayor crecimiento se obtuvo con 5 Gy, mientras que con la dosis de 20 Gy el crecimiento se redujo en todas las fechas evaluadas. Además, concuerdan con los de Ángeles-Espino *et al.* (2013), quienes mencionan que con dosis mayores a 20 Gy el crecimiento disminuye de 43 a 71 %, mientras que con 10 Gy no difiere del tratamiento sin irradiar.

Con respecto a la variable mortalidad, se observa que los mayores porcentajes ($p < 0,05$) ocurrieron a los 8 y 30 días, mientras que porcentajes menores fueron observados a los 16 y 22 días. Estos resultados son consistentes con el porcentaje de prendimiento observado. Cortés Conget (2017) al irradiar explantes de *Alstroemeria* spp. con rayos gamma, reporta una mortalidad del 66 y 100 % con una dosis de 105 y 120 Gy. Otro efecto que reportó el mismo autor es un aumento del tejido necrótico en los tratamientos irradiados en comparación con el testigo, lo cual comienza a hacerse visible a partir del día 7 desde que los rizomas fueron irradiados. Estos resultados discrepan con los obtenidos en este estudio, ya que con la dosis de 100 Gy la

mortalidad fue del 97 %, sobreviviendo plantas que se desarrollaron con varias características diferentes, esto resulta beneficioso para la obtención de plantas mutantes.

Dosis letal media (DL₅₀) de irradiación en *Eriochloa polystachya*.

En el cálculo de la DL₅₀, se buscó encontrar la dosis de radiación que lograra una disminución de 50% en el prendimiento de los estolones de *Eriochloa polystachya*. Para la estimación de la DL₅₀ se utilizó el modelo probit, el cual utiliza una función que asume únicamente entre cero y uno, esta función no es lineal y corresponde a la función de distribución acumulada.

Las Ilustraciones 4, 5 y 6 muestran el comportamiento de las variables de prendimiento, mortalidad y longitud de planta de pasto Janeiro. El análisis de regresión aplicado a cada una de las variables determinó que el coeficiente de determinación R² para la variable prendimiento fue de 57,73 (Figura 4), superior a los presentados en las variables de mortalidad con un R² de 55,74 (Figura 5), y longitud de planta con un R² de 28,9 (Figura 6). Con la aplicación de la fórmula de regresión en la variable prendimiento, se calculó la dosis letal media (DL₅₀) dando como resultado un total de 52,6 Gy, considerada como la dosis óptima de irradiación para trabajos de mejoramiento genético en pasto Janeiro.

Figura 4. Estimación de DL₅₀ utilizando un modelo lineal generalizado con estructura binomial y factor de respuesta logit con intervalos de confianza del 95,0%, prendimiento vs dosis de irradiación en pasto Janeiro.

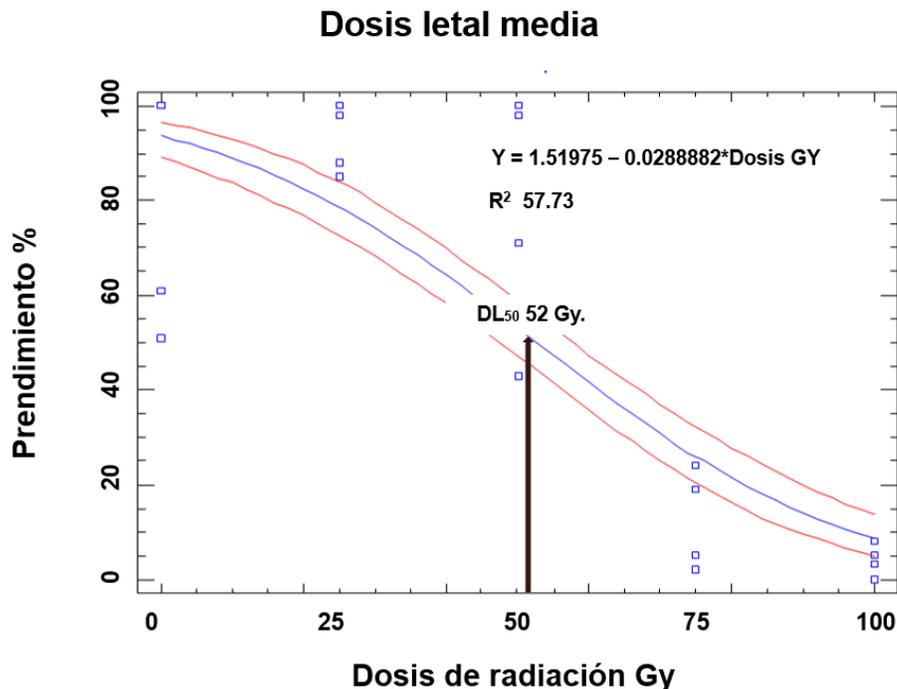


Figura 5. Estimación de DL₅₀ utilizando un modelo lineal generalizado con estructura binomial y factor de respuesta logit con intervalos de confianza del 95,0%, en mortalidad vs dosis de irradiación en pasto Janeiro.

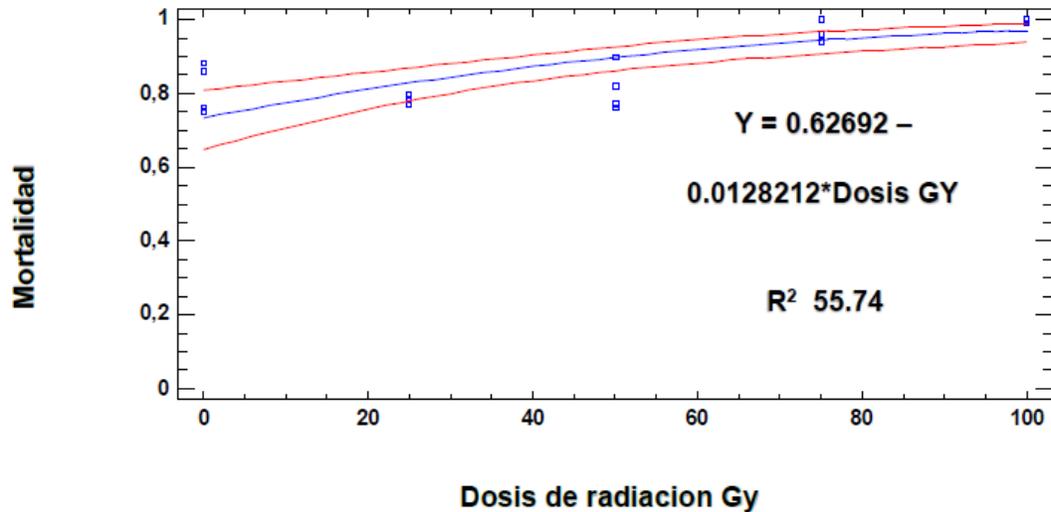
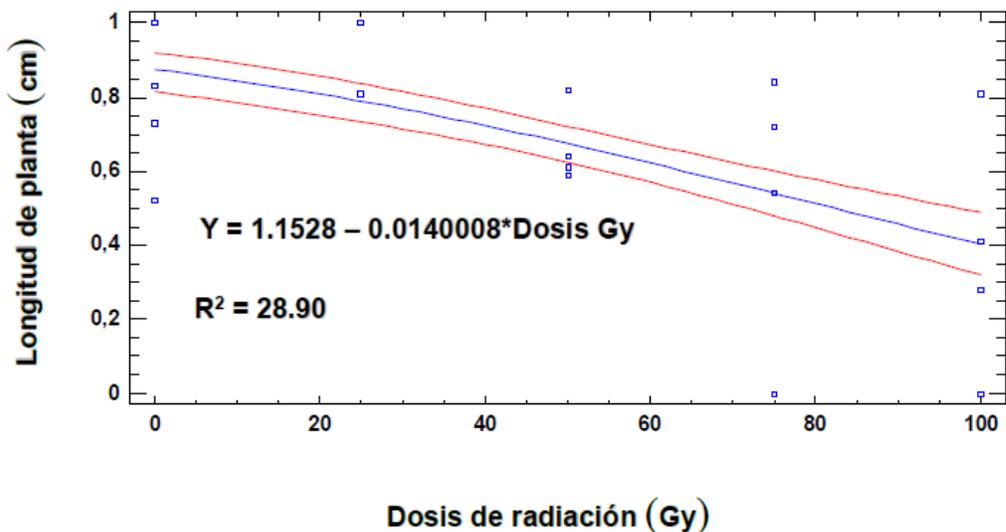


Figura 6. Estimación de DL_{50} utilizando un modelo lineal generalizado con estructura binomial y factor de respuesta logit con intervalos de confianza del 95,0 %, en longitud de planta vs dosis de irradiación.



En la Figura 5, se observa que la mortalidad fue superior al 60 % en todas las dosis de irradiación, con un coeficiente de determinación de $R^2 = 55,74$, cuyo valor estuvo cercano al de prendimiento.

En el análisis de la variable longitud de planta (Figura 6), se aprecia que a medida que aumenta la dosis disminuye la longitud de planta, presentando un coeficiente de determinación de $R^2 = 28,9$. Este valor fue el más bajo comparado con los valores que se obtuvieron en las variables de prendimiento y mortalidad.

La dosis letal media es un método que se utiliza en semillas, mientras el método de la reducción del 50 % de crecimiento (GR₅₀) se utiliza principalmente en plántulas Angeles-Espino *et al.* (2013).

Se utilizó este método de estimación de DL₅₀ para obtener la dosis óptima de aplicación de rayos gamma con fines de mejoramiento genético por sobre la mortalidad, debido a que en los estolones prendidos se estudiaron las mutaciones inducidas por la radiación gamma (Gómez *et al.* 2020a)

Hernández-Muñoz *et al.* (2017) en un estudio sobre la determinación de la DL₅₀ y GR₅₀ con rayos gamma (⁶⁰Co) en protocormos de *Laelia autumnalis* desarrolladas en condiciones *in vitro*, reportaron una DL₅₀ de 53 Gy, e indicaron que el modelo de regresión lineal mostró el un mejor comportamiento para explicar el efecto de la radiación sobre la supervivencia de los protocormos, resultados que concuerdan con los obtenidos en este estudio.

Estos resultados también concuerdan con Valarezo (2015), quien determinó en un estudio de irradiación gamma para meristemas apicales de banano (*Musa spp.*) en el cultivar “Williams” un DL₅₀ en el rango de 55 a 60 Gy.

Resultados similares reporta Reyes (2007) que al exponer variedades de banano (*Musa spp.*) a radiación gamma con ⁶⁰Co encontró la DL₅₀ con 77,9 Gy para Cavendish enano, 83,9 Gy para Williams, 65 Gy para Orito y 77,7 Gy para FHIA-01. Por otro lado, el IAEA reporta una DL₅₀ de 90 Gy para el pasto Tifway II y para Tifgreen II con 70 Gy. Así mismo, Angeles-Espino *et al.* (2013), aplicaron dosis de 10 a 50 Gy a brotes apicales de agave micropropagados, y reportaron una dosis letal media de 30 Gy para la producción de nuevos brotes axilares y de 20 Gy para la disminución en el peso fresco de callo. Por su parte Fuchs *et al.* (2002) indican que dosis entre 40 y 50 Gy incrementan la probabilidad de inducir mutaciones favorables para fines de selección y mejoramiento genético en pastos.

Corrales (2017), determinó la dosis óptima de radiación gamma en semilla de pasto rosado, obteniendo un valor de 304 Gy, dosis que induce mutaciones efectivas en pasto rosado, lo que difiere con las DL₅₀ de la mayoría de los trabajos revisados de material vegetativo.

Gómez-Pando y Eguiluz-De La Barra (2013) mencionan que en especies propagadas por semillas, las dosis de rayos gamma que originan la DL₅₀ son diferentes; en semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) se obtuvo los mejores resultados con una DL₅₀ de 150 Gy. Estos resultados difieren del presente estudio ya que utilizando estolones de pasto Janeiro se obtuvo una DL₅₀ de 52.6 Gy. De acuerdo a estos resultados, probablemente el tipo de material genético que se someta a irradiación puede necesitar mayor o menor cantidad de Gy calculada como DL₅₀.

Por otro lado, también Caro-Melgarejo *et al.* (2012) en un estudio sobre el efecto de rayos gamma sobre yemas vegetativas de *Physalis peruviana* L. concluyen que las plántulas regeneradas de yemas irradiadas y no irradiadas presentaron diferentes respuestas rizogénicas. Durante el primer subcultivo, se observó respuesta rizogénica en dos tratamientos, microtallos desarrollados a partir de yemas no irradiadas e irradiadas con 50 Gy, encontrando 65 % y 3,3 % de explantes con desarrollo radical, respectivamente. En el noveno subcultivo se observaron

respuestas rizogénicas en todos los tratamientos, siendo mayor en plántulas regeneradas de yemas expuestas a 50 Gy y de yemas no irradiadas (100 y 96 %, respectivamente). En este mismo subcultivo se observaron diferencias ($p < 0.05$) en el número de hojas presentes en plántulas regeneradas de yemas irradiadas y no irradiadas, con un promedio de 3,7 hojas/explante en el tratamiento con 100 Gy.

Conclusiones.

La dosis letal media (DL_{50}) fue determinada en 52,6 Gy para estolones del pasto Janeiro; sin embargo, con las dosis de 75 y 100 Gy aplicadas en este estudio, se obtuvieron individuos con características sobresalientes, registrándose éstas como las dosis que produjeron mutaciones favorables.

Los estolones de pasto Janeiro mostraron menor sobrevivencia con dosis de 75 y 100 Gy; sin embargo, al aplicarse estas dosis se obtuvieron individuos que presentaron resultados superiores a los promedios de la especie, especialmente en las características longitud de rama, diámetro de tallo y longitud de hoja, variables que inciden directamente en la producción de biomasa forrajera, seleccionadas como candidatas a mutantes.

Determinar la dosis letal media (DL₅₀) en estolones de pasto Janeiro sometido al mutagénico Etil – methasulfanato.

Con el objetivo de determinar la dosis letal media en el pasto janeiro impregnado con el mutagénico Etil-methasulfanato se realizó la siguiente investigación.

Localización.

Los ensayos fueron desarrollados a nivel de laboratorio e invernadero en los predios de la Granja “San Pablo” de la Universidad Técnica de Babahoyo, ubicada en el Km. 7½ de la vía Babahoyo – Montalvo, con altitud de 8 metros sobre el nivel del mar. Coordenadas X: -1,799621, - Y: 79,473936. Molina (2020) indica que la zona presenta un clima tropical húmedo, con temperatura media de 25,6 °C, precipitación anual de 2 329 mm, humedad relativa de 82 % y 987 horas de heliofanía de promedio anual.

Procedimiento experimental.

En este estudio se utilizó la especie de pasto Janeiro provenientes del material recolectado en los terrenos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias FACIAG-UTB.

Se preparó un sustrato que contenía 60% de suelo agrícola, 30% de materia orgánica y 10% ceniza para ser utilizado en el llenado de las 10 bandejas de germinación las cuales contenían 162 hoyos.

