

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/352414735>

INDUCCIÓN de MUTACIONES: Estado del conocimiento en el mejoramiento de plantas en América Latina y el Caribe

Book · June 2021

CITATIONS

0

READS

7

1 author:



[Sergio de los Santos-Villalobos](#)
Instituto Tecnológico de Sonora

101 PUBLICATIONS 579 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



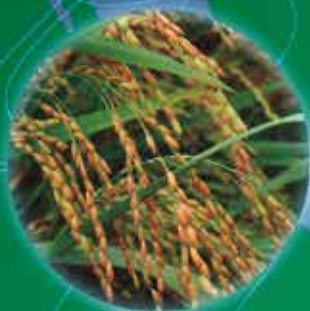
Meeting of Food Engineering [View project](#)



Things which interest you [View project](#)

INDUCCIÓN *de* MUTACIONES:

Estado del conocimiento en el mejoramiento de
plantas en América Latina y el Caribe



Sergio de los Santos Villalobos
Coordinador

editorial
fontamara

**INDUCCIÓN DE MUTACIONES:
ESTADO DEL CONOCIMIENTO
EN EL MEJORAMIENTO DE PLANTAS
EN AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE**

**INDUCCIÓN DE MUTACIONES:
ESTADO DEL CONOCIMIENTO
EN EL MEJORAMIENTO DE PLANTAS
EN AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE**

**Sergio de los Santos Villalobos
(Coordinador)**

Primera edición: abril 2021

Reservados todos los derechos conforme a la ley

DR. © 2021 Sergio de los Santos Villalobos (Coordinador)

DR. © 2021 Editorial Fontamara, S. A. de C. V.

Av. Hidalgo No. 47-b, Colonia Del Carmen
Alcaldía de Coyoacán, 04100, CDMX, México

Tels. 5659-7117 y 5659-7978 Fax 5658-4282

Email: contacto@fontamara.com.mx

coedicion@fontamara.com.mx

www.fontamara.com.mx

ISBN Fontamara 978-607-736-684-3

Impreso y hecho en México

Printed and made in Mexico

Esta obra fue dictaminada con el método de doble ciego
por pares académicos especialistas en el tema.

AGRADECIMIENTOS

Se extiende un sincero agradecimiento a los autores y co-autores de esta obra, por su valiosa contribución. Además, se agradece al proyecto RLA5/068 “Improving Yield and Commercial Potential of Crops of Economic Importance (ARCAL CL)”, en el marco del Acuerdo Regional de Cooperación para la Promoción de la Ciencia y Tecnología Nucleares en América Latina y el Caribe (ARCAL), auspiciado por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA), por el financiamiento otorgado para consolidar en el empleo de la inducción de mutaciones en el mejoramiento de plantas en América Latina y el Caribe. Finalmente, se reconoce al Instituto Tecnológico de Sonora y todas las instituciones colaboradoras por el apoyo y respaldo al quehacer académico-científico de todos los involucrados en esta obra, el cual está encaminado a la generación de conocimientos, tecnologías y formación integral de recursos humanos con alta capacidad crítica y liderazgo para afrontar los retos actuales y venideros de nuestra sociedad.

Sergio de los Santos Villalobos
Coordinador

INSTITUCIONES COLABORADORAS

Brasil



Colombia



Costa Rica



Cuba



Ecuador



El Salvador



Guatemala



México



Paraguay



Perú



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA



Acuerdo Regional de Cooperación para
la Promoción de la Ciencia y la Tecnología
Nucleares en América Latina y el Caribe



NODO DE CIENCIA
Y TECNOLOGÍA NUCLEAR

DEDICATORIA

El presente libro está dedicado a investigadores que contribuyeron a impulsar el conocimiento de la inducción de mutaciones, y su aplicación, en el mejoramiento de plantas en América Latina y el Caribe.

Efrain Gerdardo Salazar Yamarte †
Unidad de Biotecnología Agrícola Vegetal
Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas

Ewald A. Favret †
Instituto de Genética
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)

Marino Romero Loli †
Programa de Investigación en Cereales y Granos Nativos
Universidad Nacional Agraria La Molina

Patricio Barriga Bezanilla †
Universidad Austral de Chile

Takazi Ishiy †
Projeto Arroz
Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural
de Santa Catarina (EPAGRI)

Willy Navarro Álvarez †
Escuela de Ciencias Agrarias (ECA)
Universidad Nacional de Costa Rica (UNA)

PREFACIO

El mejoramiento de plantas por mutación se ha utilizado con éxito durante varias décadas, desde la primera demostración –en 1927 por John Lewis Stadler– del uso de los rayos X y el elemento radio (Ra) para producir variaciones genéticas en cultivos de cereales.

Esta técnica ha contribuido de manera significativa a la seguridad alimentaria y nutricional a nivel mundial, y a los ingresos de los agricultores durante las últimas siete décadas, mediante su aplicación en el desarrollo de variedades de cultivos con mayor rendimiento; variedades con comportamiento estable o mejorado ante fenómenos de cambio climático, como sequía, altas temperaturas, inundaciones, entre otros, y resistentes a las enfermedades y plagas prevalentes con crecientes intensidades y frecuencias de diseminación transfronteriza. Las mutaciones espontáneas forman la base de la evolución. En la historia del mejoramiento moderno de los cultivos, las mutaciones espontáneas en los genes de enanismo en el trigo y el arroz fueron los principales impulsores de la revolución verde en la década de 1960.

La variación genética inducida generada mediante mutágenos físicos y químicos en el material de siembra, como semillas sexuales y propágulos vegetativos, acelera la tasa de evolución espontánea y ofrece una gran cantidad de material vegetal diverso para seleccionar y desarrollar variedades de cultivos nuevos y mejorados. Las técnicas involucradas en la inducción de mutaciones y la selección de material vegetal mejorado y su desarrollo en nuevas variedades, así como los sistemas de innovación involucrados en la diseminación de semillas de calidad a los agricultores para su cultivo, continúan evolucionando con tecnologías y enfoques innovadores.

Si bien los rayos gamma siguen siendo la principal fuente de mutágenos para la mejora por mutaciones en la mayoría de los países del mundo, cada vez se presta más atención a los haces de electrones y los haces de iones pesados para la inducción de mutaciones. Además, la selección del material vegetal mejorado resultante de la mutagénesis inducida sigue siendo un área importante de investigación continua, debido a las siguientes razones: 1) debe adaptarse a las características de la planta que se desea mejorar; 2) continuamente se buscan eficiencias de tiempo y espacio mediante metodologías de fenotipado e instalaciones de alto rendimiento, y 3) el descubrimiento y uso de marcadores moleculares son cada vez más factibles, debido al uso de tecnologías genómicas y bioinformáticas con costos accesibles. Por otra parte, otras tecnologías de mejoramiento rápido, como los dobles haploides y su aplicación a diferentes especies de cultivos, están siendo cada vez más estudiadas y aplicadas en el mejoramiento por mutaciones.

Finalmente, si bien la mejora de las especies propagadas por semillas a través de la mutagénesis ahora es razonablemente perfecta y solo tiene que evolucionar con las tecnologías innovativas, el mejoramiento por mutaciones en especies propagadas vegetativamente –como banano, tubérculos y cultivos de árboles perennes– sigue siendo un desafío. Las técnicas *in vitro* y la generación de mutantes no quiméricos son críticas para la eficiencia de la mejora de dichas especies.

En América Latina y el Caribe, el mejoramiento por mutaciones se ha utilizado para mejorar una variedad de cultivos para diversos caracteres con el apoyo del Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA). Los cultivos mejorados incluyen especies propagadas por semillas, como arroz, cebada, amaranto, quinua y trigo, así como cultivos de propagación vegetativa, como papa y camote.

Este libro es una recopilación de la investigación y los resultados del mejoramiento por mutaciones aplicados a estos diferentes cultivos en la región, y una discusión de las diferentes metodologías utilizadas.

Shoba Sivasankar

Jefe de sección, fitomejoramiento y genética
División conjunta FAO/OIEA de Técnicas Nucleares
en la Alimentación y la Agricultura
Viena, Austria

CAPÍTULO 1

BRASIL: FITOMEJORAMIENTO DEL ARROZ (*ORYZA SATIVA* L.)

*Alexander De Andrade*¹

*Augusto Tulmann Neto*²

Resumen

Los grandes avances en la producción de arroz en Brasil están directamente vinculados a inversiones de iniciativas públicas y privadas en programas de mejoramiento genético. El desarrollo de nuevas variedades más productivas y adaptados a las diferentes condiciones edafoclimáticas del país hicieron posible la autosuficiencia del grano, que es la base de la alimentación de millones de brasileños. El mejoramiento genético ha utilizado técnicas tradicionales y nuevas herramientas biotecnológicas en el desarrollo de nuevas variedades. La mutación inducida es una técnica utilizada por diferentes programas de fitomejoramiento para generar la variabilidad genética necesaria en el desarrollo de nuevos genotipos. Actualmente, más del 70 % de la superficie cultivada con arroz en Brasil corresponde a cultivares que tienen características obtenidas por la mutación inducida. La aplicación de la mutación inducida en plantas en Brasil ocurrió de manera sistemática y continua desde 1964, utilizando el arroz como planta modelo, también llevando a cabo diferentes estudios sobre el potencial y los efectos de la mutación inducida en distintas especies vegetales con mutación inducida química y física aplicada en semillas (arroz, maíz, frijoles, tabaco, trigo y soja), en plantas propagadas vegetativamente (pimienta negra, cítricos,

¹ Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), Estação Experimental de Itajaí, Rodovia Antônio Heil, n.6800, Itaipava, Itajaí, SC, Brasil, CEP: 88318-112, CP: 277. alexanderandrade@epagri.sc.gov.br

² Laboratório de Melhoramento de Plantas-Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura (Cena), Av. Centenário, n.303, São Dimas, Piracicaba, SP, Brasil, CEP:13.400-970, CP: 96. tulmann@cena.usp.br

higo, manzana y plantas ornamentales) e *in vitro* (banana, tabaco, piña, pimienta negra y algunas especies ornamentales). El trabajo desarrollado en Brasil con mutágenos físicos y químicos difundió la aplicación de la técnica a universidades, centros de investigación públicos, privados y en otros países de América Latina.

Introducción

En Brasil la mutación inducida es una técnica utilizada por diferentes programas de mejora genética de plantas para generar la variabilidad genética necesaria en el desarrollo de nuevos genotipos. El trabajo con mutación inducida en Brasil empezó en la década de 1960 por el profesor Akihiko Ando (figura 1), con la irradiación de tabaco y arroz con rayos gamma en el reactor de la Universidad de São Paulo (USP). El profesor Ando empezó los estudios de mutación inducida en Japón con arroz (Yamaguchi y Ando, 1959) y después fue contratado por el Departamento de Genética de la Escuela Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (Esalq), de la Universidad de São Paulo (USP) para desarrollar y aplicar la técnica de mutagénesis en el fitomejoramiento.

Figura 1. *Dr. Akihiko Ando con la variedad de arroz SCS114 Andosan en el campo experimental de Epagri en Itajaí, Santa Catarina, Brasil*



Fuente: archivo personal de los autores

El programa de investigación de mejoramiento de arroz coordinado por el profesor Ando empezó en 1964 con la ayuda de la Comisión Nacional de Energía Nuclear. El potencial de la aplicación de la energía nuclear en la agricultura, incluida la inducción de la mutación vegetal, permitió la creación, en 1966, del Centro de Energía Nuclear en la Agricultura (CENA). En el establecimiento y desarrollo del Cena, el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) desempeñó un papel clave en el suministro de equipos, capacitación e inversiones en proyectos de investigación.

El Cena, desde su fundación, ha llevado a cabo varios estudios sobre el efecto de la radiación ionizante en distintas especies vegetales. Se ha trabajado en la aplicación de la mutación inducida química y físicamente en semillas (arroz, maíz, frijoles, tabaco, trigo y soja), en plantas propagadas vegetativamente (pimienta negra, cítricos, higo, manzana y plantas ornamentales) e *in vitro* (banana, tabaco, piña, pimienta negra y algunas especies ornamentales).

Actualmente, Cena tiene dos fuentes ^{60}Co que se usan en la inducción de mutaciones. Además de aplicar mutágenos químicos como metil metanosulfonato (MMS), metanosulfonato de etilo (EMS), imina de etileno (EI), sulfato de dietil (DES) y azida sódico (SA). El trabajo desarrollado con mutágenos físicos y químicos difundió la aplicación de la técnica a universidades, centros de investigación públicos y privados en Brasil y otros países latinoamericanos.

Mutagénesis en el mejoramiento genético del arroz

En Brasil, el uso del arroz como planta modelo en trabajos básicos de mutación inducida con rayos gamma y mutágenos químicos, aplicados solos y combinados, ha hecho posible sistematizar y difundir el uso de la técnica en diferentes programas de fitomejoramiento (Ando, 1968; 1970a; 1970b). El potencial de aplicar la mutación inducida al fitomejoramiento en Brasil se demostró en una prueba de productividad con mutantes de arroz de diferentes países, realizada en São Paulo (Ando *et al.*, 1971).

El análisis de los efectos fisiológicos de los mutágenos en la generación M_1 , con la cosecha individual de las panículas y el análisis de la frecuencia de la mutación de clorofila en la generación M_2 , permitió comprender y sistematizar los aspectos básicos de la técnica. Se establecieron parámetros (germinación, supervivencia, fertilidad de la planta) en la generación M_1 para la selección de dosis, tratamientos para obtener frecuencias más altas de mutaciones, aspectos del quimerismo en las plantas de la generación M_1 , importancia de las primeras panículas florecidas para obtener una tasa de segregación más baja y una mayor frecuencia de mutaciones.

El trabajo de mutación inducida, realizado en São Paulo con arroz, promovió la aplicación de la técnica en el fitomejoramiento y la capacitación de recursos humanos en universidades e instituciones de investigación en diferentes regiones de Brasil (Guimaraes, 1978; Oliveira, 1988; Faracco, 1990; Silva, 1994; Ando & Tulmann Neto, 1996; Tisselli Filho *et al.*, 1996; Yokoyama *et al.*, 1996; Sandhu *et al.*, 2002; Martins *et al.*, 2007; Kopp *et al.*, 2007a; Kopp *et al.*, 2007b; Malone *et al.*, 2007; Silva, 2010; Viana *et al.*, 2019). Además, un aumento en la variabilidad genética para la altura de la planta (Silva, 1994), alteración de la floración (Pharei, 1994), macollaje (Ando y Tulmann, 1996), resistencia a la toxicidad del hierro (Bacha *et al.*, 2001) y resistencia a los herbicidas (Andrade *et al.*, 2018).

Los resultados obtenidos con la inducción de mutaciones en el arroz permitieron a las instituciones brasileñas participar en 1985 del programa financiado por el OIEA, llamado Arcal VII, que tenía como objetivo el uso de técnicas de inducción de mutaciones en la mejora de los cereales. El programa fue coordinado por la Sección de Radiogenética de Cena, Departamento de Genética de Esalq, y contó con la participación: Instituto Agronômico de Campinas (IAC) y Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri). Los resultados logrados con la aplicación de la mutación inducida en el arroz atraieron la atención de instituciones privadas de mejoramiento como Cia Oryza & Soy, que adoptaron la técnica en 2015 y Ricetec en 2017.

El conjunto de trabajos desarrollados con mutación inducida en la mejora del arroz por el profesor Ando fue reconocido en Brasil por institutos de investigación como Epagri en 2005, Embrapa en 2011 y Japón en 2006 con el premio The Koshi-Hikari International Rice Prize. Además, el OIEA en 2014 reconoció con una mención de honor la importancia del trabajo de investigación con mutación inducida desarrollado por el Departamento de Genética de Esalq, el Laboratorio de Fitomejoramiento de Cena y Epagri.

Desenvolvimiento de nuevas variedades de arroz en Epagri

El programa de mejora de arroz de Epagri, en colaboración con Cena desde 1985, ha utilizado la mutación inducida para desarrollar nuevas líneas. El método comúnmente utilizado para promover la mutación en el arroz es el tratamiento de semillas con radiación ionizante, como los rayos gamma. El procedimiento de irradiación se lleva a cabo en Cena/USP y el proceso de evaluación y selección de líneas se desarrolla en la Epagri/Estación Experimental de Itajaí.

El investigador Dr. Takazi Ishiy (figura 2) fue responsable por la introducción de la mutación inducida en el programa de mejoramiento de arroz de Empasc/Epagri. La participación en 1985 en el Curso Regional sobre la Aplicación de Técnicas de Inducción de Mutaciones para el Mejoramiento de los Cereales, en Piracicaba, financiado por el Proyecto ARCAL, despertó el interés del investigador en el uso de la técnica. El tema de su tesis doctoral sobre fitomejoramiento fue la inducción de mutaciones en el arroz mediante rayos gamma (Ishiy, 1991).

Figura 2. Dr. Takazi Ishiy durante la evaluación y selección de arroz mutante en la generación M_2 en el campo experimental de Epagri en Itajaí, Santa Catarina, Brasil



Fuente: archivo personal de los autores

Durante su tesis doctoral, Takazi evaluó el efecto de dosis y quimerismo en la generación M_1 y cosecha de semillas en arroz. Al tratar las semillas con dos dosis de rayos gamma, cosechó cinco semillas de las primeras tres panículas y, desde la generación M_2 , comenzó la selección de mutantes, obteniendo varios linajes con el potencial de convertirse en cultivares. Con base en los resultados obtenidos durante la tesis doctoral de Takazi, el programa de mejoramiento de arroz de Epagri comenzó a adoptar esta metodología. Con los años, además del uso de rayos gamma, se utilizó el tratamiento de semillas con SA y EMS. Además del uso de diversos mutágenos y la especialización e interés de los investigadores, el éxito del programa se debe a otros factores como:

- Tratamiento de una gran cantidad de semillas, haciendo posible que, entre los mutantes con el mismo fenotipo, se seleccionen aquellos con las menores alteraciones en el genotipo.
- Tratamiento de cultivares que, en general, tienen excelentes condiciones agronómicas pero que aún deben modificarse en alguna característica.
- Introducción en cada año de cultivo, de nuevos tratamientos con mutágenos, haciendo que la alternancia generacional en el campo siempre exista (M_1 , M_2 , M_3 , M_4 , M_5 , M_6) aumentando las posibilidades de selección de nuevos mutantes.

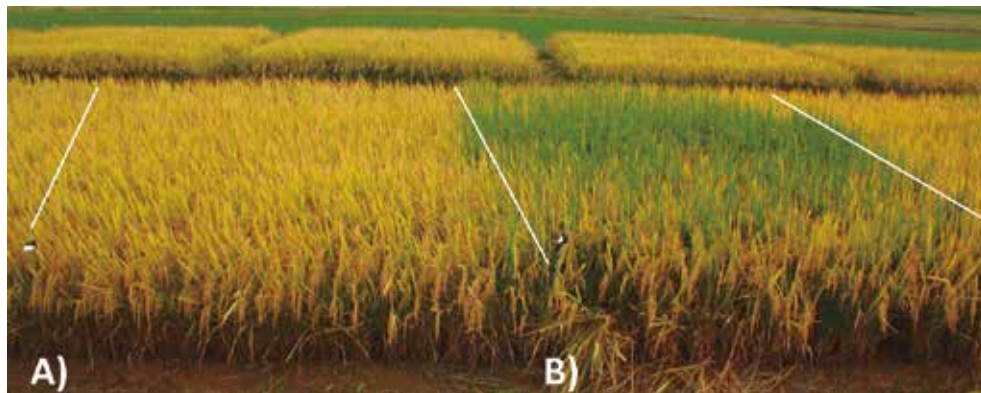
La aplicación de la metodología desarrollada por Takazi (Ishiy, 1991) contribuyó a aumentar la variabilidad genética del programa de mejoramiento de arroz en Epagri. Permitted el desarrollo de líneas con características prometedoras: mayor productividad, ciclo más corto, resistencia a la toxicidad del hierro, mejor calidad del grano, mayor resistencia a enfermedades, mejor arquitectura de la planta y mayor tolerancia al frío (Yokoizama *et al.*, 1996; Raimondi *et al.*, 2011).

La primera variedad de arroz SCS114 Andosan obtenida por mutación inducida en Brasil fue liberada en 2005 por Epagri. El nombre de la variedad fue en honor al pionero de la técnica de mutación inducida en plantas en Brasil, el Dr. Akihiko Ando (Ishiy *et al.*, 2005). En 2014, se lanzó el cultivar de arroz SCS118 Marques, también originada por mutación inducida, que presenta una arquitectura moderna, resistencia al acame, maduración tardía, alta productividad, granos largos y alta calidad culinaria (Schiocchet *et al.*, 2014).

Nuevos cultivares de arroz con resistencia a herbicidas

La presencia de malezas se destaca como uno de los principales factores que limitan el potencial de productividad del cultivo de arroz, con pérdidas variables (hasta 100 %) dependiendo de la especie y la población de malezas, el cultivar y las prácticas de manejo adoptadas por los productores. Además, las malezas aumentan los costos de cosecha y disminuyen la calidad del producto final. Entre las malezas que causan el mayor daño, se destaca el arroz rojo o el arroz maleza (figura 3), que pertenece a la misma especie que el arroz cultivado (*Oryza sativa* L.) y cuyo control selectivo ha sido objeto de un desafío de investigación.

Figura 3. *Importancia del control de arroz maleza en el cultivo de arroz en el campo experimental de Epagri en Itajaí, Santa Catarina, Brasil*



(a) Línea de arroz con tolerancia a los herbicidas inhibidores de ACCasa donde se llevó a cabo la aplicación del herbicida quizalofop-p-etil; (b) Línea de arroz con tolerancia a los herbicidas inhibidores de ACCasa sin aplicación de herbicida.

Fuente: archivo personal de los autores

El uso de cultivares de arroz resistentes a los herbicidas del grupo químico de imidazolinonas es actualmente la alternativa más utilizada para el control selectivo del arroz rojo en los campos de arroz. La tecnología fue desarrollada mediante la aplicación de mutación inducida por la Universidad de Louisiana, Estados Unidos y registrada y comercializada como arroz Clearfield® por Basf (Croughan, 2003).

El arroz Clearfield®, en el sur de Brasil, ocupa más de 70 % del área cultivada. Los herbicidas del grupo químico de imidazolinonas inhiben la enzima acetolactato sintasa (ALS) en plantas, también llamada ácido hidroxiaacético sintasa (AHAS), una enzima involucrada en la ruta biosintética de tres aminoácidos alifáticos de cadena ramificada, valina, leucina e isoleucina. Esta inhibición interrumpe la síntesis de proteínas, lo que, a su vez, interfiere con la síntesis de ADN y el crecimiento celular.

Cuando el herbicida se aplica a los campos de arroz Clearfield®, es posible controlar el arroz rojo y otras malezas. Sin embargo, la creciente presencia de poblaciones de malezas resistentes a los herbicidas inhibidores de ALS puede hacer que esta tecnología sea inviable. En general, la evolución de la resistencia de las malezas a los herbicidas es el resultado de un proceso de selección mediante el uso continuo de herbicidas, con la eliminación de plantas susceptibles y la supervivencia de plantas resistentes, naturalmente presentes en la población.

La presencia de estas plantas resistentes en las poblaciones es el resultado de mutaciones que ocurren naturalmente, a través de la hibridación o el flujo de genes. Además

del arroz rojo, también se ha identificado la aparición de resistencia a los inhibidores de la ALS en poblaciones de *Sagittaria montevidensis*, *Cyperus difformis* y *Fimbristylis miliacea*. Se ha observado resistencia múltiple a los inhibidores de la ALS y los imitadores de auxina en poblaciones de *Echinochloa* spp y *Sagittaria montevidensis*.

Actualmente, se han identificado más de 400 biotipos resistentes a herbicidas en todo el mundo, con un total de 218 especies resistentes a productos con diferentes mecanismos de acción, distribuidos en 61 países. Entre los biotipos identificados, más de 30 % son malezas resistentes a los herbicidas inhibidores de ALS. En la mayoría de los casos, esta resistencia resulta de la mutación del gen ALS con sensibilidad reducida a estos herbicidas (Sudianto, *et al.*, 2013; Burgos *et al.*, 2014).

El desarrollo de nuevas variedades de arroz con resistencia a los herbicidas con mecanismos de acción alternativos a los inhibidores de la ALS constituye una opción estratégica para el manejo de malezas en el arroz de regadío y refleja directamente en beneficio del aumento de la productividad de este cereal. La adquisición e incorporación de genes en el genoma del arroz con nuevos mecanismos de resistencia a los herbicidas es un desafío donde la aplicación de la mutación inducida tiene una función fundamental.

El programa de mejora del arroz Epagri, con la colaboración de Cena, inició en 2010 un proyecto de mutación inducida para desarrollar líneas de arroz con tolerancia a los nuevos mecanismos de acción. Se eligieron los herbicidas que inhiben la actividad de la enzima Acetil coenzima A carboxilasa (ACCase, EC: 6.4.1.2) ya que son específicos para gramíneas, sintéticos y sin actividad residual en el suelo (Andrade *et al.*, 2020).