Los estolones del pasto Janeiro fueron colectados de un lote de multiplicación que existe en la FACIAG – UTB. Los estolones median 5 cm de altura aproximadamente; el mismo que presentaron una sola yema, los cuales fueron limpiados y desinfectados con agua destilada estéril (tres enjuagues). Luego se sumergieron en una solución compuesta de azoxistrobina + difeconazole (fungicidas) por 15 minutos previo a la impregnación y siembra (Gómez *et al.* 2020).

Para la impregnación se aplicó la metodología establecida por Pankhurst *et al.*, (2004) citado por Leon Garcia (2016) el cual explica que el EMS debe ser manejado muy cuidadosamente. Para realizar la impregnación en el laboratorio de Biología Molecular se aplicó el protocolo propuesto con algunas modificaciones:

Se usaron aproximadamente 2 000 estolones de janeiro y en cada concentración (0,00 %, 0,25 %, 0,50 %, 0,75 %, 1,00 %) de EMS se introdujeron 200 estolones dentro de vasos transparentes estériles con capacidad de 1 000 ml y estuvieron sumergidos a 24 horas y a 48 horas. En los vasos con los estolones, se le adiciono agua des ionizada estéril (v/v) a una concentración definida, estos fueron colocados a temperatura ambiente. Finalmente se retiró la solución y se enjuagaron los estolones tratados, 5 veces con agua destilada, cada enjuague se realizó por un tiempo de 15 minutos.

Tabla 6. Dosis impregnadas con EMS

Dosis EMS (Soluta)	Solvente H ₂ O
10 ml (1%)	1000 ml
7,5 ml (0.75%)	1000 ml
5 ml (0.5%)	1000 ml
2,5 ml (0.25%)	1000 ml
0 ml (0%)	1000 ml

Lavado e Inactivación del EMS.

Se aplicó el protocolo desarrollado por US National Library of Medicine (2016) citado por León García (2016) para inactivar el EMS:

Se preparó Hidróxido de sodio a una concentración final del 1 %, en esa solución fue sumergido cada tratamiento (estolones impregnados con EMS) en un tiempo de 30 min dejando reposar para una total descomposición del mutágeno.

Luego se procedió a retirar el NaOH y se enjuagaron los estolones 3 veces con agua destilada durante 15 min, estando preparados para la siembra.

Medidas de seguridad empleadas al trabajar con el EMS.

De acuerdo a lo desarrollado por León García (2016) en su investigación se aplicó las siguientes medidas de seguridad para el uso del EMS en las medidas de seguridad.

El EMS al ser un agente alquilante tóxico y carcinógeno se tuvo en cuenta una serie de medidas para su manipulación las cuales fue fundamental precautelar la salud humana.

1. Fue obligatorio el uso de guantes mientras se estuvo manipulando el mutágeno químico, se utilizaron dobles guantes de vinilo. El trabajo se lo realizó en una campana extractora de gases o en una cabina protegida con cubiertas protectoras para los ojos.

2. Se utilizó un traje para protegernos ante cualquier derrame del producto y una máscara con filtro, para impedir el paso de los gases hacia nuestro sistema respiratorio.

3. Previo al uso del EMS se realizó un mantenimiento y revisión de la campana extractora de gases, para asegurar el funcionamiento correcto.

4. Los residuos fueron almacenados en un recipiente y sellados para posterior trabajo.

5. Los frascos que contienen el agente alquilante (EMS) o diluciones fueron abiertos siempre dentro de la campana extractora de gases.

6. El volumen de EMS que se utilizó fue tomado cuidadosamente para no contaminar la micro pipeta y el volumen requerido, se calculó previamente para evitar demoras.

7. La superficie donde se trabajó con el mutágeno fue cubierto con papel filtro y fijado con cinta adhesiva de modo que al finalizar se recogió y en él vaya cualquier derramamiento del reactivo.

8. Una vez preparada las diluciones estas fueron vertidas cuidadosamente en el frasco donde se encuentra el material vegetal para evitar salpicaduras y añadida la disolución del mutágeno el frasco fue tapado con para film.

Siembra del material genético.

Los estolones tratados con EMS y los controles sin tratar, se sembraron en las bandejas germinadoras las cuales fueron previamente preparada con sustrato el mismo que fue manejado a nivel de invernadero para luego determinar dosis media letal (DL₅₀).

Variables evaluadas.

Porcentaje de germinación y/o prendimiento.

Luego de haber sido tratado los estolones con el EMS y sus respectivas dosis se procedió a evaluar el porcentaje de germinación (prendimiento) a los 10, 20 y 30 días. Su resultado se expresó en porcentaje de estolones germinados.

El porcentaje de prendimiento se determinó aplicando la siguiente formula:

$$\% \text{ prendimiento} = \frac{\text{N}^\circ \text{ estolones sembrados} - \text{N}^\circ \text{ estolones muertos} \times 100}{\text{N}^\circ \text{ estolones sembrados}}$$

Porcentaje de mortalidad.

El porcentaje de mortalidad se determinó a los 10, 20 y 30 días, considerando como mortalidad a los estolones que no prendieron.

$$\% \text{ mortalidad} = \frac{\text{N}^\circ \text{ estolones sembrados} - \text{N}^\circ \text{ estolones vivos} \times 100}{\text{N}^\circ \text{ estolones sembrados}}$$

Altura de la planta.

Se evaluó la altura del estolón a los 10, 20 y 30 días del pasto Janeiro sometidas a los diferentes tratamientos y repeticiones. Para ello se utilizó un flexómetro numérico con unidades en mm, cm y m. la altura se expresó en cm, se midió la altura desde el suelo hasta la inserción de la última hoja apical del estolón.

Análisis estadístico.

Tabla 7. Tratamientos en estudio aplicados en pasto janeiro

TRATAMIENTOS	CONCENTRACIONES DE EMS (%)	HORAS
T1	0,00 %	24
T2	0,25 %	24
T3	0,50 %	24
T4	0,75 %	24

TRATAMIENTOS	CONCENTRACIONES DE EMS (%)	HORAS
T5	1,00 %	24
T6	0,00 %	48
T7	0,25 %	48
T8	0,50 %	48
T9	0,75 %	48
T10	1,00 %	48

En este estudio se realizaron diez tratamientos donde se utilizaron cuatro dosis de EMS sometidas a dos tiempos de impregnación de los estolones. El detalle de los tratamientos se menciona en el Tabla 7.

En este estudio se consideró lo siguiente:

Una Variedad de pasto Janeiro, cuatro dosis de Agente mutagénico incluyendo un control: 0,00 0,25 %, 0,50 %, 0,75 %, 1,00 % con dos tiempos de inmersión del material vegetal en la solución mutagénico: 24 y 48 horas.

Los datos fueron a analizados en un Diseño Completo al Azar con diez tratamientos y tres repeticiones, para determinar la significancia estadística entre las medias de los tratamientos, se realizó una regresión lineal Probit al cual se lo analizo mediante el software (Staff graphic) aplicando el modelo aditivo lineal

$$Y = a + bx$$

Donde:

Y= Variables dependiente

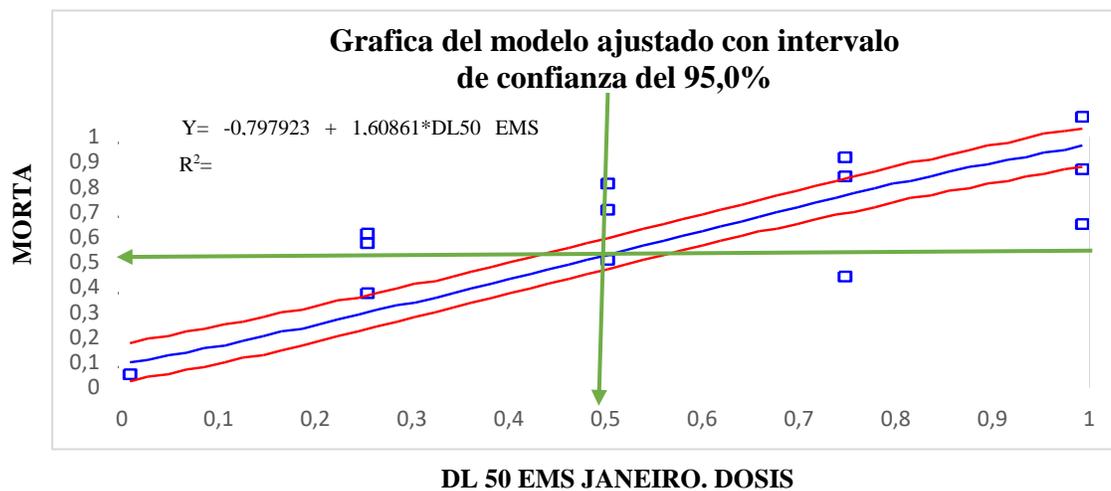
a= pendiente

x= Variables independiente

b= Intersección

Resultados y Discusión.

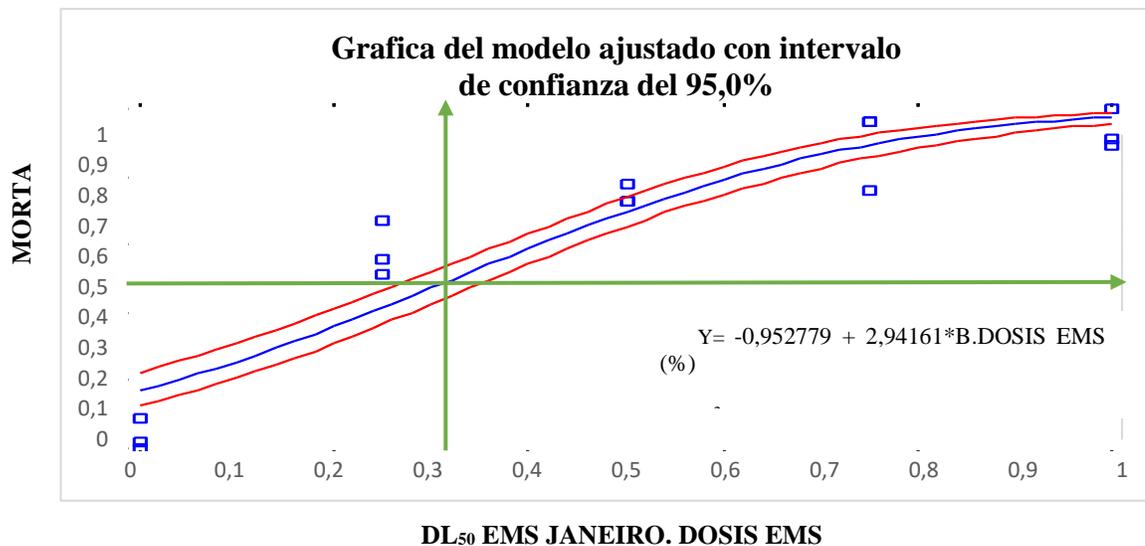
Figura 7. DL₅₀ en pasto janeiro a 24 horas de impregnación.



En la Figura 7 se puede observar la regresión lineal obtenida a partir del porcentaje de mortalidad frente a las dosis del EMS. La DL₅₀ alcanzada mediante el análisis de Probit fue de 0,49 % del EMS, en el cual hubo un 50% de mortalidad del pasto janeiro siendo la dosis más propicia a las 24 horas de impregnación con el agente mutagénico. La fórmula que se aplicó fue $y = -0,797923 + 1,60861 \cdot DL_{50} \text{ EMS Janeiro}$ con un R² de 58,61 porcentaje de desviación explicado por el modelo.

En la presente investigación se determinó que la menor mortalidad, se obtuvo en el tratamiento T3 a 24 horas de impregnación. Mediante la cual se estableció que la mortalidad aumenta con el incremento de las dosis del EMS. Cuyos resultados se asemejan a la investigación desarrollada por López E. (2011) que indujo variabilidad genética mediante EMS en cultivo in vitro de *Cenchrus ciliaris* L. quien expresa que se reduce el porcentaje de germinación a medida que aumenta la dosis y el tiempo, los mismo que adquirieron una DL₅₀ de 0,5 % la dosis se ajustó al porcentaje de germinación y desarrollo óptimo de las plantas. Till *et al.* (2007) citado por Ebeling *et al.* (2019) indican que las dosis de 0,5% a 1,0% durante 6 h pueden inducir mutaciones en el arroz. Gómez *et al.* (2020b) expresan que la menor mortalidad en pasto janeiro mediante mutagénesis física, se dio en tratamientos con bajas dosis de radicación. Con lo cual se infirió que la mortalidad aumenta al incrementar las dosis de irradiación.

Figura 8. DL₅₀ en pasto janeiro a 48 horas de impregnación



En la Figura 8 se muestra la regresión lineal ajustado a un modelo de regresión Probit para describir la relación entre porcentaje de mortalidad y dosis del agente mutagénico EMS. La ecuación del modelo ajustado es $Y = -0,952779 + 2,94161 * B. DOSIS EMS (%)$ con un $R^2 = 79,62$. El resultado obtenido indica que el DL₅₀ fue de 0,32 % del EMS en la cual se obtuvo el 50% de mortalidad del pasto janeiro, con un tiempo de impregnación a 48 horas.

De acuerdo a los resultados la dosis de EMS que se debe impregnar en estolones de pasto janeiro obtenidos directamente del campo para generar variabilidad, se ubica entre 0,32 % a 48 horas. Cuyos datos se asemeja con el estudio realizado por Costa Ortiz (2017) el cual impregno EMS en material vegetativo in vitro de alcachofa (*Romanesco*) quien menciona que obtuvieron un DL₅₀ de 0,37 % del EMS; y observaron que a partir de una concentración mayor los explantes se necrosan y mueren. Mientras que Khalil *et al.* (2018) indicaron el estudio realizado en dos variedades de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) discrepan con los resultados obtenidos en pasto janeiro con EMS, los cuales determinaron que el tratamiento mutagénico DL₅₀ de callos ROC22 fue 0.1% EMS durante 17 h, mientras que, para callos FN39, fue 0.1% EMS durante 14 h. Por otra parte, Gómez *et al.*, (2020a) señalan que mediante mutagénesis física, las dosis de radiación que debe aplicarse a estolones de pasto janeiro propagados directamente en el campo para inducir variabilidad, se ubican entre 42 y 50 Gy.

Comparación de DL₅₀ en pasto Janeiro impregnado a las 24 y 48 horas.

A partir de la comparación del Porcentaje acumulado con la DL₅₀ del EMS en pasto Janeiro, se puede indicar que el valor-P de la tabla de Análisis de Desviaciones fue de 0,0000 siendo menor que 0,05, existiendo una relación estadística altamente significativa entre las variables impregnado a las 24 y 48 horas, con un intervalo de confianza del 95,0%.

A su vez el modelo estimado de regresión muestra que el R² a 48 horas fue de 79,62 siendo superior al R² a 24 horas de 58,61. Por lo tanto se indica que R² con la impregnación a 48 horas explica mejor el modelo utilizado.

Para determinar DL₅₀ en pasto Janeiro impregnado con EMS a diferentes dosis, se aplicó el modelo estadístico de regresión lineal la cual permitió mediante un análisis probit estimar la dosis media letal a 24 y 48 horas. Por lo tanto, el modelo utilizado concuerda con la investigación realizada por Guariniello (2016) en técnicas no convencionales para la obtención de variabilidad genética en *Panicum maximum* Jacq; para introducir una aproximación a la dosis óptima de trabajo, a partir de los datos de mortalidad se ajustó una curva de regresión lineal que permitió estimar la DL₅₀. Así, se determinó que con una concentración de 5,6% se obtiene un 50% de germinación con respecto al control (R²=0,68). De la misma manera Gómez *et al.* (2020a) en su investigación se determinaron el DL₅₀ con un promedio de 52,60 Gy. Para llegar a este resultado, se realizó el análisis probit en la variable establecimiento, que fue la que mejor se ajustó (mayor R²).

Conclusiones.

Las dosis de etil-metanosulfonato (EMS) tuvieron efecto directo en el prendimiento de los estolones del pasto janeiro, presentándose un alto índice de deflación en dosis superiores a 0.50 %. Por lo tanto, el mejor tiempo de impregnación fue a 48 horas.

Los tratamientos con dosis de 0,25 % de EMS a 48 horas, lograron mantener el mejor comportamiento agronómico hasta los 95 días, donde la altura de planta, tuvo su mejor desarrollo con el uso cercano a la determinada como DL₅₀ (0,32 %).

Evaluación del comportamiento agronómico del pasto Janeiro tratado con EMS bajo condiciones de invernadero.

Para determinar el comportamiento agronómico a los 50, 65, 80 y 95 días, se utilizaron los estolones impregnados con el EMS y se desarrolló el estudio a nivel de invernadero.

Localización.

Los estudios fueron desarrollados a nivel de invernadero en los predios de la Granja “San Pablo” de la Universidad Técnica de Babahoyo, ubicada en el Km. 7½ de la vía Babahoyo – Montalvo, con altitud de 8 metros sobre el nivel del mar. Coordenadas X: -1,799621, - Y: 79,473936. Molina (2020) indica que la zona presenta un clima tropical húmedo, con temperatura media de 25,6 °C, precipitación anual de 2 329 mm, humedad relativa de 82 % y 987 horas de heliófila de promedio anual.

Procedimiento experimental.

Los estolones una vez impregnados con el EMS, fueron sembrados en bandejas germinadoras, una vez transcurridos 30 días de la siembra en las bandejas, se preparó un sustrato que contenía 60 % de suelo agrícola, 30 % de materia orgánica y 10 % de cascarilla de arroz quemado, el sustrato fue manejado a nivel de invernadero, los estolones fueron trasplantados en fundas de vivero perforadas de 34 cm de largo por 23 cm de ancho y separadas por tratamientos.

VARIABLES EVALUADAS.

Altura de la planta y/o estolón (m)

Para el caso del pasto Janeiro se midió la altura en diez plantas a los 50, 65, 80 y 95 días desde la base hasta la parte apical y su resultado se expresó en metros. Como material de medición se utilizó un flexómetro.

Diámetro del estolón.

Se registró el diámetro de los estolones tratados en diez plantas de cada tratamiento a los 50, 65, 80 y 95 días, con la ayuda de una cinta y su resultado se establecieron en mm.

Número de hojas por planta.

Para los estolones del pasto Janeiro, esta variable se evaluó en diez plantas contando todas las hojas que presentó el pasto en cada tratamiento a los 50, 65, 80 y 95 días.

Largo de la hoja.

Se midió el largo de la hoja a los 50, 65, 80 y 95 días en diez plantas de cada tratamiento en estudio, para ello se tomó la tercera hoja y se utilizó una regla cuya unida se expresó en cm.

Ancho de la hoja.

Fue medido a los 50, 65, 80 y 95 días en diez plantas de cada tratamiento, de la misma manera se registró el ancho en la tercera hoja, su unidad se expresó en cm y se utilizó una regla para realizar la respectiva medición.

Análisis estadístico.

Tabla 8. Tratamientos

TRATAMIENTOS	CONCENTRACIONES DE EMS (%)	HORAS
T1	0,00%	24
T2	0,25%	24
T3	0,50%	24
T4	0,75%	24
T5	1,00%	24
T6	0,00%	48
T7	0,25%	48
T8	0,50%	48
T9	0,75%	48
T10	1,00%	48

Los datos fueron analizados en un Diseño Completo al Azar con diez tratamientos, para determinar la significancia estadística, entre las medias de los tratamientos. Se aplicó la prueba de Tukey al 95% de probabilidad y se utilizó el software (Info Stat), empleando el modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij}: Valor estimado de la variable.

μ: Media general

T_i: Efecto del i-esimo tratamiento

E_{ij}: Efecto del error experimental en el i-esimo tratamiento y el j-esima repetición.

Tabla 9. Análisis de varianza

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos	9
Repeticiones	9
E. Exp.	81
Total	99

Resultados y discusión.

Altura de planta del pasto Janeiro.

En el Tabla 10. Se presenta los promedios de altura de planta del pasto Janeiro a los 50, 65, 80 y 95 días. El análisis de varianza reportó alta significancia estadística para las dosis de EMS junto a los diferentes tiempos de impregnación (24 y 48 horas).

A los 50 días la dosis al 0,25 % de EMS a 24 horas de impregnación mostro alta significancia entre tratamientos, siendo estadísticamente superior con una altura de 0,60m y (p valor = <0,0001). Luego a los 65 días la dosis 0,50 % de EMS a 24 horas y las dosis 0,25 % de EMS a 48 mostraron alta significancia, siendo estadísticamente iguales y superiores a los demás tratamientos, alcanzando una altura de 0,72 m y un (p valor = <0,0001). Transcurrido los 80 días la dosis 0,50 % de EMS a 24 horas, alcanzo una altura de 1, 11 m expresando alta significancia y siendo estadísticamente igual a la dosis 0,25 % de EMS y la dosis 0,50 % EMS a 48 horas y (p valor = <0,0001). Finalmente, a los 95 días la dosis 0,25 % de EMS a 48 horas presento alta significancia, siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos, obteniendo una altura de 1,54 m y (p valor = <0,0001).

Tabla 10. Altura de las plantas hasta los 95 días (d.d.s) en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato.

Trata mientos	Dosis del EMS (%)	Horas de Impregnación	Altura de la planta 50 días (m)	Altura de la planta 65 días (m)	Altura de la planta 80 días (m)	Altura de la planta 95 días (m)
T1	0,00 %	24 horas	0,49 b c	0,67 a b	0,93 b c d	1,05 c d
T2	0,25 %	24 horas	0,51 b c	0,68 a b	1,03 a b	1,18 b c
T3	0,50 %	24 horas	0,60 a	0,72 a	1,11 a	1,33 b
T4	0,75 %	24 horas	0,50 b c	0,66 a b	0,96 b c	1,21 b c
T5	1,00 %	24 horas	0,49 b c	0,57 b c	0,73 e	0,91 d
T6	0,00 %	48 horas	0,49 b c	0,66 a b	0,96 b c	1,06 c d
T7	0,25 %	48 horas	0,51 b	0,72 a	1,04 a	1,54 a
T8	0,50 %	48 horas	0,48 b c	0,67 a b	1,07 a	1,23 b c
T9	0,75 %	48 horas	0,44 c	0,52 c d	0,86 c d e	1,06 c d
T10	1,00 %	48 horas	0,25 d	0,43 d	0,80 d e	0,94 d
Promedio general			0,48	0,63	0,95	1,15
Significancia estadística			**	**	**	**
Coeficiente de variación (%)			11,02	12,61	9,72	11,14

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, Tukey $\leq 0,05$

En cuanto a la altura de la planta, se definió que varía en función a las dosis de EMS existiendo diferencias significativas entre tratamientos, a mayor dosis menor crecimiento del pasto Janeiro. Estos resultados concuerdan con lo expresado por Rojas *et al.*, (2016) sobre la concentración óptima de Metano Sulfonato de Etilo en Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. 'DOR 364' cuyas dosis de EMS influyeron sobre las variables relacionadas con el crecimiento y desarrollo de plantas de

frijol, mientras que con dosis superiores de 50 y 60 mM (milimol) se manifestó un crecimiento significativamente inferior. De la misma manera Irfan Siddique *et al.*, (2020) indican que en un estudio de desarrollo y caracterización de una población mutante con EMS en ají (*Capsicum annuum* L.) las plántulas M₁ incluyeron mutantes con fenotipos aberrantes para la altura de la planta y el color del follaje. En cuanto a la altura de la planta, 45 y 18 plantas se puntuaron como mutantes altas. En especies de *Petunia x hybrida* Vilm Berenschot *et al.*, (2008) mencionan que el tratamiento EMS provocó una mayor disminución en la altura de la planta a los 30 días y que las dosis más altas de mutágeno empleadas disminuyeron las tasas de supervivencia y altura. Por otra parte, en cultivo de cilantro (*Coriandrum sativum* L) Kumar & Pandey (2020) mencionan que la altura de la planta se redujo junto con el aumento de la concentración de EMS, como en los tratamientos con EMS durante 3 y 5 h de duración provocaron una reducción significativa en la altura de la planta. Sin embargo, los tratamientos de menor concentración de EMS (0,1 % y 0,3 %) tuvieron un efecto estimulante sobre la altura de la planta sobre el control.

Diámetro del Tallo en pasto Janeiro

Los promedios de diámetro del tallo del pasto Janeiro se presentan en el Tabla 11. a los 50, 65, 80 y 95 días. El análisis de varianza reportó alta significancia estadística para las dosis de EMS junto a los diferentes tiempos de impregnación (24 y 48 horas).

A los 50 días la dosis al 0,50 % de EMS a 24 horas de impregnación mostro alta significancia con un (p valor <0,0001) y un diámetro de 3,10 mm; a 0,25 % de EMS a 48 horas mostraron alta significancia, siendo estadísticamente igual con un diámetro de 3,00 mm. Luego a los 65 días la dosis 0,50 % de EMS a 24 horas mostro alta significancia con un diámetro de 3,90 mm y la dosis 0,25 % de EMS a 48 mostraron alta significancia, siendo estadísticamente iguales alcanzando un diámetro de 4,00 mm con (p valor <0,0001). Transcurrido los 80 días los tratamientos T2, T3, T4, T6, T7 y T8, obtuvieron alta significancia, pero fueron estadísticamente iguales entre las dosis de EMS y tiempo de impregnación, con un (p valor <0,0001). Finalmente, a los 95 días la dosis 0,25 % de EMS a 48 horas presento alta significancia, siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos, obteniendo un diámetro de tallo de 4,70 mm y un (p valor <0,0001).

Tabla 11. Diámetro del tallo de las plantas hasta los 95 días (d.d.s) en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato.

Tratamientos	Dosis del EMS (%)	Horas de Impregnación	Diámetro del tallo 50 días (mm)	Diámetro del tallo 65 días (mm)	Diámetro del tallo 80 días (mm)	Diámetro del tallo 95 días (mm)
T1	0,00 %	24 horas	2,10 b	2,80 b c d	3,40 a b	3,80 c d
T2	0,25 %	24 horas	2,50 a b	3,20 b	3,70 a	4,00 a b c d
T3	0,50 %	24 horas	3,10 a	3,90 a	4,00 a	4,40 a b c
T4	0,75 %	24 horas	2,50 a b	3,10 b c	3,50 a	3,90 b c d
T5	1,00 %	24 horas	1,90 b	2,40 d	2,70 c	4,00 d e
T6	0,00 %	48 horas	1,90 b	3,10 b c	3,50 a	2,80 a b c d
T7	0,25 %	48 horas	3,00 a	4,00 a	4,00 a	4,70 a
T8	0,50 %	48 horas	2,40 a b	3,20 b	3,90 a	4,60 a b

Tratamientos	Dosis del EMS (%)	Horas de Impregnación	Diámetro del tallo 50 días (mm)	Diámetro del tallo 65 días (mm)	Diámetro del tallo 80 días (mm)	Diámetro del tallo 95 días (mm)
T9	0,75 %	48 horas	1,90 b	2,50 c d	2,80 b c	3,60 d
T10	1,00 %	48 horas	2,00 b	2,30 d	2,70 c	3,80 c d
Promedio general			2,33	3,05	3,42	3,96
Significancia estadística			**	**	**	**
Coeficiente de variación (%)			20,84	13,94	13,95	13,50

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, Tukey $\leq 0,05$

El diámetro del tallo evaluado en diferentes fechas (50 a 95 días), presentó diferencias significativas (p valor $< 0,0001$) lo que muestra que la misma aumenta a medida que pasa el tiempo, siendo influenciada por las diferentes dosis del EMS. El-Torky (1992) y Gvozdenovic et al (2009) citado por Mostafa (2015) señalan que en plántulas de Caoba (*Khaya senegalensis*) impregnada con el dimetilsulfato (DMS) los tratamientos disminuyeron en la variable diámetro del tallo de 1,70 cm a 0,70 cm al incrementar las dosis; de igual manera el peso fresco y seco del crecimiento vegetativo en ambas estaciones (año) en comparación con el control. Lo cual estos resultados se asemejan con los registrados a los 95 días obteniendo valores de 4,70 mm a 2,80 mm a medida que se utiliza mayor concentración de mûgatenos químicos. Mientras tanto Gómez Villalva *et al.*, (2020) en estudios sobre Intervalos de corte de pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya* Kunth) M₂ irradiado con rayos gamma, mencionan que el mayor diámetro de tallo numéricamente lo presentó el tratamiento 0 Gy, 25 Gy, 50 Gy, 75 Gy con un valor de 0,37 centímetros a los 40 días después del corte, a dosis de 100 Gy se reduce a 0,27 cm.

Número de hojas en pasto Janeiro.

En el Tabla 12. Se presentan los promedios de números de hojas del pasto Janeiro a los 50, 65, 80 y 95 días. El análisis de varianza reportó alta significancia estadística para las dosis de EMS junto a los diferentes tiempos de impregnación (24 y 48 horas).

A los 50 días la dosis al 0,25 % de EMS a 48 horas de impregnación mostro alta significancia, siendo estadísticamente superior a los demás con 7 hojas emitidas y un (p -valor 0,0011). Luego a los 65 días la dosis 0,25 % de EMS a 48 horas presentó alta significancia, siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos, alcanzando un número de 7,90 hojas emitidas y con un (p valor $< 0,0001$). Transcurrido los 80 días la dosis 0,50 % de EMS a 24 horas, obtuvo 9 hojas expresando alta significancia y siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos con un (p valor $< 0,0001$). Finalmente, a los 95 días la dosis 0,25 % de EMS a 48 horas presentó alta significancia, siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos, obteniendo 11,60 hojas emitidas con un (p valor $< 0,0001$).

Tabla 12. Número de hojas hasta los 95 días (d.d.s) en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato.