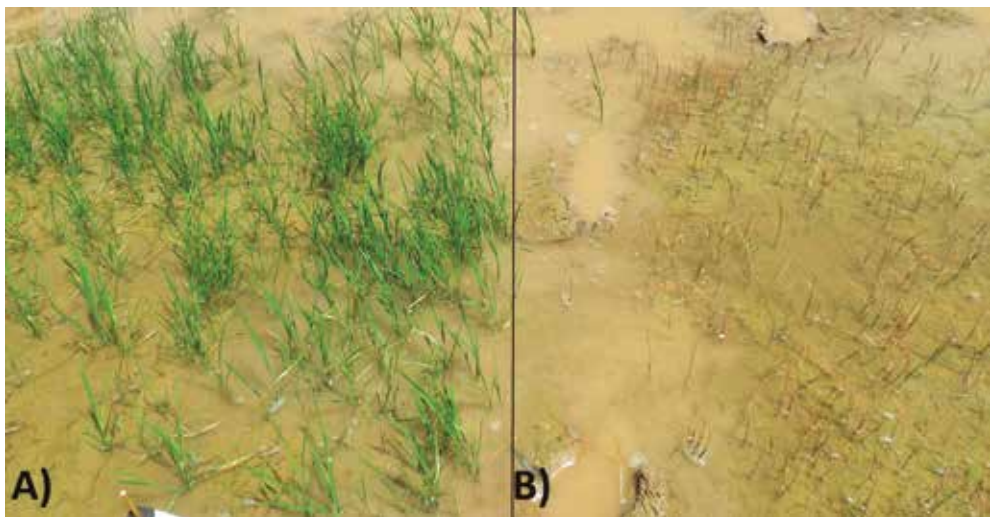
Los herbicidas que inhiben la ACCase son efectivos para controlar muchas especies de malezas, incluido el arroz rojo. La inhibición de la actividad de la enzima ACCase bloquea la biosíntesis de los ácidos grasos, causando la muerte de las plantas (Délye *et al.*, 2002). La enzima ACCase en las gramíneas es inhibida por tres clases de herbicidas: ariloxifenoxipropionatos (FOP), ciclohexanodionas (DIN) y fenilpirazolininas (DEN) (Wenger *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2014).

En las plantas, ocurren dos isoformas de ACCase: citosólicas y plastídicas. La isoforma citosólica sintetiza ácidos grasos de cadena grande, flavonoides, antocianinas y malonilación de metabolitos secundarios. La isoforma plástica participa en la síntesis de ácidos grasos primarios. En gramíneas, la ACCase cloroplástica es homodimérica, codificada por un gen nuclear y diferente de la que codifica la isoforma citosólica. Diferentes estudios con gramíneas indican que las mutaciones en la región N-terminal del gen ACCase pueden generar plantas con resistencia a los herbicidas inhibidores de ACCase (Kaundun, 2014; Papapanagiotou *et al.*, 2015).

Mediante la irradiación de semillas de arroz con rayos gamma, se desarrollaron dos líneas resistentes a los herbicidas inhibidores del ACCase, quizalofop-p-etil y haloxifop-p-metilo (APP) (Andrade *et al.*, 2018). Las pruebas de dosis-respuesta de

la planta confirman la resistencia a los herbicidas APP (figura 4). Los fragmentos del dominio de carboxiltransferase de ACCasa del biotipo resistente y el control susceptible fueran secuenciados y comparados (Pereira *et al.*, 2019). Se detectó una mutación puntual en la posición de aminoácidos 2.027 (Os05g22940.1). Los resultados indican que la resistencia de APP es el resultado de una enzima ACCasa alterada que confiere resistencia. El uso de líneas de arroz resistentes a herbicidas APP representa una alternativa innovadora y prometedora para controlar el arroz maleza.

Figura 4. *Efectos de la aplicación del herbicida quizalofop-p-etil en plantas de arroz en condiciones de cultivo en el campo experimental Epagri en Itajaí, Santa Catarina, Brasil*



A) Arroz mutante con tolerancia a los herbicidas inhibidores de ACCasa; B) Arroz sin la mutación que confiere tolerancia a los herbicidas inhibidores de ACCasa.

Fuente: archivo de los autores.

Conclusiones

La mutagénesis se usa ampliamente en Brasil en proyectos de investigación básica en el estudio de la función y expresión génicas y en la investigación aplicada en programas de fitomejoramiento, generando la variabilidad genética necesaria para el desarrollo de nuevos cultivares. Los estudios básicos han establecido protocolos para la aplicación de diferentes tipos de mutágenos físicos y químicos en el arroz. Los resultados obtenidos y el reconocimiento de instituciones brasileñas e internacionales demuestran la importancia y el potencial del uso de la técnica de inducción de mutaciones en el mejoramiento genético del arroz en Brasil.

Referencias

- ANDO, A. (1968). Mutation induction in rice by radiation combined with chemical protectants and mutagens. Rice breeding with induced mutations. International Atomic Energy Agency, Technical Reports Series, 86, Vienna, p. 7-16.
- ANDO, A. (1970a). Mutation Induction in Rice by Radiation Combined with Chemical Protectants and Mutagens. Rice breeding with induced mutations II. International Atomic Energy Agency, Technical Reports Series, 102, Vienna, p. 1-5.
- ANDO, A. (1970b). *Efeito biológico da combinação de tratamentos com raios - gama, cisteína e algumas substâncias alquilantes sobre sementes de arroz* (Tese doutorado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- ANDO, A.; Banzatto, N. V. & Rocha, T. R. (1971). Ensaio internacional de arroz para mutantes do grupo indica e seleções híbridas. *Ciência e Cultura*, 23, 157-161.
- ANDO, A. & Tulmann, A. (1996). Induction of short culm mutants in rice by sodium azide. In A. Ashri, C. Bollich, & M. Maluszynski (Eds.), *Use of mutation techniques for improvement of cereals in Latin America* (p. 59-61). Vienna: IAEA.
- ANDRADE, A., Tulmann, A., Tcacenco, F. A., Marschalek, R., Pereira, A., Oliveira, A. M., Scheuermann, K. K., Wickert, E. & Noldin, J. A. (2018). Development of rice (*Oryza sativa*) lines resistant to aryloxyphenoxypropionate herbicides through induced mutation with gamma rays. *Plant Breeding*, 137, 364-369.
- ANDRADE, A., Tulmann, A., Pereira, A., Marschalek, R., Scheuermann, K. K.; Wickert, E. & Noldin, J. A. (2020). *Induced mutation technique to the development of cultivars with tolerance to herbicides*. Archivos académicos USFQ.
- BACHA, R. E., Yokoyama, S. & Ishiy T. (2001). Induced mutations as a method of obtaining iron toxicity resistant and high quality rice cultivar In M. Maluszynski, & K. J. Kasha (Eds.), *Mutations, In Vitro and Techniques for Environmentally Sustainable Crop Improvement* (p. 175-182). Vienna: IAEA.
- BURGOS, N. R., Singh, V., Tseng, T. M., Black, H., Young, N. D., Huang, Z., Hyma, K. E., Gealy, D. R. & Caicedo, A. L. (2014). The Impact of Herbicide-Resistant Rice Technology on Phenotypic Diversity and Population Structure of United States Weedy Rice. *Plant Physiology*, 166(3), 1208-1220.
- CROUGHAN, T. P. (2003). Clearfield rice: It's not a GMO. *Louisiana Agric*, 46(4), 24-26.
- DÉLYE, C., Matejcek, A. & Gasquez, J. (2002). PCR-based detection of resistance to acetyl-CoA carboxylase- inhibiting herbicides in black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds) and ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud). *Pest Management Science*, 58, 474-478.
- FARACCO, A. L. (1990). *Comparações dos efeitos fisiológicos causados por radiações gama e azida sodica em dois genótipos de arroz (Oryza sativa L.)* (Dissertação mes-

- trado em Ciências). Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- PHAREI, P. G. (1994). *Tratamento de sementes de arroz (Oryza sativa L.) com azida sódica em diferentes condições de ambiente* (Dissertação mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- GUIMARÃES, E. P. (1978). *Estudo de sensibilidade de sementes de arroz (Oryza sativa L.) à radiação gama, neutrons, sulfato de dietila (dES) e azida sódica (SA)* (Dissertação mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- ISHIY, T. (1991). *Desenvolvimento de genótipos mutantes de arroz (Oryza sativa L.) através de irradiação gama* (Tese doutorado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agrônômicas do Campus de Botucatu-UNESP.
- ISHIY, T., Morel, D. A., Schiocchet, M. A., Bacha, R. E., Ando, A., Tulmann, A. & Knoblauch, R. (2005). SCS114 Andosan - primeira variedade mutante de arroz irrigado do Brasil. *Agropecuária Catarinense*, 18(3), 87-90.
- KAUNDUN, S. S. (2014). Resistance to acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicides. *Pest Management Science*, 70(9), 1405-17.
- KOPP, M.M., Coimbra, J. L. M., Luz, V. K., Farias, D. R., Carvalho, F.I. I. & Costa de Oliveira, A. (2007a). Butyric acid tolerance of rice mutant M4 families. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 7, 373-380.
- KOPP, M. M., Luz, V. K., Silva, V. N., Sousa, R. O., Carvalho, F. I. F. & Costa de Oliveira, A. (2007b). Tolerância de famílias mutantes M₄ de arroz ao ácido acético. *Magistra*, 19, 234-241.
- LI, L., Du, L., Liu, W., Yuan, G. & Wang, J. (2014). Target-site mechanism of ACCase-inhibitors resistance in American sloughgrass (*Beckmannia syzigachne* Steud.) from China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 110, 57-62.
- MALONE, E., Farias, D., Kopp, M. M., Ahlert, R., Carvalho, C.F.I. & Costa Oliveira, A. (2007). Caracterização morfológica de mutantes de arroz quanto à tolerância à toxicidade por ferro. Anais do VII Encontro de Pós Graduação da UFPelotas.
- MARTINS, A. F., Vieira, E. A., Kopp, M. M., Luz, V. K., Carvalho, M. F., Branco, J. S. C., Cruz, R. P., Carvalho, F. I. F. & Costa de Oliveira, A. (2007). Caracterização de famílias mutantes de arroz para tolerância ao frio nos períodos vegetativo e reprodutivo. *Bragantia*, 66, 227-233.
- OLIVEIRA, A. C. (1988). *Utilização de técnicas eletroforeticas para o estudo da heterose em arroz (Oryza sativa L.)* (Dissertação mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

- PAPAPANAGIOTOU, A. P., Paresidou, M. I., Kaloumenos, N. S. & Eleftherohorinos, I. G. (2015). ACCasa mutations in *Avena sterilis* populations and their impact on plant fitness. *Pestic Biochem Physiol*, 123,40-8.
- PEREIRA, A., Tcacenco, F. A., Klabunde, G. H. F. & Andrade, A. (2019). Detecting acetyl-coenzyme a carboxylase resistance gene in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular Biology Reports*, 1, 1-6.
- RAIMONDI, V., Marschaleck, R. & Tulmann Neto, A. (2011). Mutação induzida como fonte de variabilidade para tolerância a temperaturas baixas no estágio de germinação em arroz irrigado. *Agropecuária Catarinense*, 24, 75-79.
- SANDHU, S., Azini, L. E., Colombo, C., Tulmann Neto, A. & Bastos, C. (2002). RAPD analysis of herbicide-resistant Brazilian rice lines produced via mutagenesis. *Genetics and Molecular Research*, 4(1), 359-370.
- SCHIOCCHET, M. A., Raimundi, V., Tulmann Neto, A. & Andrade, A. (2014). SC118 Marques New rice cultivar obtained through induced mutation. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 14, 68-70.
- SILVA, A. S. (2010). Radiação gama na indução de variabilidade em cultivares de arroz irrigado. (Dissertação mestre em Ciências). Universidade Federal de Pelotas.
- SILVA, E. F. (1994). *Caracterização de linhagens mutantes de arroz de sequeiro obtidas com utilização de azida sódica (NaN₃)* (Dissertação mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- SUDIANTO, E., Beng-Kah, S., Ting-Xang, N., Saldain, N. E., Scott, R.C. & Burgos, N. R. (2013). Clearfield rice: its development, success, and key challenges on a global perspective. *Crop Protection*, 29, 40-51.
- TISSELLI, O., Azzini, A., Bastos, C., Melo de Castro, L. H. S. & Tulmann, A. (1996). Increasing upland Rice variability through induced mutations. In: A. Ashri, C. Bollich and M. Maluszynski (Eds.), *Use of Mutation Techniques for Improvement of Cereals in Latin America* (p. 17-22). Vienna: IAEA.
- VIANA, V. E., Pegoraro, C., Busanello, C. & Costa de Oliveira, A. (2019). Mutagenesis in Rice: The Basis for Breeding a New Super Plant. *Frontiers in Plant*, 10, 1-28.
- YAMAGUCHI, M. & Ando, A. (1959). Radiosensitivity of gamma-irradiated autotetraploid in rice. *Japanese Journal of Breeding*, 9, 169-172.
- YOKOYAMA, S., Ishiy, T., Schiocchet, M. A., Tulmann, A., Ando, A. (1996). Mutation breeding for irrigated rice at Empasc, Santa Catarina, Brazil. Use of mutation techniques for improvement of cereals in Latin America. International Atomic Energy Agency, Technical Reports Series, 859, Vienna, p. 23-30.
- WENGER, J., Niderman, T. & Mathews, C. (2012). Acetyl-CoA Carboxylase Inhibitors. In W. Krämer, U. Schirmer, P. Jeschke, & M. Witschel (Eds.) *Modern Crop Protection Compounds* (pp 447-477). Weinheim: Wiley-VCH.

CAPÍTULO 2

COLOMBIA: MEJORAMIENTO GENÉTICO DEL ARROZ (*ORYZA SATIVA* L.) Y PAPA CRIOLLA (*SOLANUM TUBEROSUM*, GRUPO PHUREJA)

*Luis Armando Quevedo Cárdenas**¹

Luis Francisco Becerra G.¹

Duver Alberto Martínez P.¹

Nelson Amezquita V.²

José Omar Ospina G.²

Resumen

En Colombia, el arroz y la papa son productos básicos de la economía, generadores de empleo y productos esenciales para la alimentación diaria. En los últimos años, debido a la gran demanda de alimentos, en especial de arroz, se han venido implementando diferentes técnicas de mejoramiento que permitan ampliar la variabilidad genética para solucionar problemas de calidad y de producción que se presenten en el transcurso del tiempo. El contenido de este capítulo incluirá temas como: las dosimetrías correspondientes de cada cultivar y la descripción de las técnicas de cultivo de tejidos –cultivo de anteras– aplicadas en el cultivo del arroz. Referente a las técnicas moleculares, se presenta en papa criolla el avance de los marcadores moleculares enfocados en las rutas metabólicas del ácido abscísico (ABA) y el etileno, que regulan, entre otros procesos, el período de reposo –dormancia–, característica deseable para procesos de poscosecha; por último, se presentan estudios que se han realizado de expresión diferencial en los genes NCED1, CDPK7.

* laquevedo@udistrital.edu.co

¹ Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia. Grupo Investigación Biología Molecular.

² Federación Nacional de Arroceros (Fedearroz).

Introducción

A principios de la década de los noventa, el Instituto de Ciencias Nucleares y Energías Alternas (INEA), área de agricultura en su programa Uso de Isótopos en la Agricultura, inicia el subprograma Inducción de Mutaciones para el mejoramiento de Cultivos, bajo el patrocinio del Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) y con el acompañamiento de los expertos Augusto Tulman Neto, de Brasil, y Edwal Favret, de Argentina. Con el cierre del INEA, la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, en asocio con la Federación Nacional de Arroceros (Fedearroz-Fondo Nacional del Arroz-FNA), retoma estas investigaciones a través del proyecto COL5023 Mutagénesis para el Mejoramiento Genético del Arroz, durante el período 2010-2012, y Genómica Funcional para el Mejoramiento del Arroz COL5024, entre 2014 y 2016, con el apoyo del OIEA.

Por más de una década, enmarcados dentro de un convenio de cooperación entre la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, la Federación Nacional de Arroceros (Fedearroz) y el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA), se lograron implementar diferentes metodologías biotecnológicas, como el cultivo de tejidos y la mutagénesis inducida con radiaciones gamma (^{60}Co), siendo estas las herramientas para la ampliación de la variabilidad genética del arroz. Hoy, Fedearroz tiene, dentro de su programa nacional de mejoramiento, el uso de la mutagénesis como un procedimiento para la obtención de nuevas variedades entregadas a los agricultores y un banco de germoplasma de más de 200 mutantes candidatos que son utilizados como parentales.

En Colombia, al igual en que muchos países del mundo, la papa es un cultivo básico en la canasta familiar. La papa criolla (*Solanum Tuberosum* L., grupo phureja) es un recurso genético de vital importancia para el país, y se caracteriza por presentar altos valores nutricionales, altos contenidos de materia seca, color amarillo en piel y carne, agradable sabor y textura, fácil preparación, buena aceptación en el mercado y un alto potencial de exportación como producto procesado para mercados de Norteamérica, la Unión Europea y Asia (Rodríguez *et al.*, 2009). Sin embargo, se estima que tan solo 6 % del área total en papa cultivada en Colombia corresponde a papa criolla (Fedepapa, 2009), papa básicamente cultivada en pequeñas parcelas por campesinos de recursos limitados.

La ausencia de período de dormancia en la papa criolla (*Solanum tuberosum* L., grupo phureja) limita su uso a nivel doméstico e industrial, debido a la alta perecibilidad que resulta de una rápida brotación (Rodríguez y Moreno, 2010). A su vez, esto determina que la comercialización y el procesamiento se deban realizar en el menor tiempo posible (Bonilla *et al.*, 2009).

Este capítulo busca proporcionar información acerca del efecto de la radiación gamma sobre la expresión fenotípica en papa criolla (*Solanum tuberosum* L., grupo phureja, variedad criolla Colombia), respondiendo a la necesidad de desarrollar nuevos cultivares de papa a nivel diploide que presenten período de dormancia y de acuerdo con las ventajas que podría presentar la implementación del uso de tecnologías –inducción de mutagénesis– como una herramienta en la investigación y búsqueda de nuevos fenotipos de papa criolla que expresen período de dormancia, y características que hagan más competitivo este producto en el mercado.

Cultivar arroz (*Oriza sativa*)

El arroz es un cereal importante que se destina casi exclusivamente a la alimentación humana, a diferencia del trigo y el maíz. En Colombia, el cultivo de arroz es uno de los productos básicos de la economía, generador de empleo y productor esencial para la alimentación diaria. La adecuada explotación de la diversidad genética natural e inducida es uno de los principios básicos del mejoramiento genético para el desarrollo de cultivares. Sin embargo, para los fitomejoradores, la escasez o inexistencia de genotipos con rasgos de interés específicos ha constituido un elemento que aumenta la complejidad de su labor. En el programa de mejoramiento de Fedearroz-FNA, en cooperación con la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, se implementa la metodología de inducción de mutaciones, vista como una herramienta útil para incrementar la frecuencia de aparición de estos cambios heredables en el genoma. De acuerdo con lo anterior, el uso de la técnica se orientó hacia la inducción de variabilidad mediante la exposición de semillas de líneas promisorias o variedades de interés específico a radiación gamma, con dosis de 150, 200, 250 y 300 Gy en los genotipos Fedearroz 2000, Fedearroz 50, grano liso Nechí, Colombia XXI, FSR 272-M-20-1-1, FSR 272-M-1-3-3, LV 473-1-11-2-1-M, LV 355-1-12-1-1-M, Oryzica Yacu 9 y FL 00593-6P-3-2P-M, con el objeto de evaluar los efectos fisiológicos y genéticos. Evaluados los diferentes parámetros, se determina un rango de 200-250 Gy de rayos gamma como dosis para tratamiento masivo, buscando generar variabilidad para rasgos de interés agronómico como precocidad, alto índice de pilada, apariencia de grano traslúcida y alto contenido de amilosa, principalmente. Lo anterior, mediante procesos sucesivos de evaluación en campo y laboratorio, haciendo mayor énfasis en la identificación de genotipos superiores para la característica deseada con relación a los testigos –líneas originales o no irradiadas–. De consecutivas irradiaciones de semillas de diferentes genotipos, se logró, mediante esta metodología, la obtención de 19 líneas mutantes a partir de los materiales LV 8323-287 y LV823-306 con un

ciclo más corto respecto a las líneas originales, así como con mayor contenido de amilosa en grano. Como producto principal de estas investigaciones, se conformó la colección de mutantes dentro del banco de germoplasma de Fedearroz-FNA. Esta colección cuenta, a la fecha, con más de 300 entradas obtenidas en diferentes trabajos de investigación utilizando la técnica. Actualmente, 156 poblaciones mutantes M_4 derivadas de 284 poblaciones M_3 (figura 1) se encuentran en proceso de evaluación por su adaptación a condiciones de secano, así como por su respuesta frente a enfermedades limitantes en la región de los llanos orientales colombianos.

Figura 1. Poblaciones M_3 en campo durante el estado de maduración



Fuente: archivo de los autores.

Otra metodología adoptada en este proceso de mejoramiento del arroz fue el cultivo de anteras (CA). “Por medio de esta técnica se pueden producir líneas homocigotas a partir de poblaciones segregantes, mediante el doblamiento cromosómico del polen haploide y la regeneración de plantas, en un ciclo de cultivo. En contraposición con los métodos estándar de fitomejoramiento que normalmente requieren 6 generaciones de autofecundación para alcanzar la propia homocigosis en plantas autógamias” (Lentini, Martínez y Roca, 1997).

En panículas inmaduras, originadas a partir de semillas M_1 sin irradiar e irradiadas (200 Gy) de los genotipos *Oryzica* Yacú 9 FSR 272-M-20-1-1, Fedearroz 2000, Fedearroz 50, Colombia XXI, grano liso Nechí y CT6241-17-1-5-1 (sin irradiar) como testigo, fueron utilizadas para obtener las anteras, que posteriormente se inocularon en un medio de cultivo NL, suplementado con los reguladores de crecimiento 2,4-D (1, 2 y 3 mg/l) y Kinetina (0, 0.5 y 1 mg/l), bajo nueve diferentes

relaciones. En cada genotipo, la media general del material control, como del material irradiado, fue contrastada para determinar la eficiencia de la dosis de irradiación y, a su vez, con la media general del genotipo testigo para evaluar la eficiencia en la frecuencia de callos inducidos. Y la evaluación de la media, en cada tratamiento, permitió establecer la relación hormonal de mejor respuesta para el material control e irradiado para cada genotipo.

El estudio permitió establecer que la capacidad androgénica varía de acuerdo con el genotipo. La expresión de esta capacidad está relacionada con los reguladores de crecimiento utilizados y la concentración de estos en el medio de cultivo. Por otro lado, los resultados observados en el material irradiado de los diferentes genotipos indican que el efecto de la radiación gamma, bajo una dosis de 200 Gy, logró generar una variación en la capacidad de inducción de callos, al igual que la respuesta a las diferentes relaciones hormonales en estos materiales (figura 2, a). De esta manera, fue posible seleccionar los materiales –control o irradiados– de mejor respuesta, de acuerdo con los resultados obtenidos con el genotipo testigo, al igual que los tratamientos hormonales que en cada uno generó la mayor frecuencia de callos inducidos.

Figura 2. (a) Callo inducido; (b) diferenciación de raíces y hojas; (c) planta regenerada; (d) y (e) plantas regeneradas en proceso de adaptación a condiciones *ex vitro*; (f) adaptación en campo



Fuente: archivo de los autores.

Los resultados de este trabajo y algunos ajustes en las relaciones de las hormonas evidenciaron la utilidad de esta técnica del cultivo de tejidos en la obtención de genotipos deseables en un menor tiempo y es así como el cultivo de anteras (CA) es incluido en el programa de mejoramiento de la Federación Nacional de Arroceros de Colombia-Fondo Nacional del Arroz (Fedearroz-FNA), la cual ha resultado bastante útil, ya que ha permitido, entre otras cosas, la obtención continua de líneas

dihaploides a partir de anteras que contienen granos de polen inmaduros, y, así, cumplir el objetivo de producir líneas homocigotas a partir de la generación F_1 de cruzamientos con parentales (figura 2, a-f).

Aunque la respuesta a la técnica está afectada fundamentalmente por el genotipo, en el programa se logró implementar esta técnica de manera rutinaria destinando un número constante de combinaciones para la obtención de líneas que enriquecen el banco de trabajo con nuevos parentales, o evaluar líneas sobresalientes en poblaciones avanzadas que permitan ofrecer nuevas variedades con características sobresalientes.

Cada año, el laboratorio de cultivo de anteras del Programa de Mejoramiento Genético de Arroz de Fedearroz-FNA utiliza, para este propósito, como principal medio de cultivo el NL, el cual ha permitido encontrar respuesta positiva en genotipos tipo indica y, en menor proporción, aquellos que exhiben en su acervo genético tipo japónica.

En los últimos años, se propusieron líneas dentro del programa de mejoramiento con objetivos específicos en el fortalecimiento del mismo; es así como se han generado viveros para evaluación en diferentes localidades de la zona caribe seco y húmedo, llanos orientales y zona centro del país arrocero (tabla 1).

Tabla 1. *Resumen del proceso de producción de líneas regenerantes en el Centro Experimental Las Lagunas de Fedearroz-FNA (2017-2019)*

Año	Líneas que entran al proceso	Líneas regenerantes	Líneas ensayos avanzados	Objetivo
2017	31	131	131	Tolerancia alta concentración de aluminio
2018	59	215	120	Profundidad y ángulo de raíz
2019	61	108	74	Resistencia hoja blanca y calidad de grano

Fuente: elaboración propia.

En la actualidad, se realizan los ensayos de rendimiento en 18 líneas regenerantes para su evaluación en 6 localidades del país.

Por otro lado, la técnica pudo proveer gran cantidad de parentales homogéneos con características derivadas de germoplasma diverso y, en algunos casos, poco adaptados a las condiciones de cultivo en Colombia, que han participado en un gran número de cruzamientos, dando origen a poblaciones mejoradas dentro del programa. Se destaca la línea CA-0100, la cual presentó potencial de rendimiento, calidad de grano y tolerancia al virus de la hoja blanca del arroz.

La implementación rutinaria de la técnica de cultivo de anteras de arroz en el programa de mejoramiento genético de Fedearroz-FNA ha permitido dinamizar dicho programa con la constante producción de parentales homocigotos para la generación de poblaciones adaptadas en el proceso de producción de variedades para el país, obteniendo, para el cultivar de arroz, un total de 284 líneas mutantes en M_3 , 127 líneas avanzadas M_4 y 6 líneas mutantes en M_5 .

Cultivar papa criolla (*Solanum phureja*)

Para determinar los efectos de diferentes dosis de radiación gamma (^{60}Co) sobre la expresión fenotípica en papa criolla (*Solanum tuberosum* L., grupo phureja, variedad criolla Colombia), se irradiaron minitubérculos dormantes de papa criolla con diferentes dosis de rayos gamma, como se evidencia en la dosimetría de la tabla 2.

Tabla 2. Dosimetría utilizada para la inducción de mutaciones

Tasa de dosis	26.31 Gy/min				
Distancia de la fuente	12.5 cm				
Dosis (Gy)	0	25	50	75	100
Tiempo de exposición	0	57''	1.9'	2.85'	3.8'
Tubérculos irradiados	160 (40 por dosis)				
Tratamiento post-irradiación	Almacenados en cajas de cartón en cuarto de crecimiento				
Siembra (días después de irradiación)	26				

Fuente: elaboración propia.

Material vegetal. Se emplearon minitubérculos de papa criolla variedad criolla Colombia, con un tamaño de aproximadamente 2.5 cm de diámetro, forma redondeada, piel amarilla y ojos poco profundos. Para preparar el material vegetal a irradiar, a los minitubérculos se les realizó desinfección superficial con hipoclorito de sodio a 1 % durante 2 minutos. Posteriormente, se secaron con papel absorbente y se empacaron en bolsas plásticas –25 tubérculos por bolsa–. Finalmente, se montaron en un portamuestras acrílico de 40 x 30 cm para la irradiación; se evaluaron los parámetros de emergencia, altura de plantas, variaciones morfológicas, senescencia, potencial de rendimiento y dormancia. Luego de la irradiación, se encontró que los rayos gamma tienen un efecto inhibitorio en la emergencia de los tubérculos irradiados frente a los controles y en el crecimiento de las plantas. Asimismo, los principales cambios

morfológicos inducidos por los rayos gamma fueron cambios en color y forma de hojas y flores. La dosis de 50 Gy indujo el retraso en la brotación de los tubérculos de la MV1 y MV2.

Variaciones morfológicas. Se registraron las variaciones morfológicas detectadas visualmente; especialmente en la apariencia de los folíolos, color de los mismos y variaciones en el color y forma de las flores. En cuanto a los folíolos, las observaciones se han hecho desde la MV1, encontrándose que en 5 % del tratamiento de 25 Gy se presentaban folíolos completos o parte de estos con un color más claro que los folíolos cercanos, otro cambio evidente es la variación morfológica en flores como se observa en la figura 3.

Figura 3. *Variaciones morfológicas de flores en VM1. (a) 0 Gy; (b) 25 Gy; (c) 100*



Fuente: archivo de los autores.

En la etapa de floración, se presentaron flores de colores violeta pálido (25 Gy), violeta intermedio (25 Gy), blanco claro (25 Gy) y lila intermedio. Asimismo, algunas de las flores que mostraron variaciones en el color también presentaron cambios en la forma y tamaño, mostrándose flores de corola rotada (25 Gy) y de tamaño superior a las de las plantas testigo (100 Gy). Sin embargo, para la MV2, los clones que presentaron modificaciones en color de flor en la MV1 no lo reflejaron en esta generación. Por lo contrario, un clon del tratamiento de 25 Gy que presentó flores de color y forma normal en la MV1 manifestó flores de color blanco claro en la MV2. De igual forma, es importante resaltar que, a pesar de haberse sembrado cuatro tubérculos

provenientes del clon mencionado anteriormente, sólo dos plantas exhibieron dicho color de flor. Según Rodríguez *et al.* (2009), las flores de criolla Colombia son de color lila oscuro, por lo que las flores que presentaron colores diferentes al mencionado pudieron ser causa de daños fisiológicos o quimeras, producto de la irradiación. Aunque una mutación es un evento unicelular, los ápices son multicelulares y consisten en una serie de capas de grupos de células autónomas (Brunner, 1995).

Dormancia MV1. Generalmente se considera que la dormancia se pierde cuando un tubérculo contiene uno o más brotes con una longitud mayor de dos milímetros (Viola *et al.*, 2007). Según lo expuesto anteriormente, en la MV1 para los 15 días después de cosecha, los únicos tubérculos que no se encontraban brotados correspondían al tratamiento de 50 Gy.

Los ensayos en campo con tubérculos del mutante candidato flor blanca (figura 4) en el año 2015, se realizaron en el municipio El Rosal, Vereda el Pino, Finca el Capri-cho km 16, vía Subachoque Cundinamarca, con características de altitud media 2685 msnm y humedad relativa de 63 %. Se inició el ensayo con 490 semillas irradiadas de *Solanum Tuberosum* L., grupo phureja en 245 bolsas agrícolas calibre 500, sembrando dos semillas por bolsa con el fin de obtener mayor control de contagio de enfermedades.

Figura 4. Ensayo 2019, Siembra de Mutantes Flor Blanca. Evaluación de caracteres morfológicos y cosecha



Fuente: archivo de los autores.

Trabajo de selección en campo de MV3 a MV5. Este proceso se dividió en dos fases: una de invernadero y otra de campo. Para el tratamiento de 25 Gy, se emplearon 145 bolsas; para el de 50 Gy, 50 bolsas, y para el control, 50 bolsas. Posterior a esto, se llevó a cabo la cosecha de estas semillas para realizar la siembra en campo.

Se seleccionaron las semillas de los tubérculos de mejor calidad y con un tamaño similar; se sembraron en 5 surcos con un total de 160 familias seleccionadas de los tratamientos 25 y 50 Gy. La toma de datos fenotípicos se realizó bajo parámetros que permitieron evaluar las diferencias entre cada tratamiento, como altura, cambio en los folíolos, pigmentación de las flores y número de plantas emergidas. Esto fue tanto para la fase de invernadero como para la fase de campo de los diferentes tratamientos. Los datos se registraron en una matriz para hacer un riguroso seguimiento, y fueron sometidos a análisis estadísticos que permitieran evaluar la significancia de las diferencias encontradas entre y dentro de los tratamientos, con el fin de evaluar cambios en cada una de las generaciones. Al comparar los resultados entre la siembra en el invernadero MV1 y MV2 y la realizada en el campo MV3-MV5, se observaron varias diferencias: con respecto a la altura, en el invernadero se observó un crecimiento exponencial en los primeros estadios vegetativos; al hacer un análisis de varianza, se obtuvo una diferencia significativa en la altura entre los tratamientos, lo cual fue confirmado mediante el estadístico de prueba de Tukey. En campo, se observó un crecimiento lineal en los primeros estadios vegetativos y diferencias significativas en altura, siendo el control el de mayor talla en comparación con los tratamientos en estudio. En cuanto a la floración, en el invernadero se observó que, en el control, 82 % de plantas presentaron flores todas de pigmentación lila; el tratamiento de 25 Gy presentó 38 % de floración con pigmentación distribuida con 91 % lila y 9 % blanca; el tratamiento de 50 Gy presentó 20 % de floración con pigmentación lila en su totalidad; y en el campo, el tratamiento de 50 Gy presentó 85 % de floración con pigmentación lila en todas ellas; el tratamiento de 25 Gy presentó 78 % de floración con pigmentación distribuida de la siguiente manera: 94 % lila, 3 % blanca y 3 % quimérico lila-blanca. También se pudo observar un fenómeno de precocidad con respecto a la floración, que para el tratamiento de 50 Gy representó 31 % y para el de 25 Gy fue de 51 %; la cantidad de plantas con flor también aumentó en el campo con respecto a las plantas del invernadero. De estas 160 familias de la MV3, se escogieron por rendimiento 121 familias en MV4; el proceso se repitió y se seleccionó por el rendimiento agronómico y días de dormancia del tubérculo (12-15 días) 30 de las mejores familias. Estos resultados se obtuvieron en noviembre de 2018; a partir de este momento, estas 30 familias elite se evaluaron con la matriz de descriptores agronómicos propuesta por el Programa de Mejoramiento de Papa

de la Universidad Nacional de Colombia, calificando en el segundo semestre del año 2019, 26 familias de mutantes candidatos que en el período 2020-2021 entran en fase de mantenimiento de germoplasma duplicación y posterior evaluación agronómica (figura 5).

Figura 5. (a) y (b) Fase de invernadero; (c) hábito de crecimiento menor que el control y plantas arrosetadas; (d) cambios foliolos (datos tomados en 2019)



Fuente: archivo personal de los autores.

A partir de los hallazgos encontrados en el rendimiento agronómico, se evaluó un grupo de genes responsables en las rutas fisiológicas de la activación, o no, de la dormancia. Estos genes están durante todo el proceso de desarrollo de la planta y son responsables, como se evidencia, de la maduración precoz y la latencia. Los genes en estudio se describen a continuación, al igual que sus niveles de expresión censados a través de PCR cuantitativa.

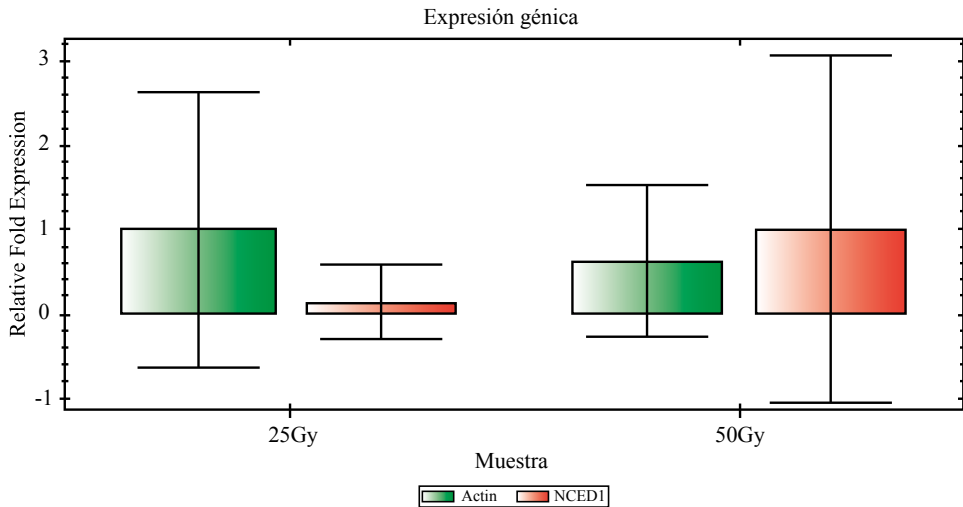
Análisis de expresión génica gen CDPK7. Para el análisis de la expresión del gen CDPK7, se realizó una comparación en cuanto al nivel de expresión, tomando como gen normalizador la actina. En este caso, se relacionó la cantidad relativa de cambios de expresión en las familias evaluadas en muestras tomadas de tubérculo –familias 143 y 41– y hojas –familias 17, 22 y 56–, evidenciando una sobreexpresión de este gen en las familias 143 y 41, mientras que en las familias 17, 22 y 56 los niveles de expresión son inferiores al gen de referencia actina. Cabe resaltar

que comúnmente los CDPK son actores clave en la respuesta de una planta al estrés abiótico, por lo que no se espera una sobreexpresión del gen CDPK7 en las muestras, pero sí una presencia de este, debido a que hace parte e induce los primeros estadios de la tuberización, es decir, la formación del tubérculo, *indicando que la expresión del gen de interés es de menor proporción en las muestras tomadas en hojas respecto a las muestras tomadas en tubérculo*, ya que la expresión del gen CDPK7 disminuye tras el segundo estadio de tuberización.

Análisis de expresión génica gen NCED

Este paso de la investigación se desarrolló en 2019; su objetivo fue comparar la expresión del gen NCED en los tubérculos de *Solanum tuberosum* L. irradiados con ^{60}Co , versus tubérculos sin irradiar, utilizando protocolos estandarizados de extracción de ácidos nucleicos –ADN y ARN– en los momentos de cosecha y poscosecha. Se hizo un análisis agrupando las familias elite por tratamientos de irradiación, donde se observa la diferencia en la cantidad relativa de cambios de expresión entre el gen normalizador y el gen objetivo. Se nota una mayor expresión del gen NCED1 en las familias del tratamiento de 50 Gy (figura 6).

Figura 6. *Expresión génica por tratamiento de radiación 25 y 50Gy*

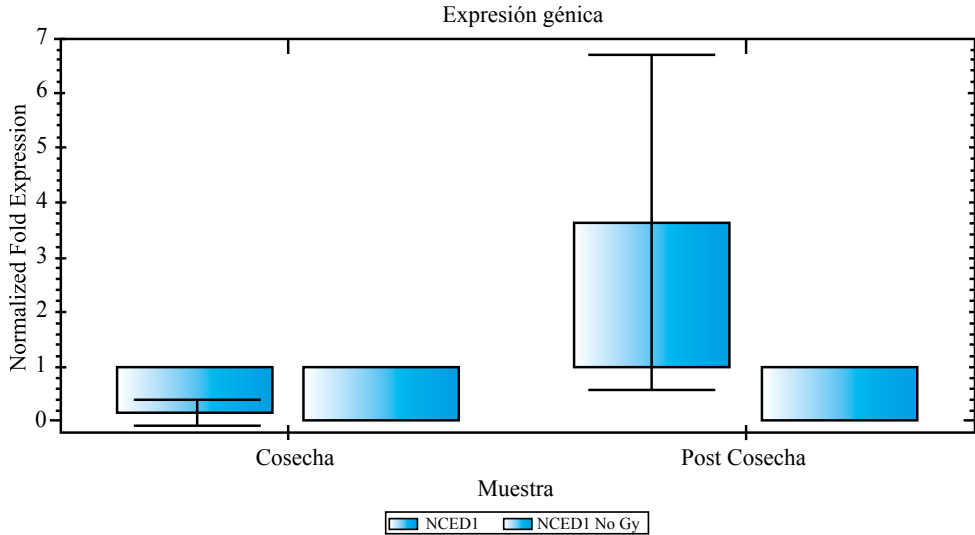


Fuente: elaboración propia.

En la figura 7, se muestra un análisis de la expresión génica normalizada $\Delta\Delta\text{CT}$ del gen objetivo NCED1 en los momentos de cosecha y poscosecha. Para las muestras

cosecha, se observó una cuantificación relativa que inicia en el valor 0.2 y llega hasta 1, siendo un rango menor al de las muestras de poscosecha que presentan un valor de 1 a 3.6, evidenciado un rango mayor, o una mayor expresión, en el momento de poscosecha. Organizando los datos de $\Delta\Delta CT$, se evidencia el cambio normalizado de la cantidad de expresión. Se compararon las muestras con el gen de interés NCED1, teniendo en cuenta las muestras control frente a las muestras élite VM5.

Figura 7. Comparación muestras élite vs. control



Fuente: elaboración propia.

El ABA y el etileno se consideran inhibidores del crecimiento, fitohormonas participantes de los procesos de latencia (Rodríguez y Moreno, 2010). Un paso clave regulado en la biosíntesis de ácido abscísico (ABA) en las plantas es catalizado por 9-cis epoxicarotenoide dioxigenasa (NCED) (Bao-Cai *et al.*, 2003). Auldridge *et al.* (2006) sustentan que al menos cuatro enzimas tipo NCED contribuyen a la síntesis de ABA en la semilla en desarrollo de *A. thaliana*. En el caso de *S. tuberosum*, los tejidos de los tubérculos presentan sensibilidad diferencial a las hormonas, la cual cambia según la edad fisiológica y el tiempo transcurrido después de la cosecha.

Los resultados de la extracción total de ARN en ambos grupos de muestras indicaron concentraciones mayores para el gen NCED en los tubérculos irradiados, determinando una mayor expresión del gen NCED. Para dar este resultado, se implementó la técnica de amplificación y cuantificación absoluta y relativa del ARN extraído con la

técnica RT-PCR, utilizando los primers de estudios previos en este gen por Destefano-Beltrán, Knauber, Huckle y Suttle (2006).

Conclusiones

En Colombia, con la implementación de la mutagénesis inducida en el Programa Nacional de Mejoramiento Genético del Arroz por parte de la Federación Nacional de Arroceros –(Fedearroz), así como con la estandarización de protocolos para la obtención de plantas *in vitro* por medio de la metodología de cultivo de anteras (CA), se ha logrado la obtención de un banco de mutantes de 284 candidatos que están siendo utilizados como parentales.

Los estudios de dosimetría de los diferentes genotipos tratados con radiación gamma han evidenciado un rango de dosis entre 200 y 250 Gy para el tratamiento masivo de semillas en los distintos proyectos de mejoramiento de este importante cereal, el arroz.

En papa criolla (*Solanum tuberosum* L. grupo phureja), los diferentes ensayos han tenido como resultado la selección de un rango de dosis entre 25 y 50 Gy para el tratamiento de tubérculos, con el fin de obtener cambios deseables en características como precocidad y dormancia.

Los genes NCED, CPK7, evaluados en *Solanum tuberosum* L. grupo phureja, han sido empleados para medir la expresión diferencial entre las muestras control y las familias elite candidatas a mutante sólido; el análisis de expresión diferencial de las familias multigénicas, en relación con rendimiento agronómico y período de dormancia, se ha trabajado con evaluación de PCR cuantitativa, con el fin de desarrollar protocolos de validación de la etapas siguiente de evaluación del transcriptomas de los mutantes seleccionados.

Referencias

- AULDRIDGE, M., McCarty, D. & Klee, H. (2006). Plant carotenoid cleavage oxygenases and their apocarotenoid products. *Current Opinion In Plant Biology*, 315-321.
- BAO-CAI, T., Leina, M., Wen Tao, D., Quin-Bao, L., Kenneth, C. & McCarty, C. (2003). Molecular characterization of the Arabidopsis 9-cis epoxy-carotenoid dioxygenase gene family. *The plant Journal*, 44-56.
- BONILLA, M., Cardozo, F. y Morales, A. (2009). *Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de la papa en Colombia con énfasis en papa criolla*. Bogotá: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.

- BRUNNER, H. (1995). Radiation induced mutations for plant selection. *Appl. Radiat. Isot.*, 46(6/7), 589-594.
- DESTEFANO-BELTRÁN, L., Knauber, D., Huckle, L., & Suttle, J. (2006). Effects of postharvest storage and dormancy status on ABA content, metabolism, and expression of genes involved in ABA biosynthesis and metabolism in potato tuber tissues. *Plant Molecular Biology*, 61(4-5), 687-697. DOI:10.1007/s11103-006-0042-7
- FEDEPAPA. (2019). Estadísticas. Recuperado de <http://www.fedepapa.org.co>
- GÓMEZ CUERVO, P. (1970). *Instituto Colombiano Agropecuario. Inducción artificial de mutantes en papas criollas Solanum phureja Juz. et Buk*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- LENTINI, Z., Martínez, C. y Roca, W. (1997). *Cultivo de anteras de arroz en el desarrollo de germoplasma*. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- RODRÍGUEZ, L. y Moreno, L. (2010). Factores y mecanismos relacionados con la dormancia en tubérculos de papa. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 28, 189-197.
- RODRÍGUEZ, L., Ñustez, C. y Estrada, N. (2009). Criolla Latina, Criolla Paisa y Criolla Colombia, nuevos cultivares de papa criolla para el departamento de Antioquia (Colombia). *Agronomía Colombiana*, 27(3), 289-303.
- VIOLA, R., Pelloux, J., Van der Ploeg., Gillespie, T., Marquis, N., Roberts, A. y Hancock, R. (2007). Symplastic connection is required for bud outgrowth following dormancy in potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers. *Plant Cell d Environ*, 30, 973-983.

CAPÍTULO 3

COSTA RICA: AUMENTO DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA EN EL CULTIVO DEL ARROZ (*ORYZA SATIVA* L.)

Juan Félix Argüello Delgado,^{1} Rafael Orozco Rodríguez,¹
Alexis Fernández Acuña,¹ Alexander Sáenz Cordero,¹
Mairon Madriz Martínez,¹ Willy Navarro Alvares,¹
Ana Abdelnour Esquivel,² Jason Pérez Chávez,²
Miguel Rojas Chávez,² Walter Vargas Segura,²
Andrés Gatica Arias³*

Resumen

En el 2017, el programa de Biotecnología Vegetal y Recursos Fitogenéticos (Bioverfi de la Escuela de Ciencias Agrarias (ECA), de la Universidad Nacional de Costa Rica, UNA), retomó los trabajos de mejora genética en arroz en el marco del proyecto ARCAL RLA/5/068 titulado “Aumento del rendimiento y del potencial comercial de los cultivos de importancia económica”. En colaboración con investigadores del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), la Universidad de Costa Rica (UCR) y el Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA), se planteó el objetivo de seleccionar mutantes tolerantes a estrés hídrico y a la salinidad, usando la variedad CR5 272; esta selección se realizó tanto *in vivo* como *in vitro*. Luego de tres años de trabajo, se indica que *in vivo* se logró: 1) la DL₅₀ para irradiar semilla de dicha variedad, la cual se estableció en 327 Gy, recomendándose un rango de 300-400 Gy, para inducir mutaciones favorables en esta variedad; 2) la DL₅₀ para salinidad, usando cloruro de sodio (NaCl), siendo esta de 11.75 dS/m, recomendando el uso del rango de 12-14 dS/m; 3) la DL₅₀ para simular el estrés hídrico en condiciones de laboratorio usando PEG8000, siendo de -0.486 MPa, usando para fines prácticos -0.5 Mpa; 4) se estableció un sistema hidropónico para la selección en invernadero de hasta

¹ Escuela de Ciencias Agrarias (ECA), Programa de Biotecnología Vegetal y Recursos Fitogenéticos (BIOVERFI), Universidad Nacional de Costa Rica (UNA), Heredia, Costa Rica.

* juan.arguello.delgado@una.cr

² Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), Cartago, Costa Rica.

³ Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica (UCR), San José, Costa Rica.

10 000 semillas en condiciones de estrés salino; 5) 8 mutantes con tolerancia al estrés salino seleccionados en condiciones de invernadero –sistema hidropónico–; 6) 4 mutantes tolerantes a la sequía seleccionados en invernadero; 7) 20 mutantes seleccionados en campo con tolerancia a la sequía, 10 obtenidos en el 2017 con un porcentaje de humedad en el suelo de 20 % y otros 10 seleccionados el 2019 con una humedad en el suelo de 14 %; *in vitro* se logró: 8) la DL_{50} de NaCl para la selección de callos embriogénicos, la cual fue de 150 mM; 9) la DL_{50} de sorbitol, siendo de 5 % (m/v) para simular estrés hídrico, y 10) la DL_{50} en 60 Gy para la regeneración de 50 % de los callos embriogénicos tratados. Se puede concluir que la mejora genética, usando mutagénesis inducida en el cultivo del arroz, es capaz de generar variabilidad genética tanto *in vivo* como *in vitro*, lo que permite rescatar mutantes útiles para enfrentar el efecto del cambio climático y la seguridad alimentaria en Costa Rica.