Tratamientos	Dosis del EMS (%)	Horas de Impregnación	Nº de hojas 50 días	Nº de hojas 65 días	Nº de hojas 80 días	Nº de hojas 95 días
T1	0,00 %	24 horas	5,50 b	7,10 a b c	7,60 c d	8,40 b c
T2	0,25 %	24 horas	5,60 b	6,70 b c	7,90 a b c d	10,20 a b
T3	0,50 %	24 horas	6,10 a b	7,70 a b	9,00 a	9,90 a b
T4	0,75 %	24 horas	5,40 b	6,40 c	7,70 b c d	9,80 a b c
T5	1,00 %	24 horas	5,60 b	6,30 c	6,80 d	7,60 c
T6	0,00 %	48 horas	6,20 a b	7,10 a b c	8,10 a b c	8,80 b c
T7	0,25 %	48 horas	7,00 a	7,90 a	8,80 a b	11,60 a
T8	0,50 %	48 horas	6,10 a b	6,90 a b c	7,80 b c d	9,70 a b c
T9	0,75 %	48 horas	5,80 a b	6,80 a b c	7,60 c d	8,70 b c
T10	1,00 %	48 horas	5,30 b	6,30 c	7,30 c d	8,70 b c
Promedio general			5,86	6,92	7,86	9,34
Significancia estadística			**	**	**	**
Coeficiente de variación (%)			14,71	11,47	10,35	16,83

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, Tukey $\leq 0,05$

La emisión foliar se va afectada por las dosis y horas de impregnación del EMS aplicado en el pasto janeiro, disminuyendo la cantidad de hojas. Lo cual se compara con el estudio realizado por Akhtar (2014) quien evaluó el efecto de mutágenos físicos y químicos sobre comportamiento morfológicos del tomate (*Solanum lycopersicum*) cv. bajo condiciones de estrés por calor; el cual menciona que con dosis de EMS en el caso de número de hojas se observó una diferencia significativa entre todos los tratamientos con control, donde el mayor número de hojas se contabilizó en dosis de 8 Mm (milimol) EMS (70 hojas) y 16 mM (61 hojas). A medida que el nivel de dosis de EMS aumentó, los parámetros de crecimiento disminuyeron número de hojas calculado 29 y 20 en 24 mM y 32 mM respectivamente.

Largo de la Hoja en Pasto Janeiro

Se presentan los promedios del largo de la hoja del pasto Janeiro en el Tabla 13. a los 50, 65, 80 y 95 días. El análisis de varianza reportó alta significancia estadística para las dosis de EMS junto a los diferentes tiempos de impregnación (24 y 48 horas).

A los 50 días los tratamientos T3 alcanzo una longitud de 19,27 cm y T7 obtuvo una longitud de 17,43 cm mostraron significancia entre tratamientos y un comportamiento estadístico igual con un (p-valor= 0,0012). Luego a los 65 días la dosis 0,50 % de EMS a 24 horas presentó una longitud de 27,31 cm siendo estadísticamente igual a la dosis 0,25 % de EMS a 48 alcanzo con una longitud de 27,36 cm de largo y un (p-valor= 0,0013). Transcurrido los 80 días los tratamientos T7 obtuvieron un largo de hoja de 32,46 cm y T8 una longitud de 33,03 cm siendo estadísticamente iguales y (p-valor= 0,0001). Finalmente, a los 95 días la dosis 0,25 % de EMS a 48 horas presento alta significancia, y fue estadísticamente superior a los demás tratamientos, obteniendo una longitud de 38,87 cm y (p-valor= 0,0001).

Tabla 13. Largo de la hoja hasta los 95 días (d.d.s) en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato.

Tratamientos	Dosis del EMS (%)	Horas de Impregnación	Largo de hojas 50 días (cm)	Largo de hojas 65 días (cm)	Largo de hojas 80 días (cm)	Largo de hojas 95 días (cm)
T1	0,00 %	24 horas	14,53 b	24,01 a b	29,71 a b	34,51 b c
T2	0,25 %	24 horas	14,41 b	24,06 a b	31,38 a	34,82 a b c
T3	0,50 %	24 horas	19,27 a	27,31 a	32,40 a	36,93 a b
T4	0,75 %	24 horas	14,35 b	23,31 a b	29,36 a b	34,81 a b c
T5	1,00 %	24 horas	14,58 b	22,33 b	25,78 b	32,32 c
T6	0,00 %	48 horas	15,80 a	23,75 a b	30,29 a	33,27 b c
T7	0,25 %	48 horas	17,43 a	27,36 a	32,46 a	38,87 a
T8	0,50 %	48 horas	14,61 b	24,30 a b	33,03 a	36,65 a b
T9	0,75 %	48 horas	15,62 a	21,26 b	29,16 a b	34,72 a b c
T10	1,00 %	48 horas	14,44 b	22,84 a	29,02 a b	32,19 c
Promedio general			15,50	24,05	30,26	34,91
Significancia estadística			**	**	**	**
Coeficiente de variación (%)			18,02	13,94	9,43	8,45

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, Tukey $\leq 0,05$

En cuanto al largo de la hoja en pasto janeiro con EMS, se pueden observar que hubo alta significancia (p -valor = 0000,1) obtenido un mejor desarrollo longitudinal el T7. Mientras que la probabilidad de encontrar hojas más desarrolladas a mayor dosis disminuye. Un estudio realizado por Suthakar & Mullainathan (2015) en *Sorghum bicolor* L. mencionan que, en el caso de longitud de hoja, obtuvieron un máximo desarrollo con dosis de EMS a 40 mM de cuyas mediciones fueron 67,80 cm y 08,42 cm en comparación con el control y otra concentración de EMS y tratamiento con rayos gamma

Ancho de la Hoja del Pasto Janeiro

En la Tabla 14. se presentan los promedios de ancho de la hoja del pasto Janeiro a los 50, 65, 80 y 95 días. El análisis de varianza reportó baja y alta significancia estadística para las dosis de EMS junto a los diferentes tiempos de impregnación (24 y 48 horas).

A los 50 días las diferentes dosis de EMS bajo variadas horas de impregnación mostraron baja significancia entre tratamientos con un (p -valor= 0,0262), siendo todos estadísticamente iguales. Matemáticamente el tratamiento T3 supera alcanzando la hoja una anchura de 0,87 cm. Luego a los 65 días la dosis 0,25 % de EMS a 48 horas expresó alta significancia y un (p -valor= 0,0001) siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos, alcanzando una anchura de 1,34 cm. Transcurrido los 80 días la dosis 0,25 % de EMS a 48 horas, alcanzó una anchura de 1,63 cm presentando alta significancia con un (p -valor= 0,0001) y siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos estudiados. Finalmente, a los 95 días la dosis de 0,25 % de EMS a 48 horas, alcanzó una anchura de 1,99 cm con un (p -valor= <0,0001).

Tabla 14. Anchura de la hoja hasta los 95 días (d.d.s) en *Eriochloa polystachya* mediante etil-metasulfonato.

Tratamientos	Dosis del EMS (%)	Horas de Impregnación	Ancho de hojas 50 días (cm)	Ancho de hojas 65 días (cm)	Ancho de hojas 80 días (cm)	Ancho de hojas 95 días (cm)
T1	0,00 %	24 horas	0,73 a	1,12 b c	1,39 b c d	1,87 a b
T2	0,25 %	24 horas	0,74 a	1,13 b c	1,47 a b c	1,84 a b
T3	0,50 %	24 horas	0,87 a	1,31 a b	1,54 a b	1,93 a
T4	0,75 %	24 horas	0,75 a	1,24 a b	1,55 a b	1,80 a b
T5	1,00 %	24 horas	0,75 a	1,00 c	1,29 e	1,47 c
T6	0,00 %	48 horas	0,61 a	1,17 a b c	1,17 c d e	1,88 a b
T7	0,25 %	48 horas	0,85 a	1,34 a	1,63 a	1,99 a
T8	0,50 %	48 horas	0,65 a	1,15 a b c	1,38 b c d	1,71 a b c
T9	0,75 %	48 horas	0,66 a	1,00 c	1,23 d e	1,49 c
T10	1,00 %	48 horas	0,66 a	1,19 a b c	1,33 c d e	1,59 b c
Promedio general			0,73	1,17	1,40	1,76
Significancia estadística			*	**	**	**
Coeficiente de variación (%)			24,69	11,24	9,90	11,52

Promedios con la misma letra no difieren significativamente, Tukey $\leq 0,05$

Los resultados obtenidos demuestran que la variable ancho de la hoja en pasto janeiro varia conforme a las dosis del agente mutagénico EMS utilizadas. En un estudio realizado por Alcívar Torres, *et al.*, (2020) sobre el comportamiento morfológico del pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya* Kunth) M3-52 Gy sometido a dos niveles de fertilización y frecuencias de corte, señalan que los tratamientos 7 (52 Gy, 250 kg de fertilizante y 35 días de corte) y 8 (52 Gy, 250 kg de fertilizante y 45 días de corte), con un promedio de 2,02 y 2,07 cm., respectivamente, fueron superiores y diferentes únicamente a los tratamientos 1 (0 Gy, 0 kg., 35 días de corte) y 2 (0 Gy, 0 kg., 45 días de corte), con un valor de 1,34 y 1,39 cm., respectivamente.

Conclusiones.

Los tratamientos con dosis de 0,25 % de EMS a 48 horas, lograron mantener el mejor comportamiento agronómico hasta los 95 días, donde la altura de planta, tuvo su mejor desarrollo con el uso cercano a la determinada como DL₅₀ (0,32 %).

Caracterización del comportamiento agronómico de estolones M₂ de pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) irradiado con rayos gamma.

Metodología

La investigación se realizó en los predios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad técnica de Babahoyo, ubicada en el km. 7,5 de la vía Babahoyo-Montalvo. Las coordenadas geográficas en UTM fueron X: 1,7723946; Y: 79,7102593. La zona presenta clima tropical, con una temperatura entre los 24 y 26 °C, humedad relativa de 88%, precipitación promedio anual de 1262 mm, altura de 8 msnm y 990 horas de heliófila de promedio anual.

Material genético

El trabajo experimental se realizó utilizando el pasto Janeiro M₂ irradiado con rayos gamma del Proyecto de Mejoramiento Genético de Pastos de la Universidad Técnica de Babahoyo.

Métodos

Se utilizaron los métodos: Deductivo - Inductivo, Inductivo – Deductivo y Experimental.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico, calculando la media aritmética (MA), el coeficiente de variación (CV), la desviación estándar (DE) utilizados en el análisis de datos cuantitativos.

Tratamientos en estudio

Los tratamientos están constituidos por el fraccionamiento de los fertilizantes y los días al corte, los mismos que se muestran a continuación:

Tabla 15. Tratamientos y dosis de irradiación en Janeiro (*Eriochloa polystachya*) M₂.

Tratamiento	Factor
T1	Estolones M2 - 0 Gy
T2	Estolones M2 - 25 Gy
T3	Estolones M2 - 50 Gy
T4	Estolones M2 - 75 Gy
T5	Estolones M2 - 100 Gy

Manejo del ensayo

Para el trabajo experimental se procedió hacer una limpieza del terreno, posterior a la limpieza se procedió al arado superficial para disgregar la superficie y poder realizar la siembra con mayor facilidad.

Preparación del material de siembra

Para el trabajo experimental se procedió a la selección del material vegetativo estolones M₂ del pasto Janeiro, estos se los recolectaron de las plantas irradiadas con los diferentes niveles de irradiación, ubicadas en la facultad de ciencias agropecuarias.

Siembra

El material vegetativo irradiado fue sembrado y tapado en el lote escogido a un distanciamiento de siembra de dos metros entre hileras y un metro entre plantas.

Riego

Esta labor se realizó de forma constante para mantener el suelo en capacidad de campo.

Control de malezas

El control de malezas fue realizado con cortadora de malezas (moto guadaña), manteniendo limpio el lote en estudio.

Variables Evaluadas

Altura total de la planta

La altura total de la planta se midió desde el nivel del suelo hasta la punta de la inflorescencia, esta variable se reportó en centímetro a los 90 días.

Altura de follaje

La altura del follaje se midió desde el nivel del suelo hasta la altura de las hojas, esta variable se reportó en centímetro a los 90 días.

Diámetro de tallo

Se tomó por tratamiento diez plantas al azar a los días 30, 60, 90 midiendo a nivel del segundo entrenudo del tallo, expresado en centímetro.

Longitud de hoja

Se tomó por tratamiento diez plantas al azar a los días 30, 60, 90, midiendo la distancia que existe desde la base del tallo hasta el ápice de la hoja.

Ancho de hoja

Se tomó por tratamiento diez plantas al azar a los días 30 y 60, midiendo el ancho que existe en la parte central de la hoja, tomado en centímetro.

Hojas por planta

Las hojas por plantas se obtuvieron contabilizando en diez plantas tomadas al azar el número total de hojas.

Nudos por planta

Los nudos por plantas se registraron contabilizando en diez plantas tomadas al azar el número total de nudos.

Longitud de inflorescencia

La longitud de inflorescencia se calculó tomando diez inflorescencias al azar y midiendo de la base hasta el ápice de la misma, esta variable se reportará en centímetro.

Área foliar

Se registró por tratamiento diez plantas al azar a los días 30 y 60, se midió el ancho y el largo de la hoja, y se multiplicó por la constante 0,705, este dato se expresó en cm^2 .

Nivel de clorofila

Se registró con el medidor de clorofila portátil SPAD-502. Esta herramienta determinó la cantidad relativa de clorofila presente mediante la medición de la absorción de la hoja en dos regiones de longitud de onda; en las regiones roja y cercana a infrarroja. Utilizando estas dos transmisiones el medidor calculó el valor numérico SPAD que es proporcional a la cantidad de clorofila presente en la hoja y en consecuencia de Nitrógeno (N).

Rendimiento de materia seca

El RMS se obtuvo cortando 10 plantas a 5 cm sobre el nivel del suelo y el forraje se colocará en fundas de papel y se procedió a secar en la estufa a 70 °C por 48 h.

Resultados

Variabilidad de la especie (0 Gy)

El $\text{CV} > 50\%$, sugiere que existe variabilidad fenotípica en la especie. Así mismo, un $\text{CV} < 20\%$, indica que la especie puede tener baja variabilidad. En la presente investigación se puede evidenciar la estabilidad de la especie, ya que el 100% de las variabilidades no superaron un $\text{CV} > 50\%$ (Contreras Chariguaman, 2019)

Tabla 16. Medidas de Resumen en pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) M₂.