Utilización de radiaciones ionizantes

En la década de los setenta del siglo pasado, el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), situado en Turrialba, Costa Rica, implementó un programa de investigación utilizando irradiaciones ionizantes (^{60}Co) en diferentes cultivos tropicales. No se conocen resultados importantes, con excepción de alteraciones morfológicas en las plantas, comparadas con las plantas no irradiadas.

Al final de esa década, Willy Navarro Álvarez, profesor e investigador de la UNA, decidió realizar su trabajo de graduación para obtener la maestría en Ciencias (M. Sc.) en el Instituto Tecnológico de Monterrey, México (ITESM), utilizando radiaciones gamma a partir de una fuente de ^{60}Co , sobre semillas de frijol para la inducción de mutaciones. Este trabajo constituyó su tesis de graduación como maestro en ciencias en diciembre de 1978.

A partir de entonces, se inició un programa de mejoramiento genético de plantas en la ECA de la UNA, mediante la inducción de mutaciones, productos de las irradiaciones gamma, utilizando diferentes partes de la planta en cultivos de importancia agronómica, principalmente irradiando semillas.

Entre los cultivos que fueron utilizados para inducir mutaciones, estuvo el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris*), el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.), como plantas de reproducción sexual y el banano (*Musa* ssp.) y el ñame (*Dioscorea alata*) como plantas de reproducción asexuales.

Muchos mutantes fueron obtenidos en cada uno de los cultivos, destacando en frijol el mutante UNECA, cuya principal característica fue el duplicar el tamaño de la semilla respecto al progenitor. Este mutante también presentaba tolerancia al frío, dado el tamaño de sus cotiledones, y fue utilizado *per se* en Paraguay y Estados

Unidos como cultivar tolerante a zonas y épocas frías. Otro importante mutante de frijol utilizado en Brasil se caracterizó por la elongación del hipocótilo para evitar la infección de enfermedades fungosas establecidas en el suelo.

En arroz, diversos mutantes fueron obtenidos; en 1996, se liberó como variedad la CAMAGO 8, la cual contaba con una excelente calidad de molinería y tolerante a piricularia (*Pyricularia grisea*); además, más de 16 mutantes fueron aportados al programa ARCAL para su utilización como germoplasma en programas de diferentes países. También, en el 2005, se produjeron algunas líneas con resistencia a salinidad, las cuales fueron establecidas dentro del germoplasma de arroz, como producto del proyecto (CRP for Salinity Resistant Crops).

En los cultivos de reproducción asexual, fueron obtenidos mutantes de banano en el año 1995 con resistencia parcial a sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*); en el 2000, mutantes de ñame, también con tolerancia parcial a Antracnosis (*Colletotrichum gloesporioides*), pero sus características fenotípicas no fueron las deseables para ser utilizadas como materiales comerciales.

En estos cultivos, el programa usó radiaciones ionizantes para inducir cambios genéticos; produjo trabajos que sirvieron de tesis para el grado de licenciatura a algunos estudiantes de la Escuela de Ciencias Agrarias de la UNA.

Otras técnicas nucleares fueron utilizadas también en la ECA en 1999; el laboratorio de suelos, del Dr. Carlos Cervantes, utilizó radioisótopos en el estudio de suelos. Además, en la Escuela de Biología de la Universidad Nacional también fueron usados radioisótopos en proyectos de hidrología por la Dra. Jenny Reynolds.

En 1998, la Universidad de Costa Rica, en el Centro de Investigación Agronómica (CIA), utilizó tubérculos de tiquisque (*Xanthosoma* spp) con el objetivo de obtener mutantes resistentes a mal seco (*Fusarium solani*, *Phyitium* sp, *Rhizoctonia solani*, *Erwinia caratovora* y *Pseudomonas* sp). Además, en el Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM) de la UCR, de 2005 a 2013, se realizó un proyecto utilizando la tecnología de inducción de mutaciones por irradiaciones gamma, irradiando embriones de frijol con el objetivo de seleccionar mutantes tolerantes a telaraña (*Thanatephorus cocumeris*).

A partir del 2017, el programa BIOVERFI de la UNA y los colaboradores ITEC y UCR retomaron trabajos en la mejora genética, utilizando las radiaciones ionizantes (⁶⁰Co) en el cultivo del arroz. Esta nueva incursión en el uso de la técnica de inducción de mutaciones se da gracias a la participación del programa Bioverfi en el proyecto ARCAL RLA/5/068 titulado “Aumento del rendimiento y del potencial comercial de los cultivos de importancia económica”.

Problemática en la producción del cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.)

En Costa Rica, el consumo aparente de arroz en el período 2018-2019, de acuerdo con la metodología de cálculo de la FAO, se estimó en 236 224 toneladas métricas de arroz pilado, para un consumo per cápita de 46.96 kg y un promedio mensual de 19 685 toneladas métricas (Conarroz, 2020).

En este mismo período, la producción nacional de arroz fue de 155 051 toneladas métricas en granza seca y limpia, cifra inferior en 1.8 % a la registrada en el período 2017-2018. Esta reducción obedece a una fuerte disminución en el área de siembra; sin embargo, el rendimiento se mantuvo muy similar con respecto al período anterior (Conarroz, 2020).

En el período 2018-2019, 60 % de la producción correspondió a la siembra en la región Chorotega, seguida por las regiones Brunca y Pacífico Central, con 16 y 14 %, respectivamente. En la región Huetar Norte y Huetar Atlántica, se registró 10 y 0.19 %, respectivamente (Conarroz, 2020).

Las regiones Chorotega y Pacífico Central se caracterizan porque la producción de arroz depende del agua de lluvia, factor que es riesgoso frente a la variabilidad del clima –cambio del clima– que se proyecta para los próximos años. Además, el estrés abiótico dado por la salinidad es uno de los principales agentes que afectan negativamente la producción de biomasa y el rendimiento de este cultivo.

Esta situación se ve agravada si se toma en cuenta que, en este mismo período, del total de área sembrada 36 979 ha, 16 767 ha fueron sembradas en un sistema bajo riego, representando 45 % del total del área sembrada (Conarroz, 2020), y que, desde los años setenta, hay reportes de suelos salinos en las zonas productoras de este cereal en Costa Rica (Montes de Oca, Mata y Chaves, 1996). Esto evidencia la imperiosa necesidad de incorporar características de defensa en las nuevas variedades que ayuden a mitigar el efecto de estos fenómenos en el sistema de producción de arroz.

Una herramienta para enfrentar estas problemáticas lo representa la mejora genética, la cual parte de la simple selección ejercida en forma visual por el hombre, hasta las nuevas estrategias de creación de variación –hibridación, ADN recombinante–, selección, evaluación y multiplicación de los genotipos deseados.

Para incrementar la eficiencia y acortar el período de creación de variedades, los mejoradores combinan muchas técnicas en el proceso, como el cultivo *in vitro* –clonación–, para acelerar la multiplicación, métodos moleculares para seleccionar genotipos específicos, mutagénesis para incrementar la variación, uso de genética reversa, técnica de dobles haploides y el uso de ambientes controlados para facilitar y manipular el crecimiento (Ahloowalia y Maluszynsky 2001; Mba, 2013).

Como se destacó, una de esas estrategias de mejoramiento es la inducción de mutaciones por métodos artificiales, la cual debe iniciarse con el uso de variedades que muestren alta producción y características deseables, pero que carecen de las características que les permitirían adaptarse a condiciones específicas, de manera que, con la irradiación, se busca la producción de variación en uno o dos de los principales caracteres que las hagan más adaptadas a las condiciones buscadas (Ahloowalia y Maluszynsky, 2001).

El factor clave en la irradiación de material vegetal es la dosis o cantidad de energía de radiación absorbida por el material, y debe determinarse experimentalmente para cada especie y tipo de tejido.

En Costa Rica, el arroz constituye un cereal de relevancia en la alimentación de los costarricenses, por lo que es necesario generar estrategias que contribuyan a reducir el impacto económico de los factores ambientales que pongan en riesgo la seguridad alimentaria.

Por esta razón, el programa Bioverfi plantea la necesidad de seleccionar mutantes de arroz tolerantes a estrés hídrico y la salinidad; para lograr esto, se planteó como objetivo aumentar la variabilidad genética del cultivo del arroz (*Oryza sativa* L. var. CR5272), utilizando rayos gamma (^{60}Co) con el fin de seleccionar mutantes.

Al desarrollar este objetivo, se logró utilizar la fuente de irradiación gamma de alta intensidad, ubicada en la sede central del ITCR y adquirida recientemente en colaboración con el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA).

Como material inicial, en todos los procesos de investigación descritos en este capítulo, se utilizó la variedad CR5272, que se caracteriza por ser de porte bajo, con hojas erectas, macollamiento moderado, resistente al acame, con un ciclo de 105 a 115 días, susceptible a piricularia (*Pyricularia grisea*), con un rendimiento de 4-5 t/ha y una excelente calidad molinera.

Determinación de la DL_{50} en semillas de arroz (*Oryza sativa* L.) y en la variedad CR5272

Se realizó un ensayo para determinar la radiosensibilidad de semillas de arroz (*Oryza sativa* L.) a rayos gamma y obtener los datos de la DL_{50} ; para esta determinación, se evaluaron tres variables: porcentaje de germinación (%), longitud del tallo (cm) y longitud de la raíz (cm).

Se utilizaron semillas secas con 92 % de germinación y con una humedad de 12 %, las cuales fueron irradiadas con siete dosis de rayos gamma (0, 100, 200,

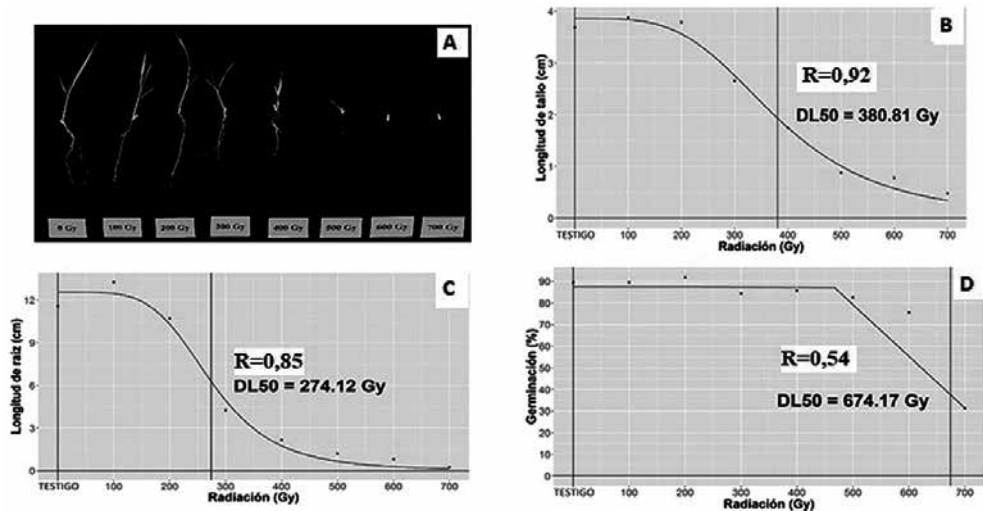
300, 400, 500, 600 y 700 Gy). El proceso de irradiación se hizo mediante un Gammacell con una fuente de cobalto (^{60}Co) y una taza de irradiación de 60 Gy/minuto.

Después de la irradiación, las semillas se sembraron con el método de muñeca –160 semillas para cada tratamiento–, el cual consistió en colocar las semillas en pliegos de papel periódico con dimensiones de 36.5 cm largo x 26 cm de ancho, en la parte más larga del papel a 1 cm del borde y con un espaciamiento de 0.9 cm por semilla.

Una vez colocadas las semillas, el papel se humedeció con agua destilada, y se enrolló en forma de cilindro y se colocó en un *beaker* de 3 litros con agua a tres cuartos del pliego de papel, estos se colocaron en una cámara de germinación por 14 días; la cámara se mantuvo a 85 % de humedad y 30 °C.

Después de la germinación, todas las semillas se colocaron en un invernadero hasta cumplir los 21 días después de la siembra (dds). Se realizó un diseño completo aleatorizado (DCA) con cuatro réplicas para cada tratamiento, con 40 semillas por réplica. Al finalizar los 21 dds, se hizo la toma de datos y se realizó un análisis estadístico de las variables evaluadas, con un modelo DRM (dose response model) con software estadístico R, para determinar la DL_{50} con un modelo no lineal (figura 1).

Figura 1. Resultados en la irradiación (Gy) de semillas de arroz (*Oryza sativa* L.var. CR5272) con ^{60}Co y su efecto sobre diferentes variables; (a) plántulas a los 21 días; (b) longitud del tallo; (c) longitud de la raíz, y (d) porcentaje de germinación de semillas



Fuente: elaboración propia. BIOVERFI, 2020

Los resultados muestran que hubo una respuesta diferenciada según la variable evaluada; sin embargo, las mejores correlaciones se presentaron en las variables longitud del tallo y longitud de la raíz mostraron significancia, $R=0.92$ y $R=0.85$, respectivamente, por lo que se estableció 327 Gy de irradiación como DL_{50} basado en 50 % de la reducción del crecimiento de estas dos variables. Sin embargo, para realizar trabajos de mejoramiento, se recomienda un rango de 300-400 Gy, como dosis efectiva para inducir mutaciones favorables en esta variedad de arroz.

Producción y selección de mutantes de arroz a partir de semillas irradiadas con ^{60}Co

Implementación de un sistema alternativo para el crecimiento de plantas de arroz

Se construyó un sistema hidropónico tipo raíz flotante sin retorno y sin aireación, donde las raíces de las plantas de arroz están en contacto directo con la solución nutritiva y que fue utilizado en diferentes momentos de la selección de mutantes de arroz.

Se utilizaron bandejas de plástico con dimensiones externas de 73 cm de largo, 42.5 cm de ancho y 19.5 cm de altura; y dimensiones internas de 69.5 cm de largo, 39 cm de ancho y 18 cm de altura; a cada bandeja, se le hizo una salida para el drenaje en la esquina inferior izquierda.

Se utilizó un tanque tricapa de 450 litros. Su finalidad consistió en tener la suficiente capacidad para contener la solución nutritiva de todas las plantas en una sola preparación, de manera que todas contaran con la misma proporción de nutrientes y no se incurriera en variaciones en el contenido de estos.

Debido a que la posición del desagüe se encuentra a un costado del tanque, siempre queda un remanente de líquido importante. Por lo cual, se le realizó una perforación en la parte inferior para evacuar la solución sin dejar remanentes. El tanque se ubicó a 1.5 m de altura, esto favoreció la distribución de la solución por gravedad.

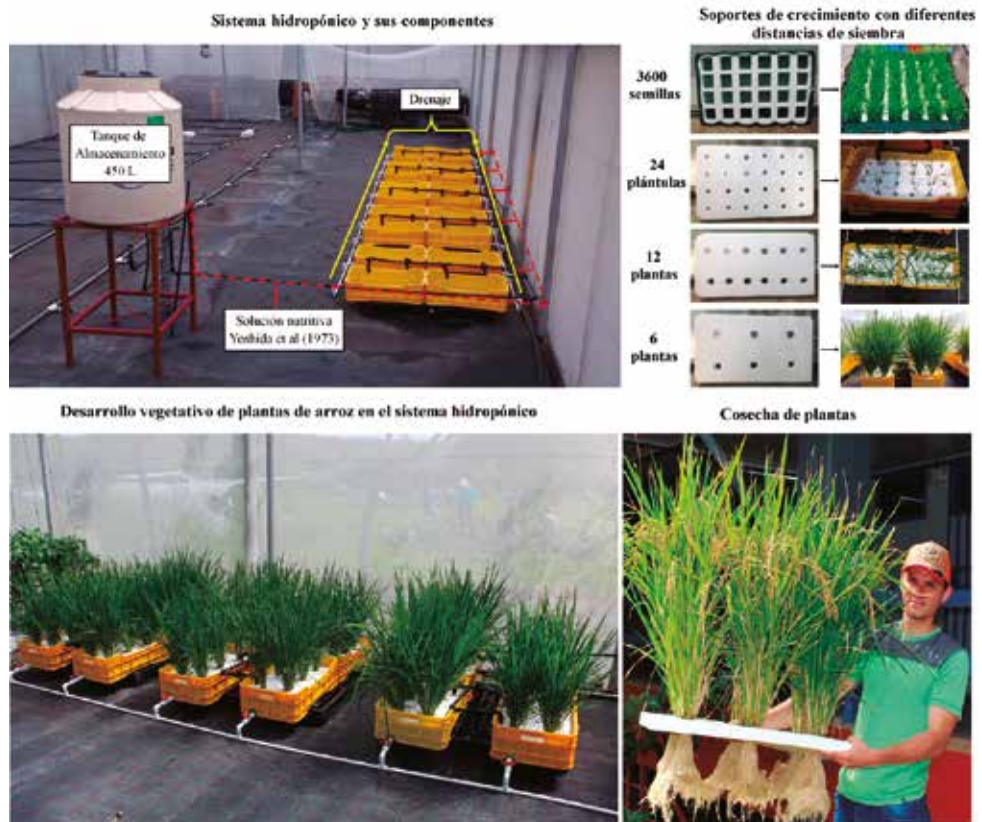
Para distribuir la solución, se utilizó tubería poliducto de media pulgada, construyendo una línea principal de riego sobre un costado de las bandejas. Sobre esa línea se adaptaron conexiones de poliducto que conducían la solución nutritiva hacia las bandejas. La entrada de la solución se construyó de manera independiente para cada bandeja.

Se utilizó tubería de policloruro de vinilo no plastificado (PVC) de media pulgada para descartar la solución nutritiva de desecho. Todos los drenajes se conectaron a una tubería principal que desagua la solución fuera del invernadero, el cual tiene una pendiente de 3 por ciento.

Una vez construido el sistema hidropónico, se implementó un sistema de soporte para las plantas, el cual estaba compuesto por láminas de poliestireno de 1½ pulgada, adaptadas a las dimensiones internas de las bandejas. Se utilizaron cuatro tipos de soporte –3600 semillas, 24 plántulas, 12 plantas y 6 plantas–, los cuales variaron de acuerdo con el estado de desarrollo de las plantas.

Este sistema alternativo de producción de plantas de arroz en condiciones de invernadero permitió el crecimiento y el desarrollo de las plantas hasta su cosecha. Una vez implementado el sistema hidropónico con sus variantes, se utilizó, en la selección de mutantes de arroz, al estrés salino y al estrés hídrico (figura 2).

Figura 2. Sistema hidropónico para el crecimiento de planta de arroz en invernadero



Fuente: elaboración propia. Fernández. A. 2020.

Selección a salinidad en invernadero y utilizando un sistema hidropónico

En Costa Rica, la presencia de cloruro de sodio (NaCl) en los suelos es una de las principales causantes de suelos salinos (Montes de Oca *et al.*, 1996), por lo que se determinó la DL_{50} para el estrés salino, utilizando concentraciones crecientes de sal común.

Se utilizó un sistema hidropónico de raíz flotante para la siembra de las semillas de arroz (Fernández-Acuña, Madriz-Martínez, Orozco-Rodríguez y Arguello-Delgado, 2020); se establecieron 11 tratamientos y un testigo, para esto se modificó la solución nutritiva (Yoshida, Formo, Cock y Gómez, 1976), incrementando la conductividad eléctrica (CE) desde los 2 hasta los 20 dS/m con intervalos de 2 dS/m entre tratamientos, siguiendo la metodología de Bado *et al.* (2016) y utilizando sal común (NaCl) para lograr cambiar la CE (0.42, 1.22, 2.56, 3.66, 4.78, 5.92, 7.08, 8.26, 9.46, 10.96 g/l). Se implementó un diseño irrestricto al azar con 3 repeticiones por tratamiento y 40 semillas por repetición.

A los 21 dds se analizaron las variables porcentaje de germinación, porcentaje de sobrevivencia, longitud de tallo, longitud de la raíz y el número de hojas.

Los resultados evidenciaron que cada aumento de CE produce una reducción de follaje, raíz y crecientes síntomas de toxicidad en hojas. Estos síntomas fueron visibles a partir de los 9 días de edad y desde los 4 dS/m en adelante. Todas las variables analizadas mostraron reducciones significativas a partir de los 12 dS/m; además, los resultados obtenidos de la DL_{50} mostraron que las cinco variables evaluadas no coincidieron con la misma CE, encontrándose un rango que va desde los 11.75 hasta los 19.87 dS/m en CE. Tomando en consideración estos resultados y teniendo en cuenta que la variable altura de la planta evidencia claramente el efecto de los tratamientos a los 21 días, se reporta como DL_{50} 11.75 dS/m, basado en 50 % de la reducción del crecimiento de esta variable. Sin embargo, para realizar trabajos de mejoramiento se recomienda un rango de 12-14 CE.

La selección de mutantes se realizó en dos fases de estrés salino, ambas fases se llevaron a cabo en invernadero, utilizando un sistema hidropónico, que consistió en modificar la solución nutritiva hasta alcanzar un CE de 14 dS/m. El primer estrés salino se dio en la fase de germinación y desarrollo de plántulas desde 0 hasta los 21 dds y el segundo estrés salino en la fase reproductiva específicamente en floración.

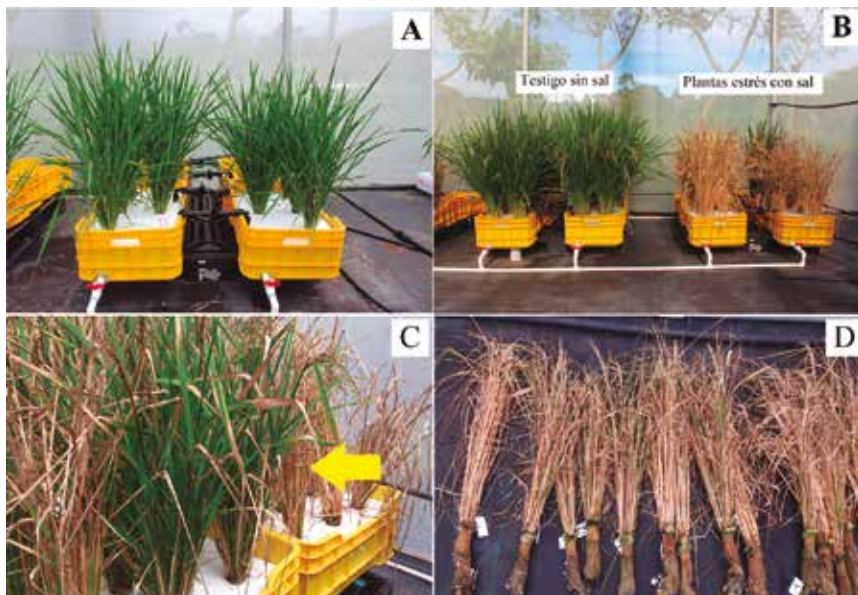
En la primera fase, se establecieron tres tratamientos, el tratamiento 1 (T1) consistió en colocar 9 450 semillas M_2 de la variedad CR5272 de 400 Gy en el sistema hidropónico y con una solución nutritiva modificada con sal común hasta lograr una CE de 14 dS/m. El tratamiento 2 (T2) consistió en colocar en el sistema hidropónico 1 350 semillas de CR5272 sin irradiar en solución nutritiva y con una CE de 14 dS/m. El tratamiento 3 (T3) consistió en cultivar, en el mismo sistema, 3 600 semillas de CR5272 sin irradiar en solución nutritiva con una CE de 1.17 dS/m; esta fase tuvo una duración de 21 días.

Al finalizar este período, se observaron plántulas del T1 con crecimientos notoriamente destacados que sobresalían de las demás en tamaño y vigor, con la ayuda de la escala cualitativa de tolerancia a salinidad para la selección de plántulas tolerantes (Bado *et al.*, 2016). Se seleccionaron 30 plántulas como mutantes, de las cuales 2 plántulas fueron clasificadas como tolerantes y 28 plántulas moderadamente tolerantes, con porcentajes de selección de 0.021 y 0.296, respectivamente.

Posteriormente, las 30 plántulas seleccionadas y 12 plántulas de cada uno de los tratamientos T2 y T3 fueron sometidas a un período de recuperación que consistió en sembrarlas en el sistema hidropónico, pero sin modificar la CE. En prefloración, se produjo el segundo estrés salino, que consistió en modificar la solución nutritiva hasta lograr una CE de 14 dS/m; este período de estrés duró 25 días y se le aplicó a los 30 mutantes seleccionados y a las plantas T2.

Al finalizar todos los análisis y después de los dos momentos de estrés salino, sobrevivieron 8 mutantes, los cuales presentaron tejidos vivos, formación de nuevas macollas y producción de grano; estos mutantes se clasificaron: 1 como tolerante y 7 moderadamente tolerante, y con porcentajes de selección de 0.010 y 0.074 %, respectivamente, en esta fase de selección (figura 3).

Figura 3. *Comportamiento de las plantas antes, durante y después del estrés (a) plantas antes del estrés salino; (b) plantas testigo sin sal y plantas estresadas con sal; (c) plantas que lograron sobrevivir (mutante), y (d) plantas que no toleraron el estrés.*



Fuente: elaboración propia. Fernández, A. 2020.

En este proceso de selección de mutantes, la variable grano lleno se tomó como indicador de base para selección y todos los mutantes seleccionados, al menos, lograron producir un grano lleno y viable.

Los 8 mutantes presentaron respuestas diferenciadas en cada variable analizada –ciclo del cultivo, altura de la planta, número de macollas, número y longitud de panículas, espigas por panícula, peso total del grano, número de granos por planta, número de granos por panícula y granos llenos–, realizando comparaciones únicamente entre mutantes; se observó que ninguno fue superior en todas las variables, sino que, en algún momento, un determinado mutante presentaba mejores valores respecto a los demás, pero en otras ese mismo mutante resultaba inferior.

Al realizar la comparación entre los mutantes y los testigos, se evidenciaron tres tipos de respuesta: en la primera, se encontraron mutantes (T1) que son superiores a los promedios de las plantas T2 y T3, en una o más variables analizadas; la otra respuesta fue cuando los mutantes, en ciertas variables, fueron inferiores a los promedios de las plantas T2 y T3, y, por último, se encuentran los mutantes que solo eran superiores al promedio de las plantas T2.

Este comportamiento de los mutantes podría atribuirse a diferencias en el grado de tolerancia de cada uno a la salinidad y al presentar mejor respuesta a ciertas variables que el T2 y el T3 los convierte en mutantes para ser evaluados en futuros procesos de mejora genética en suelos salinos.

También se debe indicar que los porcentajes de selección en ambas fases son muy bajas –si se comparan con otros procesos de selección de mutantes tolerantes a salinidad–, pero también es cierto que en el proceso aquí descrito tiene variantes en la metodología con respecto a esos procesos; sin embargo, esta metodología cumplió con toda la rigurosidad necesaria para la selección eficiente de mutantes, y es funcional para la selección de estos.

Se destaca que la implementación del sistema hidropónico en invernadero, usando una solución nutritiva a la cual se le modificó la concentración de sal, fue eficiente y permitió la selección de mutantes de arroz en dos momentos del ciclo del cultivo.

Selección a estrés hídrico en laboratorio e invernadero

Se estableció un ensayo para la selección de mutantes a estrés hídrico. Esta selección se realizó en dos fases: la primera consistió en ejercer una presión de selección utilizando el PEG 8000 como simulador de sequía en fase de germinación y desarrollo de plántulas, desde 0 hasta los 21 dds; esta fase se realizó en condiciones de laboratorio, y la segunda consistió en ejercer una presión de selección en la fase reproductiva,

específicamente en prefloración, por lo que se disminuyó la humedad volumétrica hasta 30 %, y se utilizó un equipo TDR 300 Soil Moisture Meter; se realizaron mediciones diariamente con la finalidad de reponer la pérdida de agua, y, una vez alcanzado este valor, se suministró agua hasta llegar a 40 %. Este estrés hídrico duró un total de 27 días y se llevó a cabo en condiciones de invernadero.

Previo a la selección de mutantes, fue necesaria la determinación de la DL_{50} a estrés hídrico, la cual se realizó en laboratorio, utilizando concentraciones crecientes de PEG 8000. Para esto, se usaron placas Petri con dimensiones de 9 cm de diámetro y 1.5 cm de altura, en las cuales se usó papel de germinación como sustrato y se sembraron semillas de arroz de la variedad CR5272 (M_0), y a las cuales se les modificó la solución acuosa con PEG 8000, volviendo más negativo el potencial osmótico de esta solución.

Se establecieron 11 tratamientos desde los 0 Mpa (Megapascales) hasta los -1.0 MPa con intervalos de -0.1 MPa entre tratamientos. Todos los tratamientos fueron llevados a la cámara de germinación, donde permanecieron 14 días y, posteriormente, fueron trasladados al cuarto de crecimiento con un fotoperíodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad por 7 días, para así completar los 21 días que dura toda la prueba. Se utilizó un diseño irrestricto al azar con tres repeticiones por cada tratamiento experimental; estos corresponden a distintos potenciales osmóticos. Al finalizar este periodo, se analizaron las variables porcentaje de germinación, altura de la planta y longitud del sistema radical.

Los resultados obtenidos mostraron que al modificar la solución acuosa con PEG 8000 donde se sembraron las semillas y al volverse más negativo el potencial osmótico las variables altura de la planta, longitud del sistema radical y porcentaje de germinación disminuyeron.

También los resultados de la DL_{50} mostraron que las tres variables evaluadas no coincidieron en un mismo potencial osmótico, por lo que se determinó como DL_{50} la variable más sensible al PEG 8000, la cual fue la altura de la planta, donde mostró reducciones de 50 % en su crecimiento. Este valor fue de -0.486 MPa, y se determinó que en este potencial osmótico corresponde a la DL_{50} y puede ser empleado para la selección en poblaciones segregantes de semillas de arroz como factor de estrés hídrico.

Para la selección de mutantes en la primera fase, se definieron tres tratamientos: tratamiento 1 (T1), semillas M_2 de CR5272 de 300 Gy en solución de PEG 8000 con un potencial osmótico de -0.5 MPa; tratamiento 2 (T2), semilla CR5272 sin irradiar en solución con un potencial osmótico de -0.5 MPa, y tratamiento 3 (T3), semilla CR5272 sin irradiar en agua destilada.

En esta fase se utilizaron 11 bandejas; 10 bandejas que contenían 1 000 semillas del tratamiento T1 y 100 semillas del tratamiento T2, para un total de 1100 semillas por

bandeja, y una bandeja con 1 000 semillas del tratamiento T3. Los tratamientos T1 y T2 se humedecieron con solución de PEG 8000, a -0.5MPa para simular el estrés hídrico, y el tratamiento T3 se humedeció con agua destilada. Todas las bandejas permanecieron 14 días en una cámara de germinación y 7 días en un cuarto de crecimiento con un fotoperíodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, y un rango de temperatura promedio a $24\text{-}26\text{ }^{\circ}\text{C}$.

En esta fase, se seleccionaron 16 mutantes tolerantes a condiciones de estrés hídrico provenientes del tratamiento T1. El criterio de selección consistió en utilizar un promedio de altura de la planta y de longitud del sistema radical de 12 plántulas al azar del tratamiento T3, las cuales promediaron 6 cm de altura de plántulas y 8.5 cm de longitud de sistema radical. Con este criterio, se seleccionaron todas las plántulas M_2 que presentaron como mínimo 50 % del promedio de la altura de la planta y la longitud del sistema radical del tratamiento T3. A la vez, se rescataron, al azar, 11 plántulas del tratamiento T2.

La segunda fase de selección se realizó una vez concluida la recuperación de los testigos y de los mutantes seleccionados a los 21 días. La recuperación consistió en trasplantar todas estas plántulas a un sistema hidropónico; en este sistema permanecieron durante 50 días. Se utilizó la solución nutritiva para arroz descrita por Yoshida *et al.* (1976); este sistema es utilizado rutinariamente en el programa Bioverfi para la recuperación de plantas de arroz.

Posteriormente a la recuperación, todas las plantas se trasladaron a un invernadero y se trasplantaron a potes de 8 kg con suelo estéril y se sumergieron en una piscina plástica -150 cm de diámetro y 52 cm de altura– con agua para mantener las plantas a capacidad de campo (CC), donde permanecieron hasta prefloración para así iniciar la segunda presión de selección, la cual se realizó a los 118 dds. Esta presión de selección duró 27 días; transcurrido este tiempo, todas las plantas se pusieron nuevamente a capacidad de campo hasta la cosecha. Las plantas del tratamiento T3 (Testigo) continuaron todo su ciclo hasta la cosecha a capacidad de campo.

Al finalizar el ciclo de cultivo, todas las plantas se cosecharon y se evaluaron utilizando parámetros de rendimiento y el Sistema de Evaluación Estándar adoptado para el arroz (IRRI, 1996). Se seleccionaron cuatro mutantes que mostraron un mejor comportamiento bajo condiciones de estrés hídrico cuando fueron comparados con el tratamiento testigo T3 (tabla 1).

Tabla 1. *Mutantes seleccionados a estrés hídrico después de finalizada la segunda fase de selección*

Variables evaluadas		Mutantes				Testigo
		UNA-1139	UNA-1161	UNA-1162	UNA 11-63	
Cuantitativas	Días a floración	128	128	128	128	131
	Días a madurez	145	145	145	145	162
	Número de granos llenos totales	1 523	565	680	631	1321
	Peso total de granos llenos (gr)	31.88	11.79	15.31	12.97	29.1
Cualitativas	Secado de punta*	3	3	3	3	N/A***
	Enrollamiento de hojas**	1	1	1	1	N/A

Nota: * 3: moderadamente resistente, **1: resistente, *** N/A: no aplica.

Fuente: elaboración propia. Sáenz, A. 2020.

Se puede observar en la tabla 1 que al comparar las variables evaluadas entre los cuatro mutantes, el comportamiento de estas es muy similar para todos, destacándose el mutante UNA1139, el cual mostró mejores valores de rendimiento específicamente en las variables número de granos llenos y peso de granos llenos, inclusive valores mejores que el testigo (T_3).

También se destaca que, si bien es cierto que todos los mutantes tuvieron valores menores en las variables de rendimiento con respecto al testigo, excepto el UNA-1139 –como ya se dijo–, las variables días a floración y días a madurez fueron menor en todos los mutantes; esto podría indicarnos que estos mutantes además de tener genes de resistencia al estrés hídrico también podrían ser materiales con ciclos de cultivo más cortos.

Selección a estrés hídrico en campo durante dos épocas ambientales

Para realizar las selecciones en campo, se establecieron ensayos en las épocas secas de 2017 y 2019 en la estación Experimental Enrique Jiménez Núñez (EEJN), ubicada en el cantón de Cañas, provincia de Guanacaste y propiedad del Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA).

En ambas épocas de siembra, se utilizó semilla segregante de la variedad CR5272 de 300 Gy; se establecieron tres tratamientos: el tratamiento 1 (T1) para 2017 consistió en una parcela de 971 m² con semilla M_2 , y para el 2019 una parcela de 876 m² con semillas M_3 , a las cuales se les aplicó estrés hídrico en la fase reproductiva, espe-

cíficamente en prefloración; además en ambas épocas se establecieron tratamientos testigos de semillas sin irradiar, T2 y T3, al tratamiento 2 (T2) se le aplicó estrés hídrico en prefloración, y al tratamiento 3 (T3) no se le aplicó estrés hídrico. Las áreas de siembra fueron de 120 m² para 2017 y 135 m² para 2019 en ambos tratamientos (T2 y T3).

Para la época seca de 2017, la fecha de siembra fue el 23 de enero y la fecha de cosecha fue el 07 de mayo de ese mismo año, para un ciclo de cultivo de 104 días para todos los tratamientos. En esta misma época, los tratamientos T1 y T2 iniciaron el estrés hídrico a los 66 dds y este período de estrés se mantuvo por 33 días; el tratamiento T3 no se estresó.

En la época seca de 2019, la fecha de siembra fue el 12 de diciembre de 2018 y la cosecha se realizó el 10 de abril de 2019, para un ciclo de cultivo de 111 días para todos los tratamientos. El estrés hídrico se inició a los 71 dds y el período de estrés duró 36 días; el tratamiento T3 no se estresó.

En ambos ensayos, la fertilización consistió en aplicar 200 kg de nitrógeno (N), 60 kg fósforo (P₂O₅) y 115 kg de potasio (K₂O); además, se realizaron controles de malezas y de plagas y enfermedades, según fuera necesario, durante todo el ciclo de cultivo.

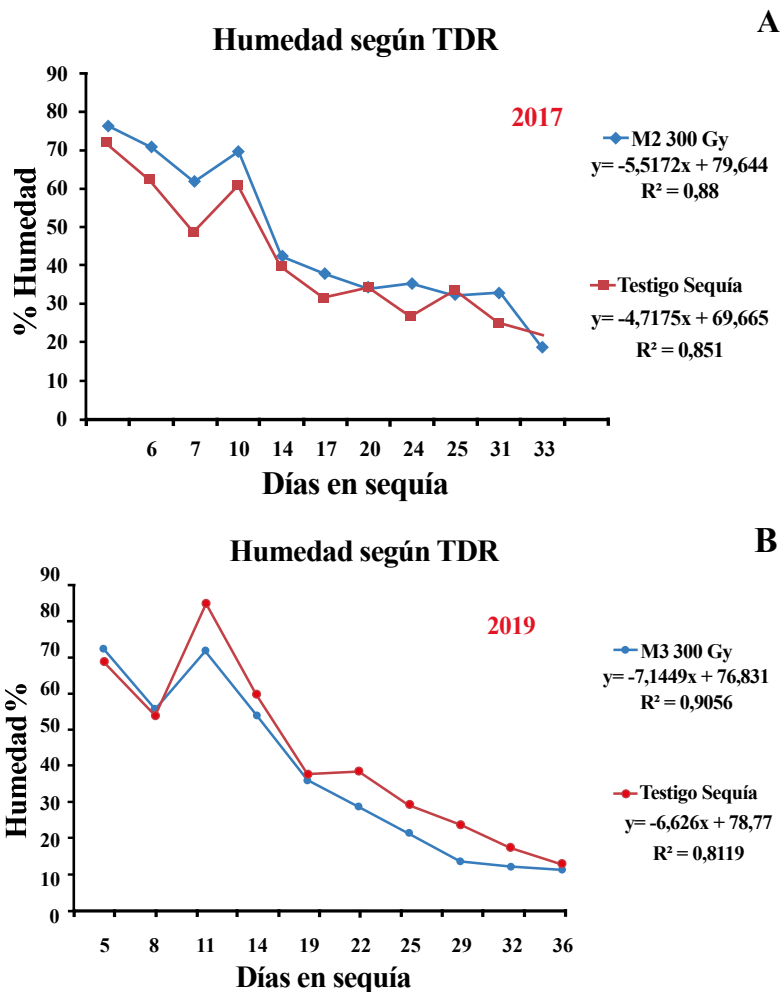
El manejo del agua de riego se realizó haciendo mojes cada tres días –lunes, miércoles y viernes– y cortando el suministro de agua en prefloración a las parcelas que se estresaron.

En los dos ensayos y en los dos tratamientos (T1 y T2) que se aplicó estrés hídrico, se realizó un monitoreo constante de la humedad del suelo; esta labor se realizó utilizando TDR 300 Soil Moisture Meter y se llevó a cabo una vez que el agua de riego fue suspendida (figura 4).

Los resultados de este monitoreo (figura 4) demostraron que efectivamente, en ambas épocas, las parcelas experimentaron un proceso de reducción del porcentaje de humedad, ya que después de 33 días, en 2017, se logró un porcentaje de humedad en el suelo de 20 % y, en 2019, después de 36 días se logró una humedad en el suelo de 14 %.

La cosecha de todas las parcelas se realizó de forma manual. Para los tratamientos T2 y T3, se cosecharon 25 plantas al azar y para el tratamiento T1 el criterio de selección consistió en seleccionar todas aquellas plantas que, al final del estrés hídrico, presentaban sobrevivencia y espigas con semillas llenas; estas plantas se marcaron y se cosecharon de forma individual.

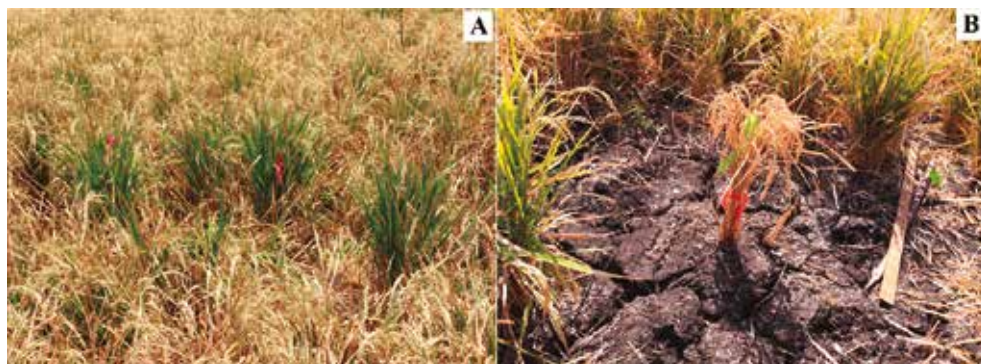
Figura 4. Porcentaje de humedad en parcelas de arroz en que se les aplicó estrés hídrico durante los dos ensayos. (a) ensayo de 2017 y (b) ensayo de 2019



Fuente: elaboración propia. BIOVERFI. 2020.

Finalizado los dos ciclos de cultivo, se cosecharon para la época seca de 2017 52 mutantes y para la época seca de 2019, 36 mutantes que cumplieron con el criterio de selección. Una vez analizados los parámetros altura de la planta, número de macollas, número y longitud de las panículas, número de espigas, número de semillas por panícula, peso de 100 semillas y esterilidad se seleccionaron los mejores 10 mutantes por época de selección (figura 5).

Figura 5. *Mutantes seleccionadas según época. (a) 2017 y (b) 2019*



Fuente: elaboración propia. BIOVERFI. 2020.

Para la selección de los 10 mejores mutantes por época, se tomaron en cuenta todas las variables de rendimiento; sin embargo, la que tomó más relevancia fue el porcentaje de esterilidad de semillas. Para ambas épocas, se escogieron los 10 mutantes donde su esterilidad fuera menor a la esterilidad de T2 –testigo sin agua–. Este criterio permitió escoger aquellos mutantes que presentaron un mejor rendimiento respecto al T2 en condiciones similares.

También es importante indicar que la esterilidad de todos los mutantes seleccionados en ambas épocas fue inferior al tratamiento T3. Este resultado, junto con el monitoreo de la humedad del suelo (figura 3), indica que el método empleado efectivamente provocó estrés y que estos mutantes seleccionados respondieron positivamente a esta condición.

Producción y selección de mutantes de arroz en condiciones in vitro

La producción de variedades por mutagénesis requiere la selección de un elevado número de individuos, lo que normalmente demanda grandes extensiones de terreno, insumos y mano de obra (Bündig *et al.*, 2017). El cultivo de tejidos es una herramienta biotecnológica que constituye un valioso apoyo en los programas de mejoramiento genético, debido a que se facilita el proceso de selección en espacio reducido y condiciones controladas, siendo posible añadir los factores de selección en el medio de cultivo (Maluszynski, Szarejko, Bhatia, Nichterlein y Lagoda. 2009; Schaart, van deWiel, Lotz y Smulders, 2016).

Una vez obtenidos los individuos de interés, su multiplicación masiva se realiza en corto tiempo y los mutantes producidos pueden conservarse, permitiéndose contar

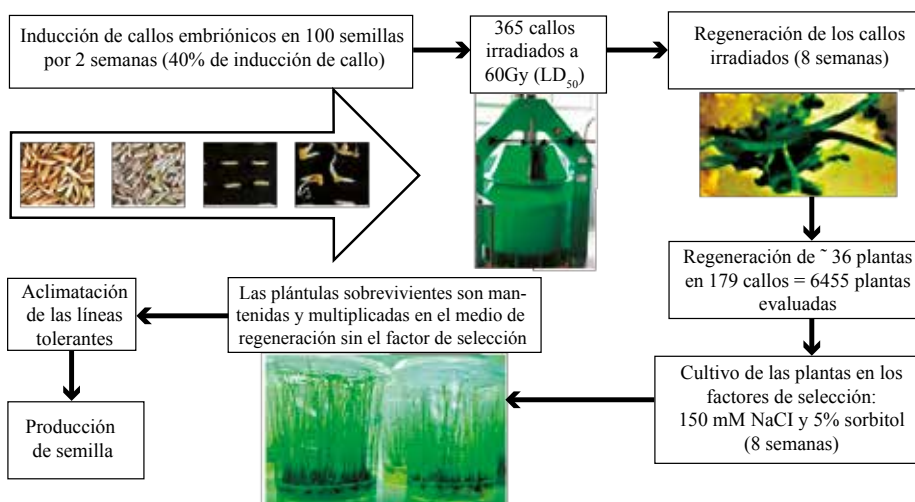
con clones *in vitro* de los materiales seleccionados (Abdelnour-Esquivel, Pérez, Rojas, Vargas y Gatica-Arias, 2020).

En la variedad CR 5272 fue posible la producción y selección de mutantes *in vitro*, utilizando semillas M_0 como explantes iniciales para la inducción de callos embriogénicos. La principal ventaja del uso de este tipo de tejidos somáticos en la selección de mutantes es que los embriones son producidos a partir de un pequeño grupo de células, por lo que se disminuye la presencia de tejidos quiméricos en los individuos seleccionados (Bhojwani y Dantu 2013). Una vez obtenidos los callos embriogénicos, estos fueron cultivados en concentraciones crecientes de NaCl (0, 25, 50, 75, 100, 125 y 150 mM), y se determinó que la dosis letal media para este factor de selección fue de 125 mM. Los callos embriogénicos también fueron cultivados en concentraciones crecientes de sorbitol, simulando el factor de sequía, en concentraciones de 0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 % (m/v), y se determinó que la dosis letal media para este factor fue de 5 %. En las concentraciones superiores a 15 %, no se observó la regeneración de los callos embriogénicos sin irradiar.

Asimismo, se determinó la radiosensibilidad de los callos embriogénicos, los cuales fueron expuestos a dosis de 0, 20, 40, 60, 80, 100, 200, 300, 400 y 500 Gy. Se determinó una sobrevivencia de 50 % en la dosis de 200 Gy y una regeneración de 50 % en 60 Gy. Después de conocer la sensibilidad a cada uno de estos factores, se realizó la selección de las líneas tolerantes a salinidad y sequía. Para esto, las líneas provenientes de callos embriogénicos irradiados fueron cultivadas durante ocho semanas en presencia de 150 mM de sal común (NaCl), 5 % (m/v) sorbitol o la combinación de ambos factores. Las líneas regeneradas fueron agrupadas en cuatro categorías de respuesta: 1) líneas muertas –presentaron 0 % de sobrevivencia al cultivo en presencia de los factores–; 2) líneas susceptibles –presentaron porcentajes de sobrevivencia menores al control sin irradiar cultivado en presencia de los factores–; 3) moderadamente tolerantes –mostraron un porcentaje de sobrevivencia mayor que el control, pero menor al 100 %–, y 4) tolerantes –presentaron una sobrevivencia de 100 % al ser cultivadas en presencia de los factores de selección.

Con esto fue posible la selección *in vitro* de líneas tolerantes y medianamente tolerantes a la sequía y salinidad, gracias a la variabilidad generada por la irradiación de callos embriogénicos con rayos gamma; sin embargo, muchos de estos mutantes presentaron problemas durante la aclimatación y otros no mantuvieron sus características de interés en condiciones de invernadero (figura 6).

Figura 6. Producción y selección de mutantes de arroz *in vitro*



Fuente: elaboración propia. Pérez, J. 2020.

Además, en el presente estudio, se desarrolló una metodología de selección aplicada al cultivo *in vitro* de semillas M_0 irradiadas con 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400 y 500 Gy, donde, posterior a la irradiación, se producía el callo embriogénico; sin embargo, la cantidad de líneas tolerantes o medianamente tolerantes seleccionadas fue de 15, obtenidas a partir de la evaluación de 10 000 individuos. Estos materiales, al igual que los producidos por callos, presentaron problemas en la fase de aclimatación.

Esta diferencia en la cantidad de líneas obtenidas entre callos y semillas es debido a que, en el mejoramiento genético no convencional por inducción de mutaciones, la estabilidad de la característica de interés seleccionada será significativamente mayor al utilizar técnicas de cultivo de tejidos, ya que se clonan una o un grupo muy pequeño de células y las divisiones celulares acarreará los genes mutados de forma sucesiva y evitará las quimeras (Bhojwani y Dantu, 2013). Sin embargo, el hallazgo más valioso, con respecto a la irradiación de semillas, fue la identificación de la dosis de 50 Gy como una dosis de radioestimulación, donde se observó un aumento en el peso y tamaño de los tejidos producidos a partir del cultivo *in vitro* de las semillas irradiadas; en callos irradiados, no fue posible observar ninguna dosis que estimulara el crecimiento.

Los resultados del presente estudio permitieron la determinación de la radiosensibilidad de callos embriogénicos de la variedad CR 5272, así como la sensibilidad de

esta variedad a la salinidad y sequía, mientras que la producción de líneas mutantes derivadas de callos embriogénicos irradiados fue evaluada en las condiciones de estrés de sequía y salinidad, utilizando sorbitol y cloruro de sodio. Con esto fue posible la selección *in vitro* de líneas tolerantes y medianamente tolerantes a la sequía y salinidad, gracias a la variabilidad generada por la irradiación de semillas y callos embriogénicos con rayos gamma. Los resultados del presente trabajo muestran el potencial de las técnicas biotecnológicas en el mejoramiento para enfrentar las condiciones de sequía y salinidad, debidas a los efectos del cambio climático, que irán en aumento en los próximos años en Costa Rica y el mundo.