TRAT	Variable	n	Media	D.E.	E.E.	CV (%)
0 Gy	30DT	10	0,25	0,05	0,02	21,08
0 Gy	60DT	10	0,46	0,05	0,02	11,23
0 Gy	90DT	10	0,75	0,08	0,03	11,33
0 Gy	30LH	10	9,46	1,53	0,48	16,13
0 Gy	60LH	10	18,26	1,33	0,42	7,28
0 Gy	30AH	10	1,03	0,16	0,05	15,89
0 Gy	60AH	10	1,62	0,23	0,07	13,89
0 Gy	30AF	10	10,63	3,09	0,98	29,08
0 Gy	60AF	10	32,03	6,26	1,98	19,56
0 Gy	NN	10	81,70	7,59	2,40	9,29
0 Gy	NH	10	89,70	7,44	2,35	8,29
0 Gy	AF	10	94,63	5,51	1,74	5,82
0 Gy	CLOR	10	45,45	9,32	2,95	20,51
0 Gy	LI	10	38,03	4,64	1,47	12,19
0 Gy	AP	10	168,95	7,98	2,52	4,72
0 Gy	MF	10	682,71	66,15	20,92	9,69
0 Gy	MS	10	237,14	29,59	9,36	12,48
0 Gy	%RMS	10	34,94	4,86	1,54	13,90
25 Gy	30DT	10	0,24	0,05	0,02	21,52
25 Gy	60DT	10	0,44	0,05	0,02	11,74
25 Gy	90DT	10	0,78	0,10	0,03	13,24
25 Gy	30LH	10	12,92	1,62	0,51	12,52
25 Gy	60LH	10	21,62	2,17	0,69	10,06
25 Gy	30AH	10	1,18	0,15	0,05	13,13
25 Gy	60AH	10	1,65	0,27	0,09	16,47
25 Gy	30AF	10	16,48	3,46	1,09	20,99
25 Gy	60AF	10	38,41	7,80	2,47	20,30
25 Gy	NN	10	81,20	7,33	2,32	9,03
25 Gy	NH	10	86,70	9,44	2,99	10,89
25 Gy	AF	10	81,19	3,88	1,23	4,78
25 Gy	CLOR	10	39,46	3,48	1,10	8,82
25 Gy	LI	10	34,85	2,74	0,87	7,87
25 Gy	AP	10	168,33	11,20	3,54	6,66
25 Gy	MF	10	654,26	77,67	24,56	11,87
25 Gy	MS	10	233,90	16,43	5,20	7,03
25 Gy	%RMS	10	36,13	4,21	1,33	11,66
50 Gy	30DT	10	0,27	0,05	0,02	17,89
50 Gy	60DT	10	0,49	0,07	0,02	15,06
50 Gy	90DT	10	0,81	0,11	0,03	13,59
50 Gy	30LH	10	12,80	1,75	0,55	13,64
50 Gy	60LH	10	28,75	3,63	1,15	12,62
50 Gy	30AH	10	1,53	0,20	0,06	13,09
50 Gy	60AH	10	2,43	0,26	0,08	10,81
50 Gy	30AF	10	20,99	3,60	1,14	17,13
50 Gy	60AF	10	74,99	11,87	3,75	15,82
50 Gy	NN	10	76,80	5,98	1,89	7,78
50 Gy	NH	10	87,70	6,90	2,18	7,86
50 Gy	AF	10	90,10	9,92	3,14	11,01
50 Gy	CLOR	10	41,51	6,11	1,93	14,71
50 Gy	LI	10	39,63	6,04	1,91	15,25
50 Gy	AP	10	181,52	12,44	3,94	6,86
50 Gy	MF	10	644,96	77,08	24,38	11,95
50 Gy	MS	10	234,43	32,26	10,20	13,76
50 Gy	%RMS	10	36,98	7,59	2,40	20,52

TRAT	Variable	n	Media	D.E.	E.E.	CV (%)
75 Gy	30DT	10	0,26	0,07	0,02	26,89
75 Gy	60DT	10	0,46	0,05	0,02	11,23
75 Gy	90DT	10	0,71	0,10	0,03	14,01
75 Gy	30LH	10	16,54	1,69	0,53	10,19
75 Gy	60LH	10	26,84	2,54	0,80	9,48
75 Gy	30AH	10	1,57	0,15	0,05	9,52
75 Gy	60AH	10	2,38	0,21	0,07	9,03
75 Gy	30AF	10	27,97	4,23	1,34	15,10
75 Gy	60AF	10	68,93	10,76	3,40	15,62
75 Gy	NN	10	88,50	8,70	2,75	9,83
75 Gy	NH	10	99,30	8,23	2,60	8,29
75 Gy	AF	10	90,21	6,78	2,14	7,52
75 Gy	CLOR	10	43,38	5,53	1,75	12,75
75 Gy	LI	10	43,63	4,93	1,56	11,29
75 Gy	AP	10	184,29	12,08	3,82	6,56
75 Gy	MF	10	640,53	114,99	36,36	17,95
75 Gy	MS	10	222,13	12,70	4,02	5,72
75 Gy	%RMS	10	35,88	7,86	2,49	21,91
100 Gy	30DT	10	0,23	0,05	0,02	21,00
100 Gy	60DT	10	0,47	0,08	0,03	17,52
100 Gy	90DT	10	0,74	0,10	0,03	13,06
100 Gy	30LH	10	16,43	1,94	0,61	11,82
100 Gy	60LH	10	30,06	5,45	1,72	18,14
100 Gy	30AH	10	1,73	0,33	0,11	19,28
100 Gy	60AH	10	2,54	0,31	0,10	12,20
100 Gy	30AF	10	30,58	6,86	2,17	22,44
100 Gy	60AF	10	81,53	14,60	4,62	17,91
100 Gy	NN	10	91,00	5,75	1,82	6,32
100 Gy	NH	10	118,90	6,28	1,99	5,28
100 Gy	AF	10	91,30	12,24	3,87	13,41
100 Gy	CLOR	10	40,10	5,78	1,83	14,42
100 Gy	LI	10	45,75	3,07	0,97	6,70
100 Gy	AP	10	177,66	25,50	8,06	14,35
100 Gy	MF	10	690,56	72,10	22,80	10,44
100 Gy	MS	10	255,50	38,37	12,13	15,02
100 Gy	%RMS	10	37,42	7,37	2,33	19,70

Altura total de la planta

La variable altura de planta (cm), muestra sus promedios la tabla 17. En donde el tratamiento T4 con una dosis de 75 Gy, obtuvo mayor altura de planta, con 184,29 cm, superior numéricamente al resto de tratamientos, por último, está el tratamiento T2 (25 Gy), con 168,33 cm.

Tabla 17. Altura de planta en pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) M₂.

Tratamientos	Promedios
T1 0 Gy	168,95
T2 25 Gy	168,33
T3 50 Gy	181,52
T4 75 Gy	184,29
T5 100 Gy	177,66

Altura de follaje

El análisis para la variable altura del follaje, se presenta en la tabla 18. El pasto Janeiro mostró mayor altura del follaje cuando se utilizó el tratamiento T1 con dosis 0 Gy reportó 94,63 cm, superior al resto de tratamientos y con el promedio más bajo el tratamiento T2 (25 Gy), con 81,19 cm.

Tabla 18. Altura de follaje en pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) M₂.

Tratamientos	Promedios
T1 0 Gy	94,63
T2 25 Gy	81,19
T3 50 Gy	90,10
T4 75 Gy	90,21
T5 100 Gy	91,30

Diámetro de tallo 90 días

La tabla 19. Muestra que el tratamiento T3 con una dosis de 50 Gy, presentó un diámetro de tallo de 0,81; el cual es numéricamente superior al resto de tratamientos y mayor al tratamiento T4 con una dosis de 75 Gy, con 0,71.

Tabla 19. Diámetro de tallo 90 días en pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) M₂.

Tratamientos	Promedios
T1 0 Gy	0,75
T2 25 Gy	0,78
T3 50 Gy	0,81
T4 75 Gy	0,71
T5 100 Gy	0,74

Longitud hojas (cm)

La variable longitud hojas (cm), muestra sus promedios en la tabla 20. En donde el tratamiento T5 con una dosis de 100 Gy, obtuvo mayor longitud de hoja, con 30,06 cm, superior numéricamente al resto de tratamientos, por último, está el tratamiento T1 (0 Gy), con 18,26 cm.

Tabla 20. Longitud de hojas en pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) M₂.

Tratamientos	Promedios
T1 0 Gy	18,26
T2 25 Gy	21,62
T3 50 Gy	28,75
T4 75 Gy	26,84
T5 100 Gy	30,06

Ancho de hoja (cm)

Para la variable ancho de hoja, sus promedios se muestran en la tabla 21. Numéricamente el tratamiento T5 con una dosis de 100 Gy, obtuvo mayor ancho de hoja, con 2,54 cm, numéricamente superior al resto de tratamientos, y con el menor promedio está el tratamiento T2 (25 Gy), con 1,65 cm.

Tabla 21. Ancho de hojas en pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) M₂.

Tratamientos	Promedios
T1 0 Gy	1,62
T2 25 Gy	1,65
T3 50 Gy	2,43
T4 75 Gy	2,38
T5 100 Gy	2,54

Número de nudos por planta

La variable número de nudos por planta, se muestra sus promedios en la tabla 22. El tratamiento T5 con una dosis de 100 Gy, obtuvo el mayor número de nudos, con 91,0, numéricamente superior al resto de tratamientos y con el promedio inferior del tratamiento T3 (50 Gy), con 76,80.

Tabla 22. Número de nudos por planta en pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) M₂.

Tratamientos	Promedios
T1 0 Gy	81,70
T2 25 Gy	81,20
T3 50 Gy	76,80
T4 75 Gy	88,50
T5 100 Gy	91,00

Longitud de inflorescencia (cm)

La variable longitud de inflorescencia muestra sus promedios en la tabla 23. Numéricamente el tratamiento T5 con una dosis de 100 Gy, obtuvo mayor longitud de inflorescencia, con 45,75 cm, superior numéricamente al resto de tratamientos, por último, está el tratamiento T2 (25 Gy), con 34,85 cm.

Tabla 23. Longitud de inflorescencia en pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) M₂.

Tratamientos	Promedios
T1 0 Gy	38,03
T2 25 Gy	34,85
T3 50 Gy	39,63
T4 75 Gy	43,63
T5 100 Gy	45,75

Área foliar (cm)

La variable área foliar (cm) muestra sus promedios en la tabla 24. Numéricamente el tratamiento T5 con una dosis de 100 Gy, obtuvo mayor área foliar, con 81,53 cm, superior al resto de tratamientos y con el promedio más bajo esta el tratamiento T0 (25 Gy), con 32,03 cm.

Tabla 24. Área foliar en pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) M₂.

Tratamientos	Promedios
T1 0 Gy	32,03
T2 25 Gy	38,41
T3 50 Gy	74,99
T4 75 Gy	68,93
T5 100 Gy	81,53

Nivel de Clorofila

La variable nivel de clorofila muestra sus promedios en la tabla 25. Numéricamente el tratamiento T4 con una dosis de 75 Gy, obtuvo mayor nivel de clorofila, con 43,58, superior al resto de tratamientos y con el promedio más bajo esta el tratamiento T2 (25 Gy), con 39,46.

Tabla 25. Nivel de Clorofila en pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) M₂.

Tratamientos	Promedios
T1 0 Gy	45,45
T2 25 Gy	39,46
T3 50 Gy	41,51
T4 75 Gy	43,38
T5 100 Gy	40,10

Número de hojas por planta

La variable número de hojas por planta, muestra sus promedios en la tabla 26. El tratamiento T5 con una dosis de 100 presentó un mayor número de hojas con 118,90 y el tratamiento con el promedio más bajo fue el tratamiento T2 (25 Gy), con 86,70.

Tabla 26. Número de hojas en pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) M₂.

Tratamientos	Promedios
T1 0 Gy	89,70
T2 25 Gy	86,70
T3 50 Gy	87,70
T4 75 Gy	99,30
T5 100 Gy	118,90

Rendimiento de materia seca (%)

El rendimiento de materia seca presenta sus resultados en la tabla 27. El tratamiento 5 con una dosis de 100 Gy, superó los promedios con 37,42, superior a todos los tratamientos, y con el promedio más bajo esta el tratamiento T4 (75 Gy), con 35,88.

Tabla 27. Longitud de hojas en pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) M₂.

Tratamientos	Promedios
T1 0 Gy	34,94
T2 25 Gy	36,13
T3 50 Gy	36,98
T4 75 Gy	35,88
T5 100 Gy	37,42

Discusión

Según Cepeda Alarcón (2016) en su investigación denominada “Evaluación de cuatro densidades de siembra de los Pastos Tanner (*Brachiaria arrecta*) y Janeiro (*Eriochloa polystachya*) para la producción bovina en la zona baja inundable de Babahoyo” indica que la siembra del cultivo de pasto es de vital importancia en la producción bovina, principalmente en zonas bajas inundables, ya que la principal fuente de nutrientes y la más barata para la alimentación del ganado vacuno la constituyen los pastos y forrajes, lo que se apoya en su economía y en la no competencia con las necesidades de alimentos para el consumo humano directo y de otros animales.

Cadena Carbo (2019) en su investigación indica que no existieron diferencias morfológicas marcadas entre individuos evaluados del pasto Janeiro, ya que las variables evaluadas no sobrepasaron el coeficiente de variabilidad CV > al 50%, en la medida de resumen, en otra investigación presentada por García Pereira (2019) se pudo determinar que no existió diferencias fenotípicas en los materiales irradiados de pasto Janeiro a 52 Gy, ya que todas las variables evaluadas no superaron un CV > 50%, lo que indica que la especie tuvo poca variabilidad.

Luego de analizar la variable longitud hojas (cm) en esta investigación, se pudo determinar que el tratamiento T5 con una dosis de 100 Gy, obtuvo mayor longitud de hoja, con 30,06 cm, superior numéricamente al resto de tratamientos, así también Briones Peralta (2016) citado por Contreras Chariguaman (2019) el que indica en su análisis que la variable del largo de hojas se pudo determinar un desarrollo uniforme de 2,4 mm/día, deteniéndose a los 45 días, dando como resultado que el mayor tamaño correspondió a los tratamientos T3 y T4 obteniendo un promedio de 23,40 cm. este valor es superior al promedio alcanzado por Riera Chávez (2019) quien logró 20,85 cm a la misma edad, desde la siembra; sin embargo, ambos resultados están dentro del rango expuesto.

Conclusiones.

En base a los resultados obtenidos de la presente investigación, se pudo concluir lo siguiente:

El presente trabajo experimental no pudo detectar que existió variabilidad fenotípica en los materiales irradiados sembrados M2 de pasto Janeiro, ya que todos no superaron el CV > al 50%, con respecto a las variables agronómicas: longitud hojas, ancho de hojas, número de nudos por planta, área foliar, número de hojas por planta, los resultados mostraron que no existió diferencias entre tratamientos.

El tratamiento T5 con una dosis de 100 Gy presentó el mayor promedio en porcentaje de materia seca con respecto al resto de tratamientos.