Impacto de la selección de mutantes en Costa Rica

En la actualidad, no se ha logrado impactar directamente en el sector arrocero nacional, ya que se llevan tres años de evaluación de materiales; sin embargo, todas las acciones de mejoramiento que se han desarrollado indican que a corto plazo se estaría seleccionando al menos una variedad con tolerancia a estrés hídrico o salinidad para ser puesta a disposición de los productores nacionales.

Al respecto, y utilizando la irradiación de semillas, se dispone de 8 mutantes promisorios a salinidad y 24 mutantes promisorios a estrés hídrico; estos materiales continúan en proceso de estudio con el fin de valorar su tolerancia a los factores abióticos mencionados.

En donde sí se ha logrado un impacto directo es en la capacitación de investigadores jóvenes en el uso de la técnica de inducción de mutaciones, utilizando rayos gamma y su aplicación en el mejoramiento genético de plantas.

Además, se cuenta con un equipo de trabajo, el cual está vinculado con otras instituciones del país, como la Corporación Arrocera Nacional (Conarroz), el Programa de Investigación y Transferencia de Tecnología en el Cultivo del Arroz (PITTA-Arroz), asociaciones de productores de arroz, el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) e instituciones de educación superior del país.

Conclusión

En Costa Rica, la técnica de mutaciones inducidas, usando agentes físicos como el ^{60}Co , ofrece una herramienta alternativa para producir variabilidad genética en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.), lo que permite, mediante el desarrollo de protocolos específicos, hacer selección tanto *in vivo* como *in vitro* de plantas mutantes tolerantes a factores abióticos como la sequía y la salinidad, problemas que se han acrecentado en el país y en la región, producto de la variabilidad del clima principalmente,

demostrando la importancia y el potencial que esta técnica tiene en programas de mejora genética en el cultivo de arroz.

Referencias

- Abdelnour-Esquivel, A., Perez, J., Rojas, M., Vargas, W., & Gatica-Arias, A. (2020). Use of gamma radiation to induce mutations in rice (*Oryza sativa* L.) and the selection of lines with tolerance to salinity and drought. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 56(1), 88-97. doi: 10.1007/s11627-019-10015-5
- Ahloowalia, B. S. & Maluszynsky, M. (2001). Induced mutations-A new paradigm in plant breeding. *Euphytica*, 118,167-173.
- Bado, S., Forster, B. P., Abdelbagi, G. M., Jankowicz-Cieslak, J., Berthold, G., & Luxiang, L. (2016). Protocols for Pre- Field Screening of Mutants for Salt Tolerance in Rice , Wheat and Barley (Issue 1). International Atomic Energy Agency. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/978-3-319-26590-2>.
- Bhojwani S. S. & Dantu, P. K. (2013). Genetic Engineering. In: *Plant Tissue Culture: An Introductory Text*. India: Springer. doi: 10.1007/978-81-322-1026-9_15.
- Bündig, C., Vu, T. H., Meise, P., Seddig, S., Schum, A. & Winkelmann, T. (2017). Variability in osmotic stress tolerance of starch potato genotypes (*Solanum tuberosum* L.) as revealed by an *in vitro* screening: role of proline, osmotic adjustment and drought response in pot trials. *J Agron Crop Sci* 203: 206-218. doi:10.1111/jac.12186
- Corporación Arrocería Nacional Costa Rica (Conarroz). (2020). Informe Estadístico 2018/2019.Unidad de Inteligencia de Mercados. Recuperado de www.conarroz.com.
- Fernández, A., Madriz, M., Orozco, R., & Arguello, J. (2020). Validación de un sistema hidropónico para la selección de plantas mutantes en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.). *Archivos académicos USFQ*, 27, Pp. 40.
- IRRI. (1996). International Network for Genetic E-valuation of Rice: standard evaluation system for rice. Los Banos: IRRI.
- Maluszynski, M., Szarejko, I., Bhatia, C. R., Nichterlein, K. & Lagoda, P. J. (2009) Methodologies for generating variability. Part 4: Mutation techniques. In: Ceccarelli, Guimaraes y Weltzien, *Plant breeders and farmer participation* (pp: 159-194). Rome: FAO. Retrieved from <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/012/i1070e/i1070e01.pdf>
- Mba C. (2013). Induced Mutation Unleashes the Potentials of Plant Genetic Resources For Food and Agriculture. *Agronomy*, 3, 200-231.
- Montes de Oca, P., Mata, R. & Chaves, M. (1996). Estudios de salinidad en la provincia de Guanacaste (Costa Rica) y caracterización de algunos suelos con influencia salina. *Agronomía Mesoamericana*, 7(2), 77-83.

- Schaart, J. G., van der Wiel, C. C., Lotz, L. A. & Smulders, M. J. (2016). Opportunities for products of new plant breeding techniques. *Trends Plant Sci.*, 21, 438-449. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.11.006>
- Yoshida, S., Forno, D., Cock, J. & Gómez, K. (1976). *Laboratory manual for physiological studies of rice*. 83.

CAPÍTULO 4

CUBA: MEJORAMIENTO GENÉTICO EN CULTIVOS DE IMPORTANCIA ECONÓMICA

María Caridad González Cepero^{1}*

Resumen

Una de las principales problemáticas en Cuba es la insuficiente producción de alimentos, pues los cultivos son afectados por diferentes factores bióticos y abióticos que provocan la reducción de los rendimientos agrícolas, siendo necesario el desarrollo de programas de mejoramiento genético para la obtención de variedades tolerantes a estos factores estresantes. A partir de la década de los setenta, se comenzó a emplear la inducción de mutaciones para generar variabilidad genética en algunos cultivos de importancia económica en Cuba. Entre estos cultivos se encuentra el arroz (*Oryza sativa* L.), el tomate (*Solanum lycopersicum* L.), la caña de azúcar (*Saccharum* spp.), el plátano (*Musa* sp.) y el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivos de gran importancia por su elevado nivel de consumo, así como otros cultivos que, aunque no se encuentran entre los de mayor demanda por la población cubana, poseen gran importancia estratégica como es el caso de la soja (*Glycine max* Merrill), la cual es una importante fuente de proteína vegetal. Asimismo, se han realizado programas de mejora en la flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), la cual tiene importancia desde el punto de vista alimenticio y medicinal. A partir de estos programas de mejora, ha sido posible obtener ocho variedades de arroz que mejoraron diferentes atributos, tales como tolerancia a la salinidad, sequía, resistencia al *Steneotaronemus spinki* Smiley, así como la calidad de los granos. Así mismo, se obtuvieron tres variedades de tomate tolerantes a la sequía, dos variedades de soja de alto potencial productivo, –una de las cuales es tolerante a nemátodos–, tres variedades de flor de Jamaica de alto potencial

¹ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

* Correo electrónico: mcaridad9450@gmail.com

productivo tanto en condiciones de sequía, como con variaciones en ciclo, color de sus flores y frutos; tres variedades de caña de azúcar tolerantes al virus del mosaico de la caña de azúcar (VMCA), y una variedad de plátano de porte bajo. Estos resultados han puesto de manifiesto la factibilidad en el empleo de la inducción de mutaciones en los programas de mejoramiento genético en Cuba y han hecho posible la difusión de las bondades de esta técnica en universidades e instituciones cubanas y foráneas, así como el uso pacífico de las técnicas nucleares y reducir la percepción de riesgo de los productores y población en general sobre el empleo de esta técnica.

Introducción

El incremento de la población mundial no se corresponde con el incremento en la producción de alimentos, ya que las áreas cultivables se reducen y el rendimiento de los cultivos es afectado por diferentes tipos de estrés bióticos y abióticos, que provocan la reducción de los rendimientos agrícolas y, con ellos, la insuficiente producción de alimentos, por lo que es necesario el desarrollo de programas de mejoramiento genético encaminados a la obtención de variedades más productivas.

Antes del siglo xx, las mutaciones espontáneas fueron la fuente de diversidad genética explotada para el mejoramiento de los cultivos; sin embargo, a partir del descubrimiento del efecto modificador de las radiaciones ionizantes sobre los organismos, comenzó una nueva era del empleo de las mutaciones en la mejora genética de los cultivos, siendo de interés para generar variabilidad no existente en el germoplasma disponible.

Se considera que los años sesenta son los que marcaron el establecimiento del mejoramiento por mutaciones como una herramienta útil y poderosa al alcance de los mejoradores de plantas, por su capacidad de alterar el genoma de las células con una frecuencia muchas veces superior a lo que ocurre espontáneamente. Coincidiendo con este auge, en Cuba, a fines de los sesenta, se iniciaron los trabajos para la asimilación de la radiobiología vegetal y el empleo de la radiomutagénesis en el fitomejoramiento, por parte de un grupo de investigadores que comprendieron la utilidad de esta técnica para la agricultura cubana.

Los estudios iniciales estuvieron encaminados a la evaluación de la acción de diferentes tipos de agentes mutagénicos y al estudio de los tipos y la frecuencia de los radiomutantes que se presentaban en varios cultivos (Castillo, 1881; Cornide y Kotvics, 1974; Isidrón, 1977; Pérez *et al.*, 1984). Este trabajo culmina con la publicación de la tabla cubana de radiosensibilidad (Pérez y Labrada, 1988), en la que se introduce una forma novedosa de presentar la radiosensibilidad de las variedades,

y con la que se demostró la influencia de las condiciones climáticas de Cuba sobre la radiosensibilidad de los cultivos.

En la década de los ochenta, se incorporan estas técnicas a los programas de mejoramiento genético de un grupo de instituciones cubanas (INIFAT, INIVIT, INICA, CENIC, IIA e INCA).

En el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), se inician trabajos investigativos con el empleo de la inducción de mutaciones, con el objetivo de obtener nuevas variedades de arroz (*Oryza sativa* L.), tolerantes a la salinidad y/o sequía (González, 1993); incorporándose, posteriormente, otros cultivos, como el tomate (*Solanum lycopersicum* L.), para la obtención de mutantes tolerantes a bajos suministros de agua y fertilizantes; la soja (*Glycine max* Merrill), para obtener variedades cubanas de alto potencial productivo, así como en *Hibiscus sabdariffa* L. —comúnmente conocido en nuestro país y en otros países de América Latina como flor de Jamaica—, la cual tiene importancia desde el punto de vista alimenticio y medicinal. A partir de los resultados de estos programas de mejoramiento, otras instituciones del país han ido incorporando la inducción de mutaciones a los programas de mejoramiento genético de varios cultivos y se ha incrementado la valoración positiva de esta técnica.

Mejora por mutaciones en arroz (*Oryza sativa* L.)

El arroz (*Oryza sativa* L.) es el alimento básico de más de la mitad de la población del mundo. A nivel mundial, este cultivo ocupa el segundo lugar después del trigo con respecto a la superficie cosechada, pero el arroz proporciona más calorías por hectárea que otros cereales cultivados (Acevedo *et al.*, 2006).

En Cuba, el arroz es el cereal de mayor consumo, con 52 kilogramos per cápita; sin embargo, a pesar de existir condiciones adecuadas para su producción, no se satisface la demanda de tan preciado grano, observándose una reducción sustancial en los rendimientos por el efecto de diferentes factores bióticos y abióticos, lo que hace necesario desarrollar programas de mejoramiento genético encaminados a la obtención de variedades tolerantes a estos factores.

La inducción de mutaciones *in vivo* e *in vitro* fue una herramienta que se incorporó, en la década de los ochenta, a los programas de mejoramiento genético del arroz en Cuba, para generar variabilidad genética en el cultivo del arroz empleando diferentes tipos de agentes mutagénicos —rayos gamma de ^{60}Co , neutrones rápidos y protones— y utilizando la selección *in vitro*.

El Instituto de Investigaciones del Arroz (IIA), en colaboración con el Centro de Estudios Aplicados al Desarrollo Nuclear (CEADEN), desarrolló un programa de

mejoramiento genético, irradiando semillas de la variedad J-104 con neutrones rápidos y radiaciones gamma de ^{60}Co , para obtener variedades con mejor calidad de grano. A partir de estas investigaciones, se obtuvieron los mutantes IACuba 21, IACuba 22, IACuba 23, IACuba 27 e IACuba 28 (Suárez *et al.*, 2000). Asimismo, el Instituto de Investigaciones Agropecuarias “Jorge Dimitrov” (IIAJD), en colaboración con investigadores del Instituto Nacional de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT), desarrolló un programa de mejoramiento genético a partir de la variedad J-112, de muy buenas características agronómicas pero susceptible a la salinidad sódica, para obtener radiomutantes con tolerancia a la salinidad de los suelos del valle del Cauto, en la provincia Granma, donde se cultiva más de 40 % del arroz que se produce en Cuba (González, 1996; González y Pérez, 1997).

En el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), se desarrolló un programa de mejoramiento genético mediante el empleo de técnicas biotecnológicas y nucleares para obtener nuevas variedades de arroz tolerantes a la salinidad y la sequía, a partir de las variedades de arroz Amistad-82 y la J-104 y se lograron obtener tres variedades de arroz (INCA LP-7, INCA LP-10 y Gines LP-18).

Las variedades INCA LP-7 a INCA LP-10 se obtuvieron a partir del cultivo *in vitro* de semillas de la variedad de arroz Amistad-82 (González, 1993), destacándose la variedad INCA LP-7, por su tolerancia a la salinidad y la resistencia al ácaro blanco (*Steneotarsonemus spinki Smiley*), la cual llegó a ocupar alrededor de 30 % el área arrocera nacional (González *et al.*, 2002).

La variedad Gines LP-18 fue obtenida a partir de la irradiación de semillas de la variedad J-104, con protones y su posterior cultivo *in vitro*, siendo el primer mutante de arroz obtenido a partir de la irradiación con protones (González *et al.*, 2009). Esta variedad se destaca por su alto potencial productivo (7.5-8.0 T.ha) y su excelente calidad de grano, incrementándose cada año las áreas sembradas con esta variedad por la alta demanda de los productores. Asimismo, se cuenta con un grupo de líneas mutantes avanzadas tolerantes a la sequía (González y Martínez, 2016) y se han obtenido las variedades Guillemar LP-19 (Cristo *et al.*, 2014) y José LP-20 (Cristo *et al.*, 2015), de alto potencial productivo en condiciones de bajos suministros de agua, a partir de cruzamientos realizados con mutantes.

Mejora por mutaciones en tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

El tomate (*Solanum Lycopersicum* L.) es la hortaliza de mayor importancia a nivel mundial, debido a su elevada demanda por sus cualidades gustativas y variadas formas de consumo. Sus frutos presentan alto contenido de compuestos antioxidantes –licopeno, β caroteno, vitaminas A, C y E– y metabolitos secundarios de gran importancia para prevenir diferentes tipos de enfermedades (Bergougnoux, 2014).

En Cuba, el cultivo del tomate constituye una prioridad por ser la hortaliza de mayor consumo tanto de forma fresca como en conservas; sin embargo, la producción de tan preciada hortaliza no satisface la demanda de la población por los bajos rendimientos que se obtienen debido al efecto de factores bióticos y abióticos, por lo que varias instituciones del país han trabajado en la obtención de nuevas variedades, empleando la hibridación como principal método de mejora.

En la década de los setenta, se iniciaron estudios básicos para la mejora genética mediante inducción de mutaciones en tomate (Cornide y Kotvics, 1974); sin embargo, los primeros mutantes de tomate se obtuvieron a partir de un programa de mejoramiento genético desarrollado en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), como parte del proyecto Cub/5/016 y los proyectos regionales RLA5056, RLA5063 y RLA5068 (González *et al.*, 2007).

Los mutantes de tomate fueron obtenidos a partir de la irradiación de semillas de las variedades cubanas Amalia e INCA 9-1 con radiaciones de 300 y 500 Gy de rayos gamma de ^{60}Co para generar variabilidad genética (González, 2008). La selección se realizó durante cinco ciclos en condiciones de bajos suministros de agua y fertilizantes, y se generaron variaciones en el porte de la planta, ciclo, número de frutos por planta, tamaño de los frutos y el rendimiento. Se empleó la selección participativa de variedades en las líneas mutantes avanzadas para garantizar la rápida introducción de las variedades en áreas de producción (figura 1).

Se registraron los mutantes Maybel, Magine y Domi, los que mostraron alto potencial productivo en condiciones de bajos suministros de agua y fertilizantes, así como buena calidad para su empleo en el industria (González *et al.*, 2009; 2010).

Figura 1. *Selección participativa de mutantes de tomate*



Fuente: archivo de los autores.

Mejora por mutaciones en caña de azúcar (*Saccharum* spp.)

La caña de azúcar es un cultivo ampliamente extendido en el mundo; sin embargo, debido a su complejidad genética, los trabajos de mejoramiento genético no han tenido el nivel de desarrollo de otros cultivos, siendo la hibridación el método de mejora más empleado.

En Cuba, la caña de azúcar es uno de los cultivos de mayor importancia económica, ya que constituye la materia prima de la agroindustria azucarera nacional.

En la década del setenta se iniciaron estudios evaluando la radiosensibilidad de la especie *Saccharum* ssp. (Anderes, 1974) y se establecieron los aspectos metodológicos básicos para la aplicación de la radiomutagénesis en la agricultura cañera; posteriormente, se desarrolló un programa de mejoramiento, a partir de la variedad C236-51, la cual era susceptible al virus del mosaico de la caña de azúcar. Producto del trabajo realizado, se obtuvieron 5 radiomutantes que mantenían las buenas condiciones agromorfológicas del progenitor, pero mostraban tolerancia al virus del mosaico de la caña de azúcar (VMCA).

Asimismo, se ha empleado el cultivo de tejidos y la selección *in vitro* para la obtención de mutantes tolerantes a enfermedades y a la salinidad. Korneva y Maribona (1984) obtuvieron mutantes tolerantes a la salinidad a partir de la variedad C 87-51; Ramos Leal *et al.* (1991 y 1996) obtuvieron mutantes tolerantes a la enfermedad mancha de ojo (*Drechslera sacchari*), y Héctor E. F. (1995) logró mutantes tolerantes al carbón de la caña de azúcar (*Ustilago scitaminea* Syd.).

Mejora por mutaciones en plátano (*Musa* sp.)

Los plátanos y bananos (*Musa* sp.) se encuentran entre los principales cultivos en los países tropicales y subtropicales de alta presión demográfica. En Cuba, el plátano vian-da (AAB) constituye un cultivo de gran importancia para el programa alimentario nacional, debido a su capacidad de producir durante todos los meses del año, así como por el hábito de consumo de nuestra población y la diversidad de usos; sin embargo, se hace difícil la mejora genética por métodos convencionales, gracias a su partenocarpia, esterilidad, poliploidía y su sistema de propagación, siendo necesario abordar alternativas complementarias como la inducción de mutaciones (Novak *et al.*, 1990; Roux, 2004).

En el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), se desarrolló un programa de mejoramiento genético mediante inducción de mutaciones con el objetivo de obtener cultivares de porte bajo, ya que nuestro país es afectado sistemáticamente por tormentas tropicales y huracanes que destruyen totalmente las planta-

ciones, para lo cual se irradiaron con rayos gamma de ^{60}Co ápices meristemáticos del cultivar Zanzíbar (AAB) cultivados *in vitro*.

Se realizaron subcultivos sucesivos hasta la generación M_1V_4 , a partir de la cual los brotes fueron enraizados y se llevaron a la fase de aclimatización y, posteriormente, a campo.

Se realizaron evaluaciones de campo durante tres ciclos y fue posible seleccionar el mutante INIVIT PV 06 30 de bajo porte, ahijamiento ordenado y alto potencial productivo a partir de ápices meristemáticos irradiados con 45 Gy (Ventura *et al.*, 2015).

Mejora por mutaciones en soja (*Glycine max Merril*)

La soja ocupa una posición privilegiada, siendo uno de los diez cultivos de mayor importancia económica a nivel mundial, ya que es la fuente más importante de concentrados y aceite vegetal. Como leguminosa, es capaz de fijar biológicamente el nitrógeno atmosférico y, por lo tanto, depende mucho menos de los fertilizantes nitrogenados sintéticos que la mayor parte de los cultivos (FAO-Embrapa, 1995).

El cultivo de la soja se conoce en Cuba desde 1904, pero no es hasta el período 1968-1972 que se realizan los primeros estudios en condiciones de producción; sin embargo, aún no se ha logrado establecer a gran escala, la siembra de esta valiosa leguminosa.

En el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), se inició un programa de mejora por mutaciones en soja en el marco del proyecto nacional Cub/5/016 “Mejora por mutaciones en cultivos tropicales”, financiado por el OIEA.

En dicho programa, se irradiaron semillas de la variedad INCASoy-15 con rayos gamma de ^{60}Co , y después de varios ciclos de selección en condiciones de campo, se identificaron dos mutantes de soja, a partir de la irradiación de semillas con 240 Gy de radiaciones gamma de ^{60}Co (INCASoy-35 e INCASoy-36).

La variedad INCASoy-35 se caracteriza por su alto potencial productivo, mientras que la INCASoy-36 se adapta a siembras de verano e invierno y puede utilizarse en primavera. Puede alcanzar rendimientos de 3.5-4.0 T.ha⁻¹ de granos en siembras de verano y primavera. Tolerancia a las principales plagas y enfermedades y, en especial, resiste el ataque de nematodos *Meloidogyne incognita* (Ortiz *et al.*, 2005; 2008).

Asimismo, se encuentran en fase de registro dos líneas mutantes avanzadas de ciclo corto (85 días) y alto potencial productivo, obtenidas a partir de la irradiación de las variedades vietnamitas DT-96 y DT-22 con rayos gamma de ^{60}Co . Una de las líneas es de grano blanco y la otra de grano negro, mientras que las variedades parentales tienen granos de color crema (figura 2).

Figura 2. Variaciones en el color de los granos en soya a partir de la irradiación con rayos gamma de ^{60}Co (200 Gy)



Fuente: archivo de los autores.

Mejora por mutaciones en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) se considera como la segunda fuente de proteína en África oriental y meridional, y la cuarta en América, y la fuente principal de proteínas para la mayoría de la población rural y urbana de escasos recursos en Centroamérica y el Caribe (Rosas *et al.*, 2000).

El frijol resulta un alimento de gran importancia económica en Cuba (Faure *et al.*, 2013), debido al gran hábito de consumo del mismo; sin embargo, su producción es seriamente afectada por disímiles factores bióticos y abióticos que influyen negativamente en su rendimiento, siendo necesaria la obtención de variedades tolerantes a estos factores.

En Cuba, generalmente, se evalúan colecciones introducidas de instituciones foráneas y se seleccionan las líneas de mejor comportamiento en nuestras condiciones (Rodríguez *et al.*, 2009), pero en la década de los setenta se realizaron los primeros estudios del efecto de las radiaciones ionizantes en genotipos de frijol común (Isidró, 1977; Pérez *et al.*, 1983) y, posteriormente, se inició un programa

de mejora por mutaciones en frijol en el INIFAT, empleando las variedades ICA Pijao y BAT-93, con el objetivo de obtener mutantes con tolerancia a la bacteriosis común, la roya y al virus del mosaico dorado, enfermedades que limita el cultivo de esta especie en Cuba.

A partir de este programa de mejora, se lograron seleccionar las líneas mutantes de color negro INIFAT RM-158 e INIFAT RM-147 y el mutante de color blanco INIFAT RM 93-1 con tolerancia a la bacteriosis y la roya. La INIFAT RM-158 mostraba, además, tolerancia al virus del mosaico dorado.

En el 2011, se inició, en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) y el Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP), un programa de mejoramiento genético por mutaciones en frijol para la tolerancia a las altas temperaturas y la sequía en soja, con el apoyo del OIEA, mediante el contrato de investigación del OIEA 16510.

Para incrementar la variabilidad genética se irradiaron semillas y callos de la variedad de frijol BAT-93 con rayos gamma de ^{60}Co y se generó una amplia variabilidad genética relacionada con el tamaño y forma de los granos, así como el color de flores y granos. Se realizó la selección *in vitro* y la selección en condiciones de campo durante tres generaciones, a partir de los cuales se ha obtenido un grupo de líneas avanzadas que muestran tolerancia a las altas temperaturas y a bajos suministros de agua, las cuales han variado el color de sus granos, ya que la variedad donante (BAT-93) tiene granos de color crema y se han obtenido mutantes de color blanco, rojo y negro (figura 3), por lo que se espera poder extender la fecha de siembra e incrementar la producción de tan preciado grano con el empleo de mutantes tolerantes a las altas temperaturas y/o bajos de agua.

Figura 3. *Variaciones en el color y forma de los granos a partir de semillas y callos de la variedad de frijol BAT-93 con rayos gamma de ^{60}Co*



Fuente: archivo de los autores.

Mejora por mutaciones en flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)

La flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), conocida también como roselle, serení, sorrel, etc., es un arbusto anual de la familia de las malváceas, fotoperiódica de días cortos. Sus cálices se emplean en la elaboración de refrescos, infusiones, confituras y vinos; sus semillas se pueden utilizar como alimento animal y sus tallos se pueden utilizar para la elaboración de fibras.

El cáliz constituye una de las partes más valoradas de la planta, desde el punto de vista comercial, y es rico en ácidos y péptidos. Entre los pigmentos presentes en los cálices, se destacan los flavonoides y antocianinas. Los flavonoides hibiscitrina, gosi-pitrina y sabdaretrina son característicos de la flor de Jamaica (Badreldin *et al.*, 2005). Asimismo, posee un alto contenido de vitamina C, nueve veces más que el naranjo dulce (*Citrus sinensis* L.) (Ismail *et al.*, 2008).

Las infusiones de los cálices se emplean para el tratamiento de algunas enfermedades por sus propiedades medicinales: diurética, hipotensiva, sedativa, astringente, digestiva, emoliente, antioxidante, acidificante, antibacteriana, antiedema, antiinflamatoria, antitóxica y antitumoral (Galicia-Flores *et al.* 2007; Oliviera *et al.*, 2008).




Se considera que la propagación de esta en América fue a partir de las semillas que los esclavos africanos traían consigo; en la actualidad, está distribuida extensamente en zonas tropicales y subtropicales de ambos hemisferios.

En Cuba, se inició un programa de mejoramiento genético mediante inducción de mutaciones a partir de la variedad mexicana Yerzy, con el objetivo de obtener variedades cubanas de flor de Jamaica de alto potencial productivo insensibles al fotoperíodo, para lo cual, semillas de la variedad Yerzy se irradiaron con rayos gamma de ^{60}Co , empleando dosis de 0 a 700 Gy.

La germinación de la semilla se afectó totalmente a partir de los 400 Gy y se observó una amplia variabilidad en cuanto a la altura de la planta, ciclo, color de flores y frutos en las dosis de 100 a 350 Gy.

Después de tres ciclos de selección y validación en áreas de productores, se lograron obtener las primeras tres variedades cubanas de flor de Jamaica (tabla 1) de alta productividad, una de las cuales (Ana Delia) difiere de la variedad donante en cuanto al tamaño de sus frutos, color de flores y frutos, rendimiento y ciclo (González, 2011). El mutante Dogo es menos sensible al fotoperíodo, por lo que permite alargar el período de cosecha y posee un alto potencial productivo (González, 2015). El mutante Benito es de ciclo más corto y de mayor potencial productivo que la variedad donante (González, 2015).

Tabla 1. *Primeras variedades cubanas de flor de Jamaica registradas y sus principales características*

Variedad		Dosis (Gy)	Principales características
Ana Delia		250	Flores rosadas, frutos rojo vino oscuro, ciclo más largo y rendimiento cáliz fresco 2.5 kg/planta.
Dogo		100	Flores rosadas, frutos rojo-vino, ciclo de 120 días y rendimiento cáliz fresco 2.6 kg/planta.
Benito		150	Flores rosadas, frutos rojo-vino, ciclo de 110 días y rendimiento cáliz fresco 2.4 kg/planta.

Fuente: elaboración propia.

A partir de los diferentes programas de mejora, empleando la inducción de mutaciones para incrementar la variabilidad genética, se ha logrado registrar un grupo de variedades de diferentes especies de importancia económica en Cuba (tabla 2) y se continúa el desarrollo de estos programas, incorporándose otros cultivos como la papa (*Solanum tuberosum*), cítrico (*Citrus* sp.), garbanzo (*Cicer arietinum*), maní (*Arachis hypogaea*) y el maíz (*Zea mays*), por lo que el empleo de la inducción de mutaciones como método de mejora en Cuba ha contribuido a incrementar la producción de alimentos, y se prevé un mayor impacto a corto y mediano plazo.

Tabla 2. *Mutantes obtenidos en Cuba y registrados en la base de datos del OIEA (2020)*

Cultivo	Cantidad	Mutación
Caña de azúcar	3	Resistencia a enfermedades.
Arroz	8	-Tolerancia a la sequía, salinidad -Calidad de grano -Resistencia al <i>S. spinki Smiley</i> -Incremento del rendimiento agrícola e industrial
Tomate	3	-Tolerancia a bajos suministros de agua y fertilizantes -Incremento del rendimiento agrícola e industrial
Flor de Jamaica	3	-Insensibilidad al fotoperíodo -Incremento del rendimiento -Variaciones en el tamaño, forma y color de los frutos
Plátano	1	-Reducción de la altura de la planta
Soya	2	-Incremento del rendimiento -Resistencia al <i>Melodogine incógnita</i>

Fuente: elaboración propia. Pérez, J. 2020.

Conclusiones

Se ha demostrado la efectividad del empleo de la inducción de mutaciones *in vivo* e *in vitro* en los programas de mejoramiento genético del arroz, tomate, soja, frijol, caña de azúcar, plátano e *Hibiscus sabdariffa* L. en Cuba, lográndose la obtención de nuevas variedades tolerantes a diferentes tipos de estrés bióticos y abióticos, además de incrementar la producción de alimentos.

La selección participativa de mutantes ha contribuido a acelerar la introducción de las nuevas variedades mutantes en condiciones de producción, así como a mejorar la percepción de las bondades de esta técnica por parte de los productores.

Se logran por primera vez mutantes de *Hibiscus sabdariffa* L., a partir de la irradiación de semillas con rayos gamma de ^{60}Co , y también un mutante de arroz, a partir de la irradiación de semillas con protones y su posterior cultivo *in vitro*.

Referencias

- ACEVEDO, M.; Castrillo, W. y Belmonte, U. (2006). Origen, evolución y diversidad del arroz. *Agronomía Tropical*, 56(2), 151-170.
- BADRELDIN, A. H., Wabel, A. N. & Blunden, G. (2005). Phytochemical, Pharmacological and Toxicological Aspec of *Hibiscus sabdariffa* L.: A review. *Phyther. Res.*, 19, 369-375.
- ANDERES, M. (1973). Informe preliminar de los estudios de inducción de mutaciones con fuentes gamma de ^{60}Co en la caña de azúcar en Cuba. La Habana. ACC. Instituto de Investigaciones Tropicales. Serie Agrícola, 25, 1-6
- CASTILLO, A. (1981). El mejoramiento del arroz mediante el uso de mutaciones. *Centro Agrícola*, 8(3), 91-103.
- CRISTO, E., González, M. C. & Pérez, N. (2014). Guillemar LP-19. New rice cultivar tolerant to low water and fertilizer supplies for Cuban conditions. *Cultivos Tropicales*, 35(1), 85.
- CRISTO, E., González, M. C. & Pérez, N. (2015). José LP-20 rice cultivar tolerant to low water and fertilizer supplies. *Cultivos Tropicales*, 36(2), 90.
- CORNIDE, M. T. y Kotvics, G. (1974): Inducción de mutaciones en el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Rev. CENIC. Serie Ciencias Biológicas*, 5(1): 107-118.
- FAURE, B., Benítez, R., León, N., Chaveco, O. y Rodríguez, O. (2013). Guía técnica para el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Cuba: Editora Agroecológica.
- IAEA (2015). IAEA mutant database. Vienna: International Atomic Energy Agency; [accessed July 2020]. Available from: <http://mvd.iaea.org/>
- GALICIA, L. A., Salinas, I., Espiniza, B. N. y Sánchez, C. (2008). Caracterización físico-química y actividad antioxidante de extractos de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. *Rev. Chapingo Serie Horticultura*, 14, 121-129.
- GONZÁLEZ, M. C. (1993). *Uso de la variación somaclonal en el mejoramiento genético para la tolerancia a la salinidad en el cultivo del arroz (Oryza sativa L.)* (Tesis de doctorado). Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Depto. de Genética y Mejoramiento de las Plantas.
- GONZÁLEZ, M. C. (2008). Selection and Characterization of Tomato Mutans Tolerant to Low Water Supply. *Plant Mutation Report*, 2(9.1), 26-29.

- GONZÁLEZ, M. C. (2011). Ana Delia, mutante de flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) obtenido en Cuba mediante el empleo de inducción de mutaciones con rayos gamma de ^{60}Co . *Cultivos Tropicales*, 32(4), 27.
- GONZÁLEZ, M. C. (2015a). Dogo, nuevo cultivar cubano de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*, L.) obtenido por inducción de mutaciones con rayos gamma ^{60}Co . *Cultivos Tropicales*, 36(4), 133.
- GONZÁLEZ, M. C. (2015b). Benito, nuevo mutante de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*, L.) de alto potencial productivo en condiciones de bajos suministros de agua. *Cultivos Tropicales*, 36 (no. especial), 130.
- GONZÁLEZ M. C. y Martínez, A. (2016). Selección de mutantes de arroz de buen comportamiento agronómico en condiciones de bajo suministro de agua. *Cultivos Tropicales*, 37(1), 102-109.
- GONZÁLEZ, M. C., Mukandama, J. P., Trujillo, D., Fuentes, J. L., Altane, S., Márquez R. y Sevillano E. (2007). Nuevos mutantes de tomate para uso industrial tolerantes a bajos insumos hídricos. *Cultivos Tropicales*, 28(3), 89-90.
- GONZÁLEZ, M. C., Cristo, E., Pérez, N. y Delgado P. (2002). INCA LP-7. Nueva variedad de arroz para suelos afectados por la salinidad. *Cultivos Tropicales*, 23(3), 89.
- GONZÁLEZ M. C., Cristo, E. y Pérez N. (2009). Gines: primer mutante de arroz obtenido a partir de la irradiación con protones. *Cultivos Tropicales*, 30(3), 59.
- GONZÁLEZ NÚÑEZ, L. M. y Pérez Talavera, S. (1997). Mejoramiento genético en arroz para la tolerancia a la salinidad a través de la radioinducción de mutaciones. *Nucleus*, 23, 2-7
- GONZÁLEZ, M.C., Mukandama, J. P., Alí, M. M. y Trujillo, D. (2009). Maybel: primera variedad de tomate para uso industrial y tolerante a bajos suministros de agua obtenida en Cuba mediante la inducción de mutaciones. *Cultivos Tropicales*, 30(4), 38.
- GONZÁLEZ, M.C., Mukandama, J. P., Alí, M. M. y Trujillo, D. (2010). DOMI: mutante de tomate de doble propósito obtenido mediante la inducción de mutaciones con rayos gamma de ^{60}Co . *Cultivos Tropicales*, 31(1), 86.
- GONZÁLEZ NÚÑEZ, L. M. (1996). *Uso de la radio inducción de mutaciones en la obtención de genotipos de arroz tolerantes a la salinidad* (Tesis de doctorado en Ciencias Agrícolas). INIFAT. Ciudad de La Habana, Cuba.
- HÉCTOR, E. F. (1995). La resistencia *in vitro* de carbón (*Ustilago scitaminea* Syd.) y su aplicación en el mejoramiento genético de la caña de azúcar (*Sacharum* spp.) (Tesis de doctorado en Ciencias Agrícolas). Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar.
- ISMAIL, A., Hainida, M. & Saadiah, H. (2008). Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seeds nutritional composition, protein quality and health benefits. *Food*, 2, 1-16.

- ISIDRÓN, M. (1977). Inducción de mutaciones en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) (Tesis de doctorado en Ciencias Agrícolas). Universidad de La Habana, Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- KORNEVA, S. y Maribona, R. H. (1984). *Salt resistant sugarcane somaclones*. Checoslovaquia: Proc. Intern. Symposium of Plant Cell and Tissue Culture.
- NOVAK, F., Azfa, R., Van Duren, M. & Omar, M. (1990). Mutation induction by Gamma irradiation of *in vitro* cultured shoot-tips of bananas and plantains (Musa cvs.). *Tropical Agriculture*, 67, 21-28.
- OLIVIERA, V., Castaño, E., Rezendiz, R. I., Reynoso, R. & González, E. (2008). *Hibiscus sabdariffa* L. extracts inhibit the mutagenicity in microsuspension assay and the proliferation of HeLa cells. *Toxicol. Chem. Safety*, 73, 75-81.
- ORTIZ, R., Fe, C. de la y Ponce M. (2005). INCASOY-35. Primera variedad de soya obtenida en Cuba a partir del empleo de técnicas de irradiación de rayos gamma de ⁶⁰Co. *Cultivos Tropicales*, 26(2), 57.
- ORTIZ, R.; Fe, C. de la y Ponce M. (2008). INCASOY-36 Variedad de soya obtenida en Cuba a partir de la inducción de mutaciones con los rayos gamma de ⁶⁰Co. *Cultivos Tropicales*, 29(3), 73.
- PÉREZ TALAVERA, S., Labrada, A. y González, M. (1983). Dosis semiletal de irradiación gamma para diferentes variedades de frijoles cultivadas en Cuba. *Cienc. Agr.*, 15, 127-128
- PÉREZ TALAVERA, S., Labrada, A. y Hernández, L. (1984). Radiosensibilidad de cultivos cubanos de pimiento. *Cienc. Agr.*, 19, 122-124.
- PÉREZ TALAVERA, S. y Labrada, L. (1988). Valores de GR₅₀ para especies vegetales de interés agrícola en Cuba. *Cienc. Agr.*, 33, 146-149.
- RAMOS, M., Maribona, R. H., Ruiz, A., Korneva, S. Canales, E., Dinkova, T. D., Izquierdo, F., Coto, O. & Rizo D. (1996). Somaclonal variation as a source of resistance to eyespot disease of sugarcane. *Plant Breeding*, 115(1), 37-42.
- RODRÍGUEZ, M. O., Chaveco, O., Ortiz, R., Ponce, M., Ríos, H., Miranda, S., Días, G., Portelle, Y., Torres, R. y Cedeño, L. (2009). Evaluación del comportamiento de líneas de XVI frijol común (*Phaseolus vulgaris*) resistentes a la sequía; en condiciones de riego y sin riego e incidencia de enfermedades. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 13(39), 19-30.
- ROSAS, J. C., Castro, A., Beaver, J. S., Pérez, C. A., Morales, A. y Lepiz, R. (2000). Mejoramiento genético para tolerancia altas temperaturas y resistencia a mosaico dorado en frijol común. *Agronomía Mesoamericana*, 11(1), 01-10.

- ROUX, N. (2004). Mutation induction in Musa-Review. In: M. Jain & R. Swennen (Eds.), *Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology and Induced Mutations* (pp. 22-32). USA: Science Publishers, Inc.
- SUÁREZ, E., Deus, J. E., Pérez, R., Alfonso, R., Hernández, R., Avila, J., Hernández, J. L., Puldón, V., Duany, A., Reinoso, J., Mesa, H. y Rodríguez, S. (2000). Mejoramiento genético del arroz (*Oryza sativa* L.) mediante inducción de mutaciones. *Revista Cubana del arroz*, 2(3).
- VENTURA, J.C.; López Torres, J.; Rodríguez, S.; Medero, V.; González, L.; Ventura, V.; Reinaldo, D.; Torres, M.; Montano, N.; Gálvez, J.R.; Valdés, M. y Triana O. 2015. Obtención de mutantes de porte bajo por irradiaciones en el cultivar 'zanzíbar' (*musa spp*, grupo aab) Rev. Agricultura Tropical, vol. 1 no. 1, 39-50, RNPS: 2397

CAPÍTULO 5

ECUADOR: FITOMEJORAMIENTO DE CULTIVOS DE SEGURIDAD ALIMENTARIA, CEBADA Y PAPA

Javier Garófalo,^{1} Luis Ponce-Molina,¹ Patricio Noroña,¹
Diego Campaña,¹ Xavier Cuesta,² Jorge Rivadeneira,²
Cecilia Monteros,² Marcelo Racine,²
Jorge Coronel,³ Carlos Jiménez³*

Resumen

La cebada y la papa tienen una amplia adaptación ecológica en el callejón interandino de la Sierra ecuatoriana, y son considerados como productos de seguridad alimentaria, debido a su importancia social y económica, y ser la principal fuente de carbohidratos para la población. En las zonas de producción, estos cultivos presentan problemas a factores bióticos –enfermedades– y abióticos –clima y suelo–, por ende, la importancia del mejoramiento genético de plantas. La inducción de mutaciones ha permitido mejorar características puntuales en variedades de amplia adaptación. El INIAP ha incluido dentro de sus métodos de mejoramiento el uso de las mutaciones inducidas como alternativa para generar variación genética para el desarrollo de nuevas variedades. El trabajo realizado en la Estación Experimental Santa Catalina ha permitido generar germoplasma de cebada y papa con características de tolerancia a factores abióticos y bióticos. Este documento describe los esfuerzos realizados por el INIAP para la generación de variedades a través del uso de mutaciones inducidas.

¹ Programa de Cereales, Estación Experimental Santa Catalina, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP-Ecuador).

* javier.garofalo@iniap.gob.ec

² Programa de Raíces y Tubérculos, Estación Experimental Santa Catalina, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP-Ecuador)

³ Programa de Cereales, Estación Experimental Santa Catalina, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP-Ecuador)

Introducción

El 26 de octubre de 1956, las Naciones Unidas decidieron establecer una entidad que se dedique al fomento de la investigación y aplicación de las ciencias y la tecnología nuclear para fines pacíficos. Ecuador, por medio de sus delegados, se adhirió a esta decisión y ha formado parte del Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA). En los años cincuenta, se establece la Comisión Ecuatoriana de Energía Atómica (CEEA), encargada de realizar investigaciones en áreas como entomología, suelos, genética, medicina veterinaria y la conservación de alimentos (Larrea, 1986; OIEA, 2018).

Uno de los primeros proyectos de investigación agrícola en que participó el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), mediante la Estación Experimental Santa Catalina (EESC), fue Uso Eficiente del Agua y de Fertilizantes para tres Variedades de Trigo, en el período comprendido entre 1979 y 1984. Posteriormente, el INIAP participó en proyectos tales como “Efectos de Radiación de Gamma sobre la Conservación de los Tubérculos”, “Determinación de la Lámina Óptima de Agua en Riego por Surcos, en papa (*Solanum tuberosum*)” y “Efecto de la Humedad del Suelo y de la Radiación Gamma sobre Conservación de Tubérculos de Papa (*Solanum tuberosum*)” (Larrea, 1986)

Durante los años 2006 y 2010, el INIAP ejecutó el proyecto nacional ECU/5/023 Inducing Mutations in Agriculture with the Aid of Radiation, con el objetivo de obtener variabilidad genética en germoplasma de maíz, papa y cebada con potencial para ser usado en programas de mejoramiento. De 2016 a 2019, Ecuador, por medio del INIAP, participó en el proyecto ARCAL RLA/5/068 Improving Yield and Commercial Potential of Crops of Economic Importance (ARCAL CL).

La cebada (*Hordeum vulgare* L.) es el cuarto cereal más cultivado a nivel mundial después del trigo, maíz y arroz (FAO, 2018). La razón de su importancia se debe a su amplia adaptación ecológica y a su diversidad de aplicaciones (Canal, 2012). Adicionalmente, su importancia social y económica se basa en su diversificado uso para el consumo humano y bebidas de malta. En el período comprendido entre 2010-2017, a nivel mundial, se cosecharon 48.5 millones de hectáreas en promedio (FAOSTAT, 2020) (Ponce-Molina *et al.*, 2020).

En Ecuador, después del maíz, la cebada es el cereal de más amplia distribución en la Sierra ecuatoriana, difundido ampliamente entre los 2400 y 3500 msnm. en el callejón interandino (Falconi *et al.*, 2013). El área potencial es de 200 mil hectáreas para su cultivo (Ponce-Molina *et al.*, 2020). Según las estadísticas del INEC-ESPAC, en 2018, la superficie dedicada al cultivo de cebada fue de 10 124 hectáreas, distribuidas entre las 10 provincias de la sierra, con una producción anual de 13 674 toneladas, mientras que las importaciones anuales superan las 66 mil toneladas. Cerca de

10 mil familias cultivan y dependen de este cereal. Uno de los principales problemas para la cebada es aquellos relacionados a factores bióticos –enfermedades– y abióticos –condiciones climáticas y de suelo.

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es uno de los cultivos alimenticios más importantes del mundo, después del arroz, trigo y maíz, en términos de consumo humano (Zhang *et al.*, 2017). Más de mil millones de personas en todo el mundo consumen papas, y la producción mundial del cultivo superó los 368 millones de toneladas en 2018 (FAO, 2020). En Ecuador, la producción nacional de papa, en 2018, fue de 26 9201 toneladas, cultivadas en 23 974 hectáreas, con un rendimiento promedio de 16.28 t ha⁻¹ (INEC, 2019).

El cultivo de papa se ve afectado por factores bióticos –plagas y enfermedades– y abióticos –sequía, bajas temperaturas, calor, entre otros– que afectan la producción y calidad (Al-Safadi y Arabi, 2003; Gabriel *et al.*, 2018). Una de las principales enfermedades que afecta al cultivo es *Phytophthora infestans*, causada por un oomicete, esta enfermedad puede causar pérdidas en el rendimiento superiores a 70 % (Sedláková *et al.*, 2011; Fry *et al.*, 2015; Lenman *et al.*, 2015). La mayoría de las variedades de papas cultivadas en Ecuador son susceptibles a tizón tardío, en las cuales realizan hasta 23 aplicaciones en variedades susceptibles como superchola (Unda *et al.*, 2013).

El INIAP encargado de la generación, desarrollo y adaptación de tecnologías agropecuarias en Ecuador, desde su creación en 1959, ha entregado alrededor de 40 variedades mejoradas de cebada y papa para los productores ecuatorianos. Para el desarrollo de nuevos materiales, el INIAP emplea métodos de mejoramiento convencionales –cruzamientos y retrocruzamientos–, así como la introducción de germoplasma foráneo y la generación de variabilidad empleando mutaciones inducidas. Las mutaciones inducidas son la principal técnica de mejoramiento usada para generar nueva variabilidad genética en especies de variabilidad estrecha o en especies exóticas adaptadas a condiciones específicas como es el caso de la cebada en Ecuador.

Inducción de mutaciones en cebada

En 2007, dentro del esquema de mejoramiento mediante la inducción de mutaciones en el cultivo de cebada, inició la determinación de la DL₅₀ –pruebas de dosimetría–, considerando que la semilla es el material preferido para la irradiación. El objetivo fue determinar la dosis óptima de irradiación para inducir y generar mutaciones deseables en semillas de dos variedades de cebada; para ello, se evaluó el porcentaje de germinación, altura y vigor de plántulas, en laboratorio y campo.

La irradiación de la semilla se realizó por medio de rayos gamma de una fuente de ⁶⁰Co de un irradiador categoría I –irradiador básico, seguro y autoblandado–. El equipo

utilizado pertenece a la Subsecretaría de Control y Aplicaciones Nucleares (SCAN) del Ministerio de Energía y Recursos Naturales No Renovables (MERNNR).

Los materiales de cebada que se utilizaron para la inducción de mutaciones fueron: la variedad mejorada de dos hileras (díptica) INIAP-Cañicapa 2003, de grano cubierto; y la variedad criolla de seis hileras (hexástica) Rita Pelada, de grano desnudo. La semilla empleada fue de alta calidad tanto física como biológica, con porcentajes de germinación superiores a 90 % y con 12 % de humedad.

Para determinar la dosis letal media (DL_{50}), se utilizaron cinco dosis: n1: 0 Gy (testigo); n2: 100 Gy; n3: 150 Gy; n4: 200 Gy, y n5: 250 Gy. Tomando como base la calibración de $14.13 \text{ Gy min}^{-1}$ del irradiador, los tiempos de irradiación variaron dependiendo de la dosis; para 100 Gy, se utilizó 7.08 minutos, 150 Gy: 10.62 minutos, 200 Gy: 14.15 minutos y 250 Gy: 17.69 minutos. La DL_{50} se implementó con base en 10 tratamientos –dos variedades y cinco dosis de irradiación–, y cada uno conformado por 80 gramos de semilla para la irradiación.

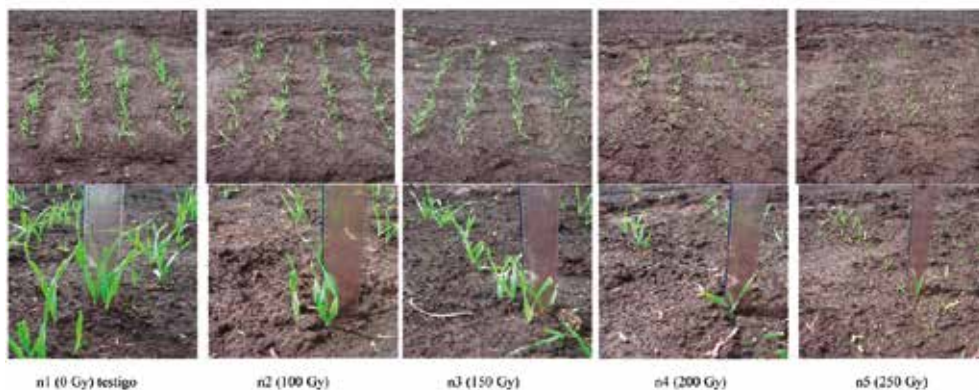
Las determinaciones de la DL_{50} se llevaron a cabo, durante 2007, en dos fases: en laboratorio y en campo. En laboratorio, la prueba de germinación se realizó en una cámara de germinación, con cuatro repeticiones, para lo cual en papel secante húmedo se colocaron 100 semillas por cada tratamiento, se dejó a una humedad de 90 % y temperatura de 22 °C. A los 8 días, se determinó el porcentaje de germinación. En campo, en camas de 1.50 m x 5 m; y se implementó el ensayo, sembrando 50 semillas por tratamiento, con cuatro repeticiones. A los 11 días posteriores a la siembra, se determinó el porcentaje de germinación y se contabilizó el número de semillas germinadas. La altura de plántula expresada en centímetros se determinó a los 19 días. De igual manera, se evaluó, por tratamiento, el vigor de las plántulas, para lo cual se usó la escala: MB= muy bueno, B= bueno, R= regular y M= malo.