BIBLIOGRAFÍA

- Abe, T., Kazama, Y., Ichida, H., Hayashi, Y., Ryuto, H. y Fukunishi, N. (2007). Plant breeding using the ion beam irradiation in RIKEN. *Cyclotrons and Their Applications*: 222–224.
- Acosta C., Gallardo C., Kampf A., Bezerra F. (2008). Materiales regionales utilizados en Latinoamérica para la preparación de sustratos. *Investigación Agropecuaria* 5, nº 2 93-106.
- Akhtar, N. (2014). Efecto de mutágenos físicos y químicos sobre comportamiento morfológicos del tomate (*Solanum lycopersicum*) cv. "Rio Grande" bajo condiciones de estrés por calor. *Plant breeding and seed science*, 70. Doi: 10.1515/plass-2015-0014
- Alcivar Torres, L., Mosquera Peralta, M., Gómez Villalva, J., & Aguirre Terrazas, L. (2020). Comportamiento morfológico del pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya* Kunth) M3-52 Gy sometido a dos niveles de fertilización y frecuencias de corte. *Journal of science and research*, 5. doi:<https://doi.org/10.5281/zenodo.4432392>
- Alcívar Torres, L., Mosquera Peralta, M., Gómez Villalva, J., & Aguirre Terrazas, L. (2020). Comportamiento morfológico del pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya* Kunth) M3-52 Gy sometido a dos niveles de fertilización y frecuencias de corte. *Journal of science and research*, 5. doi:<https://doi.org/10.5281/zenodo.4432392>.
- Aldenamar Cruz Hernández, Alfonso Hernández Garay, Alfonso Juventino Chay Canul, Sergio Iban Mendoza Pedro, Santiago Ramírez Vera, Adelaida Rafael Rojas García Y Joel Ventura Ríos Componente de rendimiento y valor nutricional de *brachiaria humidicola* cv Chetumal a diferencias estrategias de pastoreo (2017b) *Revista mexicana de ciencias agrícolas* vol 18 núm. 3 01 abril -15 de mayo,2017 p599-610 <http://dx.doi.org/10.29312/remexca.v8i3.34>.
- Aldenamar Cruz-Hernández, Alfonso Hernández-Garay, Humberto Vaquera-Huerta, Alfonso Chay-Cánula, Javier Enríquez-Quiroz, Santiago Ramírez-Vera. (2017). Componentes morfo genéticos y acumulación del pasto mulato a diferente frecuencia e intensidad de pastoreo. *Rev. Mex Cienc Pecu*; 8(1):101-109 <http://dx.doi.org/10.22319/rmcp.v8i1.4310>.
- Ambavane, A. R., S. V. Sawardekar, S. A. Sawantdesai y N. B. Gokhale. (2015). Studies on mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays and its effect on quantitative traits in finger millet (*Eleusine coracana* L. Gaertn). *J. Radiat. Res. Appl. Sci.* 8:120-125.
- Ángeles-Espino, A., Valencia-Botín, G., Virgen-Calleros, C., Ramírez Serrano, L., Paredes-Gutiérrez, S., & Peña., H.-D. I. (2013). Determinación de la dosis letal (DL₅₀) con ⁶⁰Co en vitroplántulas de *Agave tequilana* var. Azul. *Rev. fitotec. mex*, 36(4), 381-386. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018773802013000400003&lng=es&tlng=es.

- Ángeles-Espino, A., Valencia-Botín, G., Virgen-Calleros, C., Ramírez-Serrano, L., Paredes-Gutiérrez, S., & Peña, H.-D. I. (2013). Determinación de la dosis letal (DL₅₀) con ⁶⁰Co en vitroplántulas de Agave tequilana var. Azul. *Rev. Fitotec. Mex*, 36(4), 381-386. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802013000400003&lng=es&tlng=es
- Aquino Zacarías, Vidal César, & Gómez Villanes, Narcizo Isidoro. (2019). Triticale (*x Triticosecale Wittmack*): bioestimulantes orgánicos y fertilización nitrogenada sobre los componentes de rendimiento forrajero en campaña chica-Valle del Mantaro. *Scientia Agropecuaria*, 10(4), 469-477. <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.04.03>.
- Arce P Carla, Arbaiza F Teresa, Carcelén C Fernando, Lucas A Orlando. (2003). Estudio comparativo de la digestibilidad de forrajes mediante dos métodos de laboratorio. *Rev. investig. vet. Perú* [Internet]. 2003 Ene[citado 2021 Ene 04]; 1407-12 disponible en. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172003000100002&lng=es.
- Babaei A., N. G. Alireza Babaei¹, Ghorban Ali Nematzadeh², Viacheslav Avagyan³ Y Seyyed Hamidreza Hashemi-Petrodi². (2010). Radio sensitivity studies of morpho-physiological characteristics in some Iranian rice varieties (*Oryza sativa* L.) n M1 generation. *Afr J Agric Res*, 5(16), 2124 - 2130. DOI: 10.5897/AJAR10.234 <https://academicjournals.org/journal/AJAR/article-abstract/F76645539525>.
- Bado, S., Forster, B.P., Nielen, S., Ghanim, A., Lagoda, P.J., Till, B.J. y Laimer, M. (2015). Plant mutation breeding: current progress and future assessment. *Plant Breed. Rev.*, 39: 23–88.
- Barah, P. y Bones, A.M. (2015). Multidimensional approaches for studying plant defence against insects: from ecology to omics and synthetic biology. *J. Exp. Bot.*, 66(2): 479–493.
- Benites Edgar, Hermógenes Chamba, Efrén Sánchez, Segundo Parra, Diana Ochoa, Jairo Sánchez, Robert Guerrero. (2017). Caracterización de pastos naturalizados de la Región Sur Amazónica Ecuatoriana, potenciales para la alimentación animal. *Revista Bosques Latitud Cero*. Vol. 7 Núm. 2 (2017). <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/bosques/article/view/323>.
- Benítez, A. (2005). *Avances Recientes en Biotecnología Vegetal e Ingeniería Genética de Plantas*; Editorial Reverté, Barcelona, España. Giaconi, V., Escaff, M. (2004). *Cultivo de Hortalizas*, Editorial Universitaria S.A, Santiago de Chile, Chile
- Berenschot, A., Zucchi, M., & Tulmann, A. (2008). Mutagénesis en *Petunia x hybrida* Vilm. y aislamiento de un nuevo mutante morfológico. *SciELO*, 2(2). doi:<https://doi.org/10.1590/S1677-04202008000200002>.
- Bohórquez Galarza Brayan Jossef (2018). Evaluación del rendimiento y proteína cruda del pasto

Janeiro (*Eriochloa polystachya* c.v) bajo cinco frecuencias de corte en la zona de Babahoyo
Tesis Ing.<http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/5986>.

Briones Peralta, L. A. (2016) Evaluación de las edades de corte en pasto janeiro (*Eriochloa polystachya*) para el proceso de ensilado en la zona de Vinces. Tesis previo a la obtención del título de: Ingeniero Agropecuario. Universidad de Guayaquil, Vinces.
<http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/20808>

Briones Peralta, Luis Andrés (2016). Evaluación de las edades de corte en pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya*) para el proceso de ensilado en la zona de Vinces. [Tesis].
<http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/20808>.

Burke, M.B., Lobell, D.B. y Guarino, L. (2009). Shifts in African crop climates by 2050, and the implications for crop improvement and genetic resources conservation. *Global Environ. Change.*, 19(3): 317–325.

Busey, P. (1980). Gamma ray dosage and mutation breeding in st. augustinegrass. *Crop Science*. 20:181-184.

Cadena Carbo, S. E. (2019) Caracterización morfológica de pasto janeiro (*Eriochloa polystachya*) irradiado a dosis media letal de rayos gamma (52 Gy) en el cantón Babahoyo - Provincia de Los Ríos. Tesis previa a la obtención del Título de INGENIERA AGROPECUARIA. Universidad Técnica de Babahoyo, Babahoyo.
<http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/6174>.

Cadena Carbo, S. E. (2019) Caracterización morfológica de pasto janeiro (*Eriochloa polystachya*) irradiado a dosis media letal de rayos gamma (52 Gy) en el cantón Babahoyo - Provincia de Los Ríos. Tesis previa a la obtención del Título de INGENIERA AGROPECUARIA. Universidad Técnica de Babahoyo, Babahoyo.
<http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/6174>

Calderero. (2011). Viabilidad de 4 densidades de siembras de los pastos Janeiro y (*Brachiaria Humidicola*) para la producción bovina en zonas inundables de la parroquia La Victoria del cantón Salitre. Obtenido de repositorio.ug.edu.ec:
<http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/6911>.

Caro, Y., Quevedo, L., Contreras, A. (2006). Guía para la inducción de mutaciones en el mejoramiento genético del arroz (*Oryza sativa* L.). Biblioteca Digital Agropecuaria de Colombia. <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/13551>.

Caro-Melgarejo D., Estupiñán-Rincón, S., & Pacheco-Maldonado J. (2012). Efecto de rayos gamma sobre yemas vegetativas de *Physalis peruviana* L. *Acta Agronómica*, 61(4), 305-314. Recuperado el 15 de mayo de 2017, de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-

28122012000400002&lng=en&tlng=es.

- Castañeda, L., Olivera, Y., & Wencomo, H. B. (2015). Selección de accesiones de *Pennisetum purpureum*. Revista Pastos y Forrajes: <http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v38n2/pyf03215.pdf>.
- Cedeño, J.; Cedeño, G.; Alcívar, J.; Cargua, J.; Cedeño, F.; Cedeño, G.; Constante, G. (2018). Incremento del rendimiento y calidad nutricional del arroz con fertilización NPK complementada con micronutrientes. Scientia Agropecuaria 9(4): 503-509.
- Cepeda Alarcón, L. G. (2016) "Evaluación de cuatro densidades de siembra de los Pastos Tanner (*Brachiaria arrecta*) y Janeiro (*Eriochloa polystachya*) para la producción bovina en la zona baja inundable de Babahoyo". Tesis previa a la obtención del título de INGENIERO AGRÓNOMO. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO, Babahoyo. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/3228>.
- Cepeda, L. (2016). Evaluación de cuatro densidades de siembra de los Pastos Tanner (*Brachiaria arrecta*) y Janeiro (*Eriochloa polystachya*) para la producción bovina en la zona baja inundable de Babahoyo. Recuperado el 24 de Junio de 2020, de <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/3228/E-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000011.pdf;jsessionid=C141D8EAE3E12853E14D0CA48AA8E4C3?sequence=1>.
- Chavarría Vidal, Adrián Enrique. (2013). Eficiencias de tres dosis de fertilizantes de las fuentes hidrosoluble, granulado convencional y liberación lenta en la producción de chile dulce (*Capsicum annum*) c.v. Nathalie en invernadero, en Cartago, Costa Rica. [Tesis] URI: <http://hdl.handle.net/123456789/146>.
- Chomon, J. (1972). inducción de mutaciones de color con metanosulfato de etilo en el frijol, Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, Turrialba, Costa Rica, 1972.
- Chopra, V. 2005. Mutagenesis: Investigating the process and. Curr. Sci., 89(2).
- Cobos Mora, F., Gómez Pando, L., Reyes Borja, W., & Hasang Moran, E. (2020). Evaluación de la tolerancia a la salinidad en poblaciones segregantes F5 de arroz (*Oryza sativa* L.). Journal of Science and Research, 5(CININGEC), 1 - 23. Recuperado a partir de <https://revistas.utb.edu.ec/index.php/sr/article/view/995>
- Cobos Mora, Fernando Javier, Gómez Pando, Luz Rayda, Reyes Borja, Walter Oswaldo, & Medina Litardo, Reina Concepción. (2021). Sustentabilidad de dos sistemas de producción de arroz, uno en condiciones de salinidad en la zona de Yaguachi y otro en condiciones normales en el sistema de riego y drenaje Babahoyo, Ecuador. Ecología Aplicada, 20(1), 65-81. <https://dx.doi.org/10.21704/rea.v20i1.1691>.
- Coimbra, Jefferson Luís Meirelles Y Cols. (2005). Comparación entre mutágenos químicos y físicos en poblaciones de avena. Cienc. Rural [en línea]. , vol.35, n.1 [citado 2020-07-01],

pp.46-55.

Disponibile

en:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782005000100008&lng=pt&nrm=iso>. ISSN16784596. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000100008>.

Contreras Chariguaman, F. L. (2019) "Producción y características agronómicas de estolones/m² de pasto janeiro (*Eriochloa polystachya*), a diferentes niveles de irradiación (60Co) en el cantón Babahoyo." INGENIERA AGROPECUARIA. Universidad Tecnica de Babahoyo <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/6739>.

Contreras, C. (2019). Comportamiento agronómico del pasto janeiro (*Eriochloa polystachya*), con la aplicación de nitrógeno en el cantón Babahoyo. Recuperado el 06 de agosto del 2020, de <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/6678/TE-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000208.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Corrales-Lerma R., Avendaño-Arrazate C., Morales-Nieto C., Santellano-Estrada E., Villarreal-Guerrero F., Melgoza-Castillo A. (2019). Radiación gamma para inducción de mutagénesis en pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka]. Acta univ [online]. vol.29 [citado 2020-07-12], e1847. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-62662019000100117&lng=es&nrm=iso>. Epub 05-Nov-2019. ISSN 2007-9621. <http://dx.doi.org/10.15174/au.2019.1847>.

Corrales-Lerma Raúl, Avendaño-Arrazate Carlos Hugo, Moralesnieto Carlos Raúl, Santellano-Estrada Eduardo, Villarreal-Guerrero Federico, Melgoza-Castillo Alicia (2019). Radiación gamma para inducción de mutagénesis en pasto rosado [*Melinis repens* (Willd.) Zizka]. Acta univ [online]., vol.29 [citado 2020-07-12], e1847. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018862662019000100117&lng=es&nrm=iso>.

Cortés. (2017). Estimación de dosis letal 50 en dos explantes de *Alstroemeria* spp. Irradiados con rayos gamma. Tesis Ing. Universidad de Chile. 30 p. <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/150822/Estimacion-de-dosis-letal-50-en-dos-explantes-de-Alstroemeria-spp-irradiados-con-rayos-gamma.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Cristóbal Isaac Moran Salazar (2019) "Comparación de dos intervalos de Cortes del pasto Saboya (*Panicum máximum* Jacq.), en su rendimiento de biomasa y valor nutritivo" Tesis pregrado <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/49000/6157/1/TE-UTB-FACIAG-MVZ000012.pdf>.

Cruz, M.; Gabriel, A.; Ilku, L.H.; Ventura, M.; Possatto, O.; Alves, O. (2015). Biorregulador aplicado em diferentes estádios fenológicos na cultura do trigo. Revista Agro@mbiente On-line 9(4): 476-480.

Cruz, R.P. da, Sperotto, R.A., Cargnelutti, D., Adamski, J.M., FreitasTerra, T. y Fett, J.P. (2013).

Avoiding damage and achieving cold tolerance in rice plants. *Food Energy Secur.*, 2(2): 96–119.

Cubero, J.I. (2003). *Introducción a la mejora genética vegetal*. Ediciones Mundi-Prensa S.A. Madrid, España.

De Zulueta, A. y F. J. Ayala. (2009). *El origen de las especies por medio de la selección natural, Charles Darwin*. Editorial Los Libros de la Catarata. Madrid, España.

Díaz, A. (2017). Estrategias para mejorar el valor nutritivo de los forrajes en producción convencional y ecológica. Recuperado de <https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/6300/Tesis%20Alexey%20D%c3%adaz.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Donini, P. y Sonnino, A. (1998). Induced mutation in plant breeding: current status and future outlook. *Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement*, pp. 255–291. Springer.

Ebeling Viana, V., Pegoraro, C., & Busanello, C. (2019). Mutagenesis in Rice: The Basis for Breeding a New Super Plant. *Front. Plant Sci.* doi:<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01326>

El-Torky, M.G., (1992). Effect of EMS (*Ethylmethan sulphonate*) on variegation type and some other horticultural traits in *Euonymus japonicus*, linn. *J. Alex. Agric. Res.*, 37: 249-260.

Enríquez Q.J.F., A. Hernández G., A.R. quero C. Y D. Martínez M. (2015). Producción y manejo de gramíneas tropicales para pastoreo en zonas inundables. INIFAP Colegio de Postgraduados. Folleto Técnico. 60 p. https://www.researchgate.net/profile/AdrianQueroCarrillo/publication/280082284Produccion_y_Manejo_de_Gramineas_Tropicales_para_Pastoreo_en_Zonas_Inundables/links/55a70b7208ae410caa751192.pdf.

Epstein, L., Kaur, S., Chang, P.L., Carrasquilla-Garcia, N., Lyu, G., Cook, D.R., Subbarao, K.V. y O'Donnell, K. (2017). Races of the Celery Pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* Are Polyphyletic. *Phytopathology*, 107(4): 463–473.

Estrada-Basaldúa, J., Pedraza-Santos, M., Cruz-Torres, E., Martínez-Palacios, A., Sáenz-Romero, C., & Morales-García, J. (2011). Efecto de rayos gamma 60 Co en nardo (*Polianthes tuberosa* L.). *Revista Mexicana de Ciencia Agrícola*, 2(n spe 3), 445-458. Recuperado el 10 de mayo de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200709342011000900004&lng=es&nrm=iso.

FAO. (2015). *Agricultura mundial: hacia los años 2015/2030*. Informe resumido. FAO, Departamento Económico y Social. FAO:. Recuperado el 17 de Mayo de 2021, de

<http://www.fao.org/docrep/004/y3557s/y3557s11.htm>.

- Fita A, Rodríguez-Burruezo A, Boscaiu M, Prohens J. And Vicente O. (2015). Breeding and Domesticating Crops Adapted to Drought and Salinity: A New Paradigm for Increasing Food Production. *Front. Plant Sci.* 6:978. doi: 10.3389/fpls.2015.00978 <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2015.00978/full>.
- Fita, A.; Rodríguez – Barruezo, A. & Prohens, J., (2008). *Genética y Mejora Vegetal*. España, Editorial Universidad Politécnica de Valencia.
- Fontanetto Hugo y Agustín Bianchini. (2010). Análisis de suelos, la base para fertilizar adecuadamente los cultivos forrajeros. *Producir XXI*, Bs. As., 19(230):64-67. http://www.produccionanimal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas_fertilizacion/50-nutrir.pdf.
- Freitag, C. (2014). Efeito do bioestimulante Stimulate® em diferentes doses na produtividade total de milho (*Zea mays*). Monografía (Trabalho de Conclusã de Curso). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso Agronomía. Pato Branco. 40 pp.
- Fuchs M., González V., Castroni S., Díaz E., & Castro L. (2002). Evaluación de la reacción al virus del mosaico en plantas de caña de azúcar provenientes de callos irradiados. *Agronomía Trop.* [Online]. vol.52, n.3 [citado 2020-07-01], pp. 375-390. Disponible en: <http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2002000300008&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0002-192X.
- Fujita, D., Kohli, A. y Horgan, F.G. (2013). Rice resistance to planthoppers and leafhoppers. *Cri. Rev. Plant. Sci.*, 32(3): 162–191.
- García Pereira, D. W. (2019) “Producción y características agronómicas de estolones/m² resultantes de pasto janeiro (*Eriochloa polystachya*) irradiado a 52Gy de rayo gamma, en el cantón Babahoyo. Tesis previa a la obtención de INGENIERO AGRÓPECUARIO. Universidad Técnica de Babahoyo, Babahoyo. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/6743>.
- Gaul, H. (1959). A critical survey of genome analysis. *Proc 1st Int Wheat Genet Symp.* University of Winnipeg, Winnipeg, Canada. pp. 194–206. Paper presented at, 1959.
- Gaul, H., Frimmel, G. Gichner, T Ulonuska, E. (1972). Efficiency of mutagenesis, in: International Atomic Energy Agency, *Induced mutations and plant improvement*, Vienna, ,221 p.
- Golubnova, I. y K. Gecheff. (2011). M1 cytogenetic and physiological effects of gamma-rays in sudan grass (*Sorghum Sudanense* (piper.) stapf). *Bulgarian Journal of Agricultural Sciences* 17: 417-423.

- Gómez Villalva, Juan Carlos, Aguirre Terrazas, Lucrecia, Gomez Pando, Luz, Reyes Borja, Walter, Rodríguez Álava, Johns, & Arana Vera, Lenin. (2020a). Dosis letal media para inducir mutaciones, con rayos gamma, en pasto de enero (*Eriochloa polystachya* Kunth). Revista de producción animal, 32 (1), 73-83. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202020000100073&lng=en&tlng=en.
- Gómez Villalva, J., Salinas Lozada, C., Tierra Cedeño, F., & Rodríguez Álava, J. (2020b). Intervalos de corte de pasto Janeiro (*Eriochloa polystachya* Kunth) M2 irradiado con rayos gamma. Journal of science and research, 5. doi:<https://doi.org/10.5281/zenodo.4424206>
- Gomez-Pando L., Eguiluz-De la Barra A. (2013). Developing genetic variability of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) with gamma radiation for use in breeding programs. American Journal of Plant Sciences, 4, 349-355. Recuperado el 24 de mayo de 2017, de <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2013.42046>
- González, María C; Trujillo, Delfina; Mukandama, J. P Y Ali, M. M. Maybel (2009). Primera variedad de tomate para uso industrial y tolerante a bajos suministros de agua obtenida en cuba mediante la inducción de mutaciones. cultrop [online]. vol.30, n.4 [citado 2020-07-01], pp.00-00. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S025859362009000400001&lng=es&nrm=iso>. ISSN0258-5936.
- Granados, E. (2015). Efecto de bioestimulantes foliares en el rendimiento del cultivo de berenjena; Ocos, San Marcos. Tesis de grado, Universidad Rafael Landívar. Sede Regional de Coatepeque. Coatepeque. Guatemala. 46 pp.
- Grattapaglia D. (2017) Estado y perspectivas de la selección genómica en la mejora genética de árboles forestales. En: Varshney R., Roorkiwal M., Sorrells M. (eds) Selección genómica para la mejora de cultivos. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-63170-7_9.
- Gutiérrez, A., Santacruz F., Cabrera J.L. y Rodríguez B. (2003). Mejoramiento genético vegetal in vitro. e-Gnosis, 1:1-19.
- Gvozdencovic, S., S. Bado, R. Afza, S. Jovic and C. Mba, (2009). Intervarietal Differences in Response of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) to Different Mutagenic Treatments. In: Induced Plant Mutations in the Genomics Era, Hu, Q.Y. (Ed.). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, pp: 358-360.
- Hanna, W. y E. Elsner. (1999). Registration of "TifEagle" bermudagrass. Crop Sci. 39:1258.
- Harding, S. S., S. D. Johnson, D. R. Taylor, C. A. Dixon Y M. Y. Turay. (2012). Effect of gamma rays on seed germination, seedling height, survival percentage and tiller production in some rice varieties cultivated in Sierra Leone. American Journal of Experimental Agriculture.

2:247-255.

Henry, I.M., Nagalakshmi, U., Lieberman, M.C., Ngo, K.J., Krasileva, K.V., Vasquez-Gross, H., Akhunova, A., Akhunov, E., Dubcovsky, J., Tai, T.H. y Comai, L. (2014). Efficient Genome-Wide Detection and Cataloging of EMS-Induced Mutations Using Exome Capture and Next-Generation Sequencing. *Plant Cell*. (also available at <https://doi.org/10.1105/tpc.113.121590>).

Hernández-Muñoz S., Pedraza-Santos M., López P., Cruz-Torres E., Fernández-Pavía S., Martínez-Palacios A., & Martínez-Trujillo M. (2017). Determinación de la DL50 y GR50 con rayos gamma (60Co) en protocormos de *Laelia autumnalis* in vitro. *Agrociencia*, 51(5), 507-524. Recuperado en 22 de diciembre de 2020, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952017000500507&lng=es&tlng=es.

Herrera, R. (2015). El Instituto de Ciencia Animal, cincuenta años de experiencia en la evaluación de gramíneas de importancia económica para la ganadería. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 49(2), 221-232. Recuperado el 10 de mayo de 2021, de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193039698012>.

IAEA/MVD (1981). Base de datos de variedades mutantes. <https://mvd.iaea.org/#!/Variety/234>.

IAEA/MVD (1983) Base de datos de variedades mutantes <https://mvd.iaea.org/#!/Variety/237>.

IAEA/MVD (1995). Base de datos de variedades mutantes. <https://mvd.iaea.org/#!/Variety/295>.

Infoagro. (2008). Dosis recomendadas según necesidades hídricas y disponibilidad de suelos. https://www.infoagro.com/documentos/npk_dosis_recomendadas_según_necesidades_hidricas_y_disponibilidad_suelos.asp.

INIAP. (1989). Manual de pastos tropicales. Recuperado el 20 de julio de 2021, de Estación Experimental Pichilingue - INIAP: <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/1622/1/Manual%20n%c2%ba%2011%20de%20pastos%20tropicales%20reducido%20ultimo.pdf>.

INIAP. (1997). Manual de pastos tropicales para la Amazonía ecuatoriana. Manual N° 33. Quito-Ecuador.

International Atomic Energy Agency. (1977). Manual on mutation breeding, Second edition, Viena.

Irfan Siddique, M., Espalda, S., Jang, S., & Han, K. (2020). Development and Characterization of an Ethyl Methane Sulfonate (EMS) Induced Mutant Population in *Capsicum annum* L. *Plants*, 9(3), 396. doi:<https://doi.org/10.3390/plants9030396>Khalil, F., Naiyan, X., Tayyab, M., & Pinghua, C. (2018). Screening of EMS-Induced Drought-Tolerant Sugarcane Mutants

Employing Physiological, Molecular and Enzymatic Approaches. *Agronomy*, 8(10), 226. doi:<https://doi.org/10.3390/agronomy8100226>

Jain, S.M. (2001). Tissue culture-derived variation in crop improvement. *Euphytica*, 118:153166.

Jankowicz-Cieslak, J. y Till, B.J. (2015). Forward and reverse genetics in crop breeding. *Advances in plant breeding strategies: breeding, biotechnology and molecular tools*, pp. 215–240. Springer.

Jessica Elizabeth Riera Chávez. (2019). “Características morfológicas del pasto janeiro (*Eriochloa polystachya*), en el cantón Babahoyo - Provincia de Los Ríos”. Tesis pregrado. <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/49000/6131/1/TE-UTB-FACIAG-ING%20AGRON000187.pdf>.

JOINT FAO/IAEA DIVISIÓN OF NUCLEAR TECHNIQUES IN FOOD AND AGRICULTURE. (1977). *Manual on Mutation breeding*, 2 ed. International Atomic Energy Agency, Technical reports series 119, Viena, 1977.

Kawai, T A. (1962). Comparison of biological effects produced by external and internal irradiation. *Recent advances in breeding*. Tokio.

Keinan, A., J. C. Mullikin, N. Patterson y D. Reich. (2007). Measurement of the human allele frequency spectrum demonstrates greater genetic drift in East Asians than in Europeans. *Nature Genetics*. 39:1251-1255.

Khalil, F., Naiyan, X., Tayyab, M., & Pinghua, C. (2018). Screening of EMS-Induced Drought-Tolerant Sugarcane Mutants Employing Physiological, Molecular and Enzymatic Approaches. *Agronomy*, 8(10), 226. doi:<https://doi.org/10.3390/agronomy8100226>

Khan, M.H. y Tyagi, S.D. (2013). A review on induced mutagenesis in soybean. *Journal of Cereals and Oilseeds*, 4(2): 19–25.

Kovalchuk, O., Arkhipov, A., Barylyak, I., Karachov, I., Titov, V., Hohn, B. y Kovalchuk, I. (2000). Plants experiencing chronic internal exposure to ionizing radiation exhibit higher frequency of homologous recombination than acutely irradiated plants. *Mut. Res. Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 449(1): 47–56.

Kumar, & Pandey. (2020). Cambios inducidos por el metanosulfonato de etilo en los aspectos cito-morfológicos y bioquímicos de *Coriandrum sativum* L. *Revista de la Sociedad Saudita de Ciencias Agrícolas*, 19(8), 548-550. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.03.003>

Kusaksiz, T. y Dere, S. (2010). A study on the determination of genotypic variation for seed yield and its utilization through selection in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) mutant populations. *Turk. J. Field Crops.*, 15(2): 188–192.

- Lagoda, P. (2012). Mejoramiento con mutaciones vegetales y biotecnología. DOI 10.1079 / 9781780640853.0123 <https://www.cabi.org/cabebooks/ebook/20123349342>.
- Lebeda, A. y Svabova, L. (2010). In vitro screening methods for assessing plant disease resistance. International Atomic Energy Agency (IAEA), IAEA.
- Leon Garcia, A. (2016). Determinación de la concentración óptima de Metano Sulfonato de Etilo en *Phaseolus vulgaris* L. cultivar DOR 364. Recuperado el 06 de Junio de 2020, de Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas: <https://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/6632/Tesis%20Aidelyn%2012-6....97-2003.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- León, R. (2006). Pastos y Forrajes Producción y Manejo. Quito, Pichincha, Ecuador: Escuela Politécnica del Ejercito.
- Li, R., A. H. Bruneau y R. Qu. (2010). Morphological mutants of St. Augustinegrass induced by gamma ray irradiation. *Plant Breed.* 129:412-416.
- López, D. C., C. Jaramillo y F. Ghul. (2007). Estructura poblacional y variabilidad genética de *Rhodnius prolixus* (*Hemiptera: Reduviidae*) procedente de diferentes áreas geográficas de Colombia. *Biomédica.* 27:28-39.
- López, E. (2011). Universidad Internacional de Andalucía. Recuperado el 31 de Diciembre de 2020, de Inducción de variabilidad genética para tolerancia a estrés abiótico mediante técnicas de cultivo in vitro en *Cenchrus ciliaris* L.: <https://core.ac.uk/download/pdf/72021262.pdf>
- Lu, S., Z. Wang, Y. Niu, Y. Chen, H. Chen, Z. Fan, J. Lin, K. Yan, Z. Guo y H. Li. (2009). Gamma-ray radiation induced dwarf mutants of turf-type bermudagrass. *J. Plant Breed.* 128:205-209.
- Madera, N, Ortiz, B., Bacab, Hm, Magaña, H. (2013) Influencia de la edad de corte del pasto morado (*Pennisetum purpureum*) en la producción y digestibilidad in vitro de la materia seca. *Avances en Investigación Agropecuaria* [en línea]. 17 (2), 41-52 [fecha de consulta 11 de julio de 2020]. ISSN: 0188-7890. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83726339005>.
- Márquez Freddy, José Sánchez, Diannelis Urbano Y Ciro Dávila (2007). Evaluación de la frecuencia de corte y tipos de fertilización sobre tres genotipos de pasto elefante (*Pennisetum purpureum*). 1. Rendimiento y contenido de proteína. *Zootecnia Trop.*, 25(4): 253-259. 2007. <http://ve.scielo.org/pdf/zt/v25n4/art03.pdf>.
- Martínez, F. (2019). Info pastos y forrajes. Recuperado el 24 de Junio de 2020, de Ficha Técnica Pasto janeiro (*Eriochloa polystachya*): <https://infopastosyforrajes.com/pasto-de->

pastoreo/pasto-janeiro-eriochloa-polystachya/.

- Méndez Carvajal Carlos Andrés (2013). Evaluación de tres niveles de fertilización nitrogenada y su interacción con tres dosis de giberelinas en aster (*Aster* sp.). Checa, Pichincha. Tesis Ing. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/2032>.
- Mendoza, M.; Sámano, S.; Cervantes, F.; Andrio, E.; Rangel, J.A.; Rivera, J.G.; Guevara, L.P.; Moreno, E. (2014). Evaluación de la fertilización integral en la producción de semilla de triticale (X *Triticum secale Wittmack*). *Phyton (Revista Internacional de Botánica Experimental)* 83: 93-100.
- Molina, I. A. (10 de Enero de 2020). Estación Meteorológica Faciag/UTB. (I. Cortez, Entrevistador)
- Morales, C. R., C., Avendaño, A., Melgoza, G., Vega, K. del Carmen, A., Quero y M., Martínez. (2016). Caracterización morfológica y molecular de poblaciones de pasto banderita (*Bouteloua curtipendula*) en Chihuahua, México. *Rev. Mex. Cienc. Agr.* 7:455-469.
- Mostafa, G. (2015). Efecto de algunos mutágenos químicos sobre el crecimiento, la composición fitoquímica y la inducción de mutaciones en *Khaya senegalensis*. *Revista internacional de fitomejoramiento y genética* (9), 57-67. doi:10.3923 / ijpbg.2015.57.67.
- Mussi, Carlos; Nakayama, Héctor Y Oviedo De Cristaldo, Rosa. (2016). Variabilidad fenotípica en poblaciones M1 de sésamo (*Sesamum indicum* L.) irradiado con rayos gamma. *cultrop [online].*, vol.37, suppl.1 [citado 2020-07-01], pp.74-80. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S025859362016000500010&lng=es&nrm=iso>.ISSN0258-5936.
- Nairy, R.K., Bhat, N.N., Anjaria, K., Sreedevi, B., Sapra, B. y Narayana, Y. (2014). Study of gamma radiation induced damages and variation of oxygen enhancement ratio with radiation dose using *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 302(2): 1027–1033.
- Navarro Marroquín, IS; Castro Galdámez, KL; Arriaza Fuentes, CA. (2008). Identificación, selección y caracterización de clones de marañón (*Anacardium occidentale*) con alto potencial genético de producción, en la Cooperativa ACOPASMA, cantón Tierra Blanca, Chirilagua, departamento de San Miguel. Tesis Ing. Agr. San Salvador, SV, UES. 174 p.
- Novak, F. & Brunner H. (1992). *Plant Breeding: Induced mutation technology for crop improvement*. IAEA bulletin, 4: 25-33 p.
- Ochoa-Carrillo, F. J., R. Carrillo-Esper, Á. A. Pérez-Calatayud, D. M. Carrillo Córdova y C. A. Carrillo-Córdova. Impacto de la microgravedad y la radiación espacial en el comportamiento celular y carcinogénesis. En *medicina espacial*. R. Carrillo-Esper, J. A. Díaz Ponce-Medrano y L. Padrón-San Juan, eds. Intersistemas. D.F. México.
- Oerke, E.-C. (2006). Crop losses to pests. *J. Agric. Sci.*, 144(1): 31–43.

- Olasupo O., Ilori C., Forster B. Y Bado S. (2016). Mutagenic effects of gamma radiation on eight accessions of cowpea *Vigna unguiculata* L. American Journal of Plant Sciences 7 339-351. DOI: 10.4236 / ajps.2016.72034 <https://www.researchgate.net/publication/299510928> Mutagenic Effects of Gamma Radiation on Eight Accessions of Cowpea *Vigna unguiculata* L Walp/citations
- Otahola G., Aray M., Y Antoima Y. (2001). Inducción de mutantes para el color de la flor en crisantemos (*Dendranthema grandiflora* (Ram.) Tzvelev) mediante radiaciones gamma. Rev. Udo Agric. 1(1):56 - 63. <http://www.bioline.org.br/pdf?cg01009>
- Otahola, G. V.; Aray, M.; Y Antoima, Y. (2001). Inducción de mutantes para el color de la flor en crisantemos (*Dendranthema grandiflora* (Ram.) Tzvelev) mediante radiaciones gamma. Rev UDO Agríc. 1(1):56 - 63. <http://www.bioline.org.br/pdf?cg01009>.
- Pardo, A., Hernández, A., & Méndez, N. Y. (2015). Análisis genético mediante marcadores RAPD de microbulbos de ajo conservados e irradiados in vitro. Bioagro, 27(3), 143-150. Recuperado el 15 de mayo de 2021, de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S131633612015000300002&lng=es&tlng=es.
- Pérez, Liliana C., Rodríguez, Luis E., & Gómez, Manuel I.. (2008). Efecto del fraccionamiento de la fertilización con N, P, K y Mg y la aplicación de los micronutrientes B, Mn y Zn en el rendimiento y calidad de papa criolla (*Solanum phureja*) variedad Criolla Colombia. Agronomía Colombiana, 26(3), 477-486. Retrieved January 04, 2021, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652008000300013&lng=en&tlng=es.
- Pierce, B. A. (2010). Genética, un enfoque conceptual. 3ra ed. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España.
- Podevin, N., H. V. Davis, F. Hartung, F. Nogué y J. M. Casacuberta. (2013). Sitedirected nucleases: a paradigm shift in predictable, knowledge-based plant breeding. Trends in Biotechnology.31:375-383.
- Pongtongkam, P., S. Peyachoknagul, J. Arananant, A. Thongpan y S. Tudsri. (2006). Production of salt tolerance dwarf napier grass (*Pennisetum purpureum* cv. Mott) using tissue culture and gamma irradiation. Nat. Sci. 40:625-633.
- Quintas Sayda & Quintas Jefferson. (2019). Radiosensibilidad de la arveja (*Pisum sativum* L.) var. Blanco Churcampino a través de irradiaciones gamma ⁶⁰Co. Universidad Nacional de Huancavelica. [Tesis]. <http://repositorio.unh.edu.pe/handle/UNH/2958>.
- Rajarajan. D., R. Saraswathi y D. Sassikumar. (2016). Determination of lethal dose and effect of gamma ray on germination percentage and seedling parameters in ADT (R) 47 rice.

- Ramchander. S., R. Ushakumari y M. A. Pillai. (2015). Lethal dose fixation and sensitivity of rice varieties to gamma radiation. *Indian Journal of Agricultural Research*. 49:24-31.
- Rendon, R. (2011). Longitud de raíz y valor nutricional de cinco variedades de pastos en diferentes estados de madurez. Obtenido de Universidad Técnica Estatal de Quevedo : <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/4687/1/T-UTEQ-0467.pdf>.
- Reyes W. (2007). Gamma rays and carbon ion-beams irradiation for mutation induction to breed banana (*Musa spp.*), especially on response to black sigatoka disease. Rep. Tsukuba, Japón: Universidad de Tsukuba.repo.nii.ac., <https://pdfs.semanticscholar.org/2462/7a677acf523c6364619def3f26e3748a87ac.pdf>
- Riera, J . (2019). “Características morfológicas del pasto janeiro (*Eriochloa polystachya*), en el cantón Babahoyo - Provincia de Los Ríos. Universidad Técnica de Babahoyo. <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/6131>.
- Rojas, L., Collado, R., & León, A. (2016). Concentración óptima de Metano Sulfonato de Etilo en *Phaseolus vulgaris* L. cv. ‘DOR 364’ para inducir variaciones fenotípicas. *Instituto de Biotecnología de las Plantas. UCLV.*, 16(3), 179 - 188. Recuperado el 30 de noviembre de 2019, de Instituto de Biotecnología de las Plantas. UCLV.: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/526/html>.
- Rolando, C. et al. (1989). *Manual de Pastos Tropicales*. Quito-Ecuador. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Manual N° 11. 5-9, 21-24, 30-31, 35-36pp.
- Rossi Laura, Watson Dana, Escandarani Soledad, Miranda Andrea, Troncoso Alcides. (2009). La radiación a la mesa. *Rev. chil. infectol.* [Internet]. Ago [citado 2021 Jul 26] ; 26(4): 318-330. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071610182009000500003&lng=pt. <http://dx.doi.org/10.4067/S071610182009000500003>.
- Saeed, I. y Hassan, M.F. (2009). High yielding groundnut (*Arachis hypogea* L.) variety “Golden”. *Pak. J. Bot*, 41(5): 2217–2222.
- Salamanca A. (2010). Suplementación de minerales en la producción bovina. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria [en línea]*. 11 (9), 1-10 [fecha de consulta 11 de julio de 2021]. ISSN: Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63615732008>.
- Salcedo Aceves, Jorge Y Barrios Gómez, Edwin Javier. Morelos A (2010). Nueva variedad de arroz para siembra directa para el centro de México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc [online]*. 2012, vol.3, n.7 [citado 2020-07-01], pp.1453-1458. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200709342012000700015

&lng=es&nrm=iso>.ISSN2007-0934.

- Sánchez W. (2018). Potencial de los forrajes para producir ensilaje de calidad. *Alcances Tecnológicos*, 12(1), 49 - 58. <https://doi.org/10.35486/at.v12i1.37>
- Segura, M., C. Rojo y M. A. Rodrigo. (2007). Factores que controlan la variabilidad morfológica de *Pediastrum tetras* bajo diferentes condiciones experimentales. *Limnetica*. 26: 233-242.
- Serrat X., Esteban R., Guibourt N., Moysset L., Nogués S., Lalanne E. (2014). La mutagénesis de EMS en callos de arroz derivados de semillas maduras como un nuevo método para obtener rápidamente poblaciones mutantes TILLING. *Plant Methods* 10 , 5. 10.1186 / 1746-4811-10-5 [artículo gratuito de PMC] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].
- Servin, A., Elmer, W., Mukherjee, A., De la Torre-Roche, R., Hamdi, H., White, J.C., Bindraban, P. y Dimkpa, C. (2015). A review of the use of engineered nanomaterials to suppress plant disease and enhance crop yield. *J. Nanopart. Res.*, 17(2): 92.
- Songsri P., Suriharn B., Sanitchon J., Srisawangwong S. Y Kesmala T. (2011). Effects of Gamma radiation on germination and growth characteristics of physic nut (*Jatropha curcas* L.). *J. Biol. Sci.* 11. 268-274.
- Southerton G, CC Macmillan, JC Bell, N. Bhuiyan, G. Dowries, IC Ravenwood, KR Joyce, D. Williams Y BR Thumma (2013). Asociación de variación alélica en genes del xilema con propiedades de la madera en *Eucalyptus nitens* , *Australian Forestry*, 73 : 4, 259-264, DOI: 10.1080 / 00049158.2010.10676337. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00049158.2010.10676337>.
- Suthakar, V., & Mullainathan, L. (2015). Studies on Effect of Physical and Chemical Mutagens in Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) in M2 Generation". *International Letters of Natural Sciences*, 37, 46-50. doi:<https://doi.org/10.18052/www.scipress.com/ILNS.37.46>
- Terán Rizzo, Carlos Andrés (2016). Evaluación de variedades de pastos a la aplicación de dosis de fertilización edáfica y foliar en la zona de Vinces para valorar el porcentaje de biomasa, contenido de proteína. [Tesis]. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/20851>.
- Thole V., Peraldi A., Worland B., Nicholson P., Doonan H. Y Vain P. (2012). T-dna mutagenesis in *Brachypodium distachyon*. *Journal of Experimental Botany*.63: 567–576.https://www.researchgate.net/publication/51804995_T-DNA_mutagenesis_in_Brachypodium_distachyon
- Torres Calderón, EE. (2007). Identificación y caracterización in situ de germoplasma de mamey (*Mammea americana* L.) en la Facultad de Ciencias Agronómica, con potencial genético en zonas productoras de El Salvador. Tesis Ing. Agr. San Salvador, SV, UES. 128 p.
- Tulmman, Neto. (1986). Inducaao e uso de muta cao no me/ho ramento de plantas, Piracicaba,

CENA, Brasil, 1986.

UCLA, (2016), Statistical Consulting Group. Introduction to SAS. [En línea]. California, USA. Recuperado en http://www.ats.ucla.edu/stat/mult_pkg/faq/general/ld50.htm Consultado el: 22 de noviembre de 2016

Valarezo A. (2015). Detección temprana de mutantes de banano tolerantes o resistentes a Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*, Morelet) en condiciones de vivero. Recuperado el 14 de mayo de 2017, de Repositorio Digital utb: <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/1073>

Valdés A., Orellana P., Veitía N., Torres D. (2004). Crecimiento, regeneración y radiosensibilidad de callos de caña de azúcar (*Saccharum* spp. híbrido var. SP 70-1284) tratados con radiación gamma fuente 60Co. *Biotecnología Vegetal* 4 165-169.

Van Harten, A.M. (1998). *Mutation breeding: theory and practical applications*. Cambridge University Press.

Villalobos Luis, Jorge Ml. Sánchez. (2010). Evaluación agronómica y nutricional del pasto ryegrass perenne tetraploide (*Lolium perenne*) producido en lecherías de las zonas altas de Costa Rica y producción de biomasa y fenología. *Agronomía Costarricense* 34(1): 31-42. ISSN:0377-9424 /<https://www.scielo.sa.cr/pdf/ac/v34n1/a03v34n1.pdf>.

Xia, T., Zhang, L., Xu, J., Wang, L., Liu, B., Hao, M., Chang, X., Zhang, T., Li, S., Zhang, H. y Liu, Y. (2017). The alternative splicing of EAM8 contributes to early flowering and short-season adaptation in a landrace barley from the Qinghai-Tibetan Plateau. *Theor. Appl. Genet.*, 130(4): 757–766.

Xia-Yun, J., S. Cheng-Fei, Z. Quan-Gen y Z. Shu-Ming. (2011). ENU-Induced Mutagenesis in Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*) by Treating Mature Sperm.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO



EDITORIAL
UNIVERSIDAD
TÉCNICA DE BABAHOYO



ISBN: 978-9942-8949-3-9



9 789942 894939