En los resultados de laboratorio, para porcentaje de germinación, se observaron diferencias altamente significativas entre variedades, diferencias significativas entre dosis y ninguna significación estadística para la interacción variedades por dosis. El coeficiente de variación fue de 0.48 % con un promedio general de 82.2 %, con un coeficiente de variación de 0.48 %. INIAP-Cañicapa 2003 presentó 89.6 % y Rita pelada con 74.9 %, indicándonos que las variedades respondieron de diferente manera con los dosis de irradiación. La prueba Tukey a 5 % para dosis de irradiación determinó un solo rango de significación estadística, con porcentajes de germinación de 88.8 % (n1), 81.5 % (n2), 82.5 % (n3), 79.0 % (n4) y 79.5 % (n5).

En los resultados de campo para porcentaje de emergencia, se observaron diferencias altamente significativas para variedades, dosis y para la interacción variedades por dosis. El coeficiente de variación fue de 0.79 %, con un promedio general de

53.8 %. La alta significancia estadística para variedades y dosis indica que el porcentaje de emergencia no se expresó igual en las variedades, influyendo posiblemente dosis de irradiación. La prueba de Tukey a 5 % para dosis determinó tres rangos de significación estadística, ubicándose en el primer rango las dosis 0, 100 y 150 Gy con valores promedios entre 58.5 y 68.0 %, y en el tercer rango la dosis de 250 Gy con 33.8 % de porcentaje de emergencia. En la variable altura de planta, se observó que en las dosis de 200 y 250 Gy existió una reducción de 50 % de la altura, en comparación con el testigo que presentó un valor promedio de 14.5 cm; de igual manera se observaron diferencias en el vigor de planta, con excelente vigor para el testigo, y mal vigor para las dosis de 200 y 250 Gy (Figura 1).

Figura 1. *Altura de plántula de dos variedades de cebada en pruebas de DL_{50} EESC, 2007.*



Fuente: Programa Cereales, INIAP, 2007.

Con base en los resultados obtenidos, se determinó que la dosis letal media (DL_{50}) se encuentra entre las dosis de 100 y 150 Gy, que provocaron daños menores en las plantas, con ligeras diferencias fenotípicas, comparadas con el testigo, tanto en porcentaje de germinación como en altura y vigor, para las dos variedades.

Determinada la dosis óptima de 150 Gy, se irradió alrededor de 150 mil semillas de alta calidad, obteniendo la población M_1 , la cual se sembró en campo a una baja densidad, 75 kg ha^{-1} , con el objetivo de obtener plantas espaciadas unas de otras. Durante el ciclo del cultivo, se pudieron observar plantas que presentaron mutaciones clorofílicas, como plantas albinas, xanthas, clorinas, entre otras; además, se observaron plantas con cambios morfológicos en características fenotípicas, como tipo de espiga y altura de planta. Al momento de la cosecha, se seleccionó la espiga del brote principal de

cada planta que presentaba ciertas características fenotípicas y morfológicas deseables, como menor altura de planta, plantas erectas y vigorosas y espigas bien formadas y vigorosas. Las poblaciones M_2 a la M_6 se manejaron con métodos de selección masal (M_5 y M_6), individual (M_2 , M_3) y/o pedigree y mixta, o combinada (M_4). El método de selección dependió de la homogeneidad de las poblaciones mutantes.

En 2017, la población M_4 de cebada, conformada por 12 líneas, se la evaluó bajo diferentes épocas y dosis de cal en un suelo andisol ácido, con el objetivo de identificar líneas M_4 con tolerancia a la acidez. Las dosis de cal fueron: 1.5, 3.0, 4.5, 6.0, 9.0, 12.0, 15.0 y 18.0 t ha⁻¹. El experimento se implementó bajo un Diseño de Parcela Dividida (DPD) con tres repeticiones, en el cual la parcela grande corresponde al factor dosis de cal y las parcelas pequeñas a las épocas. El tamaño de la parcela grande fue de 90 m² y el de la parcela pequeña de 30 m².

En la variable porcentaje de emergencia, se observó que en las dosis más bajas de cal –mayor acidez– eran más bajos los valores de porcentaje de emergencia, 25 a 28 %. Para la variable altura de planta, se observó que en los niveles más altos de cal se registraron los valores altos de altura de planta, entre 85 y 95 cm. En cambio, para el rendimiento de grano, se observó que en las dosis más altas de cal se produjeron los mayores rendimientos. Con estos resultados, en forma general, se observó una clara influencia del encalado en las variables evaluadas, por lo que se logró tener información importante del comportamiento de las líneas en diferentes niveles de acidez. De las 12 líneas evaluadas, se seleccionaron tres líneas, que presentaron rendimientos entre los 1.2 a 1.5 t ha⁻¹ en suelos de pH 4.5, en comparación con líneas que no pudieron sobrevivir al mismo pH.

En 2018, con las 12 líneas mutantes de cebada M_5 , se evaluó el comportamiento agronómico y reacción a enfermedades, con el objetivo de identificar al menos una línea mutante que presentara alto rendimiento, calidad y resistencia a las principales enfermedades del cultivo –royas, escaldadura y virus–. El experimento se implementó bajo un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA), con tres repeticiones. La unidad experimental fue una parcela de 3.6 m² (3.0 m x 1.2 m).

Con base en los resultados obtenidos, se seleccionaron tres líneas mutantes de cebada: las líneas S-2, S-10 y S-12, por presentar alto rendimiento y peso hectolítrico. Estos materiales formaron parte de los ensayos en el ciclo 2019.

Tabla 1. Promedio de variables agronómicas y reacción a enfermedades de líneas mutantes de cebada evaluadas en un ensayo de rendimiento (ER1). EESC, 2018

Línea	Pedigree	t ha ⁻¹	Peso hectolítico (kg hl ⁻¹)	Tipo de grano ^b	P. striiformis (%)		P. hordei (%)	BYD (0-9) ²	R. secalis (%)
					Hoja	Espiga			
S-1	INIAP CAÑICAPA 2003	4.2	61.7	**	40 S	0	10 R	1	6-5
S-2	Cañicapa 150 Gy	4.6	63.8	**	40 S	0	TR	3	5-4
	E-CMU-10-001-3E-0E-0E								
S-3	Cañicapa 150 Gy	4.1	61.5	**	50 S	0	10 R	2	6-5
	E-CMU-10-001-6E-0E-0E								
S-4	Cañicapa 250 Gy	4.0	62.2	**	40 S	0	5 R	2	5-4
	E-CMU-10-002-2E-0E-0E								
S-5	Cañicapa 250 Gy	4.0	61.0	**	50 S	0	15 MR	2	5-4
	E-CMU-10-002-4E-0E-0E								
S-6	Cañicapa 250 Gy	4.1	60.4	**	50 S	0	10 R	1	5-5
	E-CMU-10-002-7E-0E-0E								
S-7	Cañicapa 250 Gy	3.6	57.8	**	70 S	0	10 R	2	7-5
	E-CMU-10-002-8E-0E-0E								
S-8	INIAP CAÑICAPA 2003	3.9	61.3	**	40 S	0	5 R	1	5-4
S-9	RITA PELADA	2.4	70.9	*	15 MR	0	40 S	2	5-4
S-10	Rita Pelada 150 Gy	5.1	58.8	*	15MR	0	50S	2	4-3
	E-CMU-10-003-1E-0E-0E								

(Continúa)

(Continuación)

S-11	Rita Pelada 150 Gy	3.9	56.1	*	20MS	0	40S	2	4-3
	E-CMU-10-003-4E-0E-0E								
S-12	Rita Pelada 150 Gy	4.2	55.3	*	10R	3	50S	2	4-3
	E-CMU-10-003-5E-0E-0E								
S-13	Rita Pelada 150 Gy	4.1	57.1	*	10R	0	50S	2	5-4
	E-CMU-10-003-6E-0E-0E								
S-14	Rita Pelada 150 Gy	5.1	56.5	*	15MR	0	60S	2	6-4
	E-CMU-10-003-7E-0E-0E								
S-15	RITA PELLADA	1.8	69.8	*	10R	0	50S	1	5-4
Promedio		3.9	61.0		32.8	0.2	25.9	1.8	5.1-4.1
Coeficiente Variación (%)		14.8	2.6						
P valor ^a		<0,0001**	<0,0001**						
DMS (p<0.05)		1.0	2.7						

^aNivel de significancia 5 %: (¶¶**) altamente significativo, (¶*) significativo, (n.s.) no significativo.

^bTipo de grano: (**) Grano muy bueno, redondo y blanco; (*+) Grano bueno, redondo y amarillo; (*) Grano bueno, largo y trilla bien.

¹Tipo de reacción: (R) resistente, (MR) medianamente resistente, (MS) medianamente susceptible, (S) susceptible.

²Escala de evaluación de BYDV: (0) trazas de amarillamiento, (5) amarillamiento extenso, (9) enanismo severo.

Fuente: Programa Cereales, INIAP, 2018.

En la Tabla 1, se observa alta significancia estadística para las variables de rendimiento y peso hectolítrico. El promedio general del ensayo fue 3.9 t ha⁻¹ (rendimiento) y 61.0 kg hl⁻¹ (peso hectolitrito). Las mejores líneas para la variable de rendimiento fueron: S-14, S-10 y S-2, con valores superiores al promedio general del ensayo. Para peso hectolítrico, las líneas S-9-, S-15 y S-2 presentaron los mejores resultados. En general, el tipo de grano de las líneas evaluadas fue muy bueno. Asimismo, se observaron la severidad y tipo de reacción de las líneas mutantes evaluadas frente a las principales enfermedades que afectan al cultivo. Las enfermedades de mayor incidencia fueron: roya amarilla, roya de la hoja y escaldadura, con promedios de 32.8, 25.9 y 5.1 % de severidad, respectivamente.

Durante 2019, se evaluaron las tres líneas mutantes de cebada en ensayos multiamiente, en tres localidades de las provincias de Pichicha y Tungurahua, con el objetivo de seleccionar una línea que presente alto rendimiento, calidad y resistencia a las principales enfermedades. El ensayo estuvo conformado por tres materiales mutantes de cebada y dos testigos progenitores (INIAP-Cañicapa 2003 y Rita pelada). El ensayo de investigación se implementó en tres localidades –Pedro Moncayo, Mejía y Pelileo –ubicadas en dos provincias de la Sierra ecuatoriana –Pichincha y Tungurahua–. Los experimentos se implementaron bajo un Diseño de Bloques Completos Al azar (DBCA), con tres repeticiones. La unidad experimental fue una parcela de 3.6 m² (3.0 m x 1.2 m).

En el Anova para rendimiento, se observó alta significancia para líneas y ninguna significancia para localidades y para la interacción localidad por material. El promedio de 2.69 t ha⁻¹, con un coeficiente de variación de 24.1 %. Para la variable peso hectolítrico, se observó alta significancia estadística para localidades y líneas, y significancia estadística para la interacción localidad por material; con un promedio de 62.5 kg hl⁻¹ y un coeficiente de variación de 2.24 %. Los materiales presentaron un promedio de rendimiento similar de 2.68 t ha⁻¹ en las tres localidades. Para el factor localidades, se observaron dos rangos de significancia estadística, ubicándose, en el primer rango, las localidades de Tungurahua y Tabacundo; mientras que en el segundo rango se ubicó la localidad EESC.

En la tabla 2, para la variable rendimiento, se observa que el material CMU-19-002, presentó el mayor valor con 3.12 t ha⁻¹, mientras que el valor más bajo fue para el progenitor Rita Pelada con 1.98 t ha⁻¹. Por otra parte, en la variable peso hectolítrico, el valor más alto fue para el material Rita Pelada, con 70.47 kg hl⁻¹. El promedio general de vigor fue de 1 (bueno), hábito de crecimiento 2 (semierecto), altura de planta de 108 cm y tipo de paja 1 (bueno). En lo referente a reacción a enfermedades, se observó que la mayor severidad se observó en *Puccinia striiformis*, con un valor promedio de 26 %, seguido por *Puccinia hordei*, con 13 %. Para el resto de enfermedades, se observaron valores bajos de incidencia.

Tabla 2. Promedio de variables agronómicas y severidad a enfermedades de líneas mutantes de cebada en ensayos multi-ambientes, 2019

Línea	Pedigree	Rendimiento t ha ⁻¹	Peso hectolitrico (kg hl ⁻¹)	Vigor	Hábito	Altura planta (cm)	Tipo paja	P. striiformis (%)		P. hordei (%)	BYDV (0-9) ²	R. secalis (%)
								Hoja	Espiga			
CMU-19-001	Cañicapa 150 Gy	2.93 ab	62.63 b	1	2	108	1	25	10	13	1	5-5
	E-CMU-10-001- 3E-0E-0E-0E											
CMU-19-002	Cañicapa 250 Gy	3.12 a	61.2 b	1	2	110	1	28	11	11	1	5-5
	E-CMU-10-002- 2E-0E-0E-0E											
CMU-19-003	Rita Pelada 150 Gy	2.4 bc	56.84 c	1	1	109	2	23	9	13	1	4-5
	E-CMU-10-003- 5E-0E-0E-0E											
INIAP-CAÑICAPA 2003		3.01 ab	61.37 b	1	2	112	1	27	5	8	1	5-5
RITA PELADA		1.98 c	70.47 a	2	2	102	3	26	5	21	2	5-5
PROMEDIO		2.69	62.50	1	2	108	1	26	8	13	1	5-5

* Promedios con diferente letra son estadísticamente diferentes ($P > 0.05$)

Fuente: Programa Cereales, INIAP, 2019.

A la par de las evaluaciones agronómicas y reacción a enfermedades, se realizó la evaluación participativa de los materiales mutantes de cebada. La línea con mayor aceptación y seleccionada por parte de los agricultores fue la CMU-19-003, seguido por el material parental INIAP-Cañicapa 2003. El material parental Rita Pelada fue la de menor aceptación. El principal criterio de selección por parte de los agricultores fue el tipo de grano y altura de planta.

Inducción de mutaciones en papa

La generación de mutantes se realizó a partir de plántulas de papa de la variedad superchola (*Solanum tuberosum*) cultivadas *in vitro*; se obtuvieron explantes de yemas apicales y axilares que fueron colocadas en 20 cajas Petri con agua desionizada estéril; cada caja Petri contenía 50 explantes, en total fueron 500 explantes provenientes de yemas axilares y 500 explantes de yemas apicales. El proceso de irradiación se efectuó con una fuente de ^{60}Co perteneciente al Departamento de Ciencias Nucleares de la Escuela Politécnica Nacional. Los explantes fueron sometidos a la dosis óptima determinada de 35 Gy para los explantes de yemas apicales y 30 Gy para los explantes de yemas axilares. Posteriormente, los explantes irradiados seleccionados se colocaron en un medio básico de cultivo Murashige & Skoog (M&S). Se realizaron tres micropropagaciones sucesivas cada 45 días. Los mutantes sólidos provenientes de yemas axilares y apicales identificados fueron sembrados en frascos de vidrio de un diámetro de 10 cm con medio básico de cultivo M&S. Cada frasco contenía 5 cortes de yemas, separados de 2 a 3 cm entre cortes. Las condiciones de crecimiento *in vitro* fueron de 24 °C, 16 horas de luz. Cuando las plántulas presentaron entre 3 a 4 hojas completamente desarrolladas se efectuó la inoculación.

Para las inoculaciones de *Phytophthora infestans*, se utilizó un aislamiento de una raza compleja con 11 genes R de *P. infestans* obtenida en la Estación Experimental Santa Catalina de la provincia de Pichincha. La activación, multiplicación, preparación y aplicación del inóculo de *P. infestans* se realizaron de acuerdo con la metodología establecida por Gamboa *et al.* (2019).

Para la selección *in vitro*, los mutantes sólidos se inocularon con una suspensión de 0.5×10^4 zoosporas/ml de inóculo de *P. infestans*. Después de 8 días, las plantas fueron evaluadas para *P. infestans*. Para la evaluación de los mutantes *in vitro* a *P. infestans*, se utilizó la escala utilizada por Huang *et al.* (2005), donde: 1 = lesión extendida con una esporulación masiva; 2 = poca extensión de la lesión o poca esporulación; 3 = lesión sin extensión con poca esporulación; 4 = lesión sin extensión, rastros de necrosis, sin esporulación; 5 = sin síntomas

En campo se evaluaron 116 plantas mutantes que presentaron resistencia a tizón tardío en condiciones de laboratorio. Se utilizaron 5 variedades testigo INIAP-Santa Catalina, INIAP-Fripapa como resistentes e INIAP-Gabriela, superchola y uvilla como susceptibles a *P. infestans*. El diseño experimental utilizado fue látices parcialmente balanceado 11x11 con tres repeticiones. Se utilizó la prueba de Tukey al 5 % para los tratamientos que presentaron diferencias estadísticas. Las variables evaluadas fueron severidad a tizón tardío, expresada en valores de área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE) y rendimiento en kilogramos por planta (RP) (Cuesta *et al.* 2015). La severidad a *P. infestans* se evaluó cada 7 días; en total, se realizaron 12 lecturas.

Como resultados, los individuos seleccionados como mutantes sólidos correspondieron al 75 % originados de yemas apicales (1 319 mutantes), mientras 25 % fueron deformes (434 mutantes) y 69 % seleccionados de yemas axilares (2145 mutantes) con 31 % de deformes (976 mutantes). En total, se generaron 3 464 mutantes sólidos y 1 410 mutantes deformes. Las yemas apicales y axilares provenientes de superchola *in vitro* irradiadas con fuente ⁶⁰Co generaron una población de mutantes sólidos. Bado *et al.* (2016) mencionan que este método de cultivos *in vitro* de papa irradiados con una fuente de ⁶⁰Co es una alternativa eficaz para generar variación genética.

En la reacción a *Phytophthora infestans* de mutantes *in vitro*, se evaluaron 1 319 mutantes sólidos a *P. infestans in vitro* provenientes de yemas apicales. Dentro del grupo, se identificó que 38 % presentaron una respuesta de resistencia a *P. infestans*, ubicándose en la escala 4 y 5, con 316 y 182 mutantes respectivamente, mientras 62 % de los mutantes mostraron una reacción de susceptibilidad, posicionándose en la escala 1 y 2, con 451 y 370 mutantes. Los mutantes sólidos provenientes de yemas axilares evaluados fueron 2 145, de los cuales 20 % mostraron una respuesta de resistencia a *P. infestans*, localizándose en la escala 4 y 5, con 179 y 261 mutantes respectivamente, mientras 80 % de las yemas axilares mostraron susceptibilidad, ubicándose en la escala 1 y 2 con 1044 y 1482 mutantes respectivamente. En total, se evaluaron 3 464 mutantes sólidos, provenientes de yemas apicales y axilares, solo 27.08 % (938 mutantes) presentaron resistencia a *P. infestans*. Gosal *et al.* (2001), en su evaluación *in vitro* de mutantes provenientes de dos variedades, presentaron valores similares con 42 y 36 % de mutantes con resistencia a *P. infestans*, mientras Al-Safadi *et al.* (2003) en su evaluación *in vitro* a *P. infestans* en mutantes provenientes de tres variedades, obtuvieron menos de 5 % de mutantes con resistencia a tizón tardío.

El análisis de la varianza para ABCPE y RP estableció diferencias significativas a 1 % de probabilidad. El promedio general fue de 3 261.31 y 0.60 para ABCPE y kg planta⁻¹, respectivamente. El coeficiente de variación para ABCPE fue de 15.92 % y 45.60 % para rendimiento por planta (tabla 3).

Tabla 3. ANOVA para ABCPE y RP en la evaluación de mutantes con resistencia a *P. infestans* en la variedad Superchola, EESC, Pichincha

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	
		ABCPE	RP
Total	362	-	-
Repetición	2	5.82 ^{ns}	38.96 ^{ns}
Mutantes	120	2.51 ^{**}	2.10 ^{**}
Bloque ajustado	10	2.01 ^{**}	4.59 ^{**}
Bloque a	132	2.52 ^{**}	2.84 ^{**}
Error	230		
CV (%)		15.92	45.60
PG		0.60	3261.31

** Significativa al 1 %; ^{ns} no significativo; CV = coeficiente de variación; PG = promedio general; ABCPE = área bajo la curva de progreso de la enfermedad; RP = rendimiento por planta

Al realizar la prueba de Tukey al 5 % para ABCPE se detectaron 8 rangos, las variedades INIAP-Santa Catalina, INIAP-Fripapa y los mutantes m67, m92, m39 que se ubicaron en los primeros tres rangos con valores menores a 2 536.25 unidades de ABCPE, mientras el mutante m75 se ubicó en el último rango con 4 829.52 unidades de ABCPE (tabla 4). Los tres mutantes (m67, m92, m39) mostraron la mejor respuesta a *P. infestans* lo que representan 2.59 % de los mutantes evaluados (116 mutantes). Kowalski y Cassells (1999) obtuvieron un porcentaje mayor de mutantes con resistencia a tizón tardío (7 %), provenientes de una variedad comercial. Dentro de las variedades testigo, superchola y uvilla fueron los más susceptibles a *P. infestans* con valores de 3 716.86 y 4 237.14 unidades de ABCPE respectivamente. Existió variación en la respuesta de los mutantes a *P. infestans*; sin embargo, no se encontraron mutantes con mayor resistencia a la mostrada por la variedad testigo INIAP-Santa Catalina.

Tabla 4. Promedio y prueba de Tukey al 5 % para ABCPE, RP (kg planta⁻¹) en materiales mutantes y variedades testigo de papa. EESC, Pichincha

Genotipos	ABCPE	RP	Genotipos	ABCPE	RP	Genotipos	ABCPE	RP
I-Sta. Catalina	1638.88a	1.09 ab	m32	3084.74 a-g	0.57 abc	m116	3401.96 b-h	0.38 abc
I-Fripapa	2304.69 ab	0.72 abc	m63	3086.54 a-g	0.63 abc	m70	3404.18 b-h	0.52 abc
m67	2373.31 abc	0.70 abc	m107	3089.55 a-g	0.50 abc	m1	3436.73 b-h	0.72 abc
m92	2522.07 a-d	0.73 abc	m52	3097.66 a-g	0.32 abc	m74	3443.41 b-h	0.72 abc
m39	2536.24 a-d	1.02 abc	m103	3110.44 a-g	0.56 abc	m35	3450.19 b-h	0.70 abc
m57	2583.76 a-e	0.30 abc	m110	3113.40 a-g	0.73 abc	m51	3466.42 b-h	0.85 abc
m113	2610.05 a-f	1.00 abc	m16	3117.79 a-g	0.50 abc	m104	3479.71 b-h	0.60 abc
m25	2626.14 a-f	0.82 abc	m86	3132.67 a-g	0.72 abc	m80	3501.92 b-h	0.52 abc
m8	2661.35 a-f	0.45 abc	m41	3141.97 a-g	0.58 abc	m17	3508.03 b-h	0.37 abc
m58	2692.00 a-f	0.82 abc	m81	3148.38 a-h	0.27 bc	m56	3510.17 b-h	0.78 abc
m117	2709.69 a-f	0.27 bc	m47	3148.99 a-h	0.90 abc	m53	3531.11 b-h	0.53 abc
m77	2716.60 a-f	0.40 abc	m96	3171.58 a-h	0.79 abc	m48	3568.36 b-h	0.78 abc
m11	2723.96 a-f	0.72 abc	m4	3176.69 a-h	0.57 abc	m15	3569.84 b-h	0.28 abc
m89	2736.12 a-f	1.05 abc	m38	3178.65 a-h	0.30 abc	m98	3631.96 b-h	0.63 abc
m112	2757.30 a-f	0.82 abc	m65	3200.22 a-h	1.15 a	m105	3642.09 b-h	0.52 abc
m49	2757.30 a-f	1.12 ab	m30	3200.61 a-h	0.42 abc	m40	3654.79 b-h	0.97 abc
m13	2778.92 a-f	0.81 abc	m62	3201.52 a-h	0.62 abc	m19	3703.32 b-h	0.32 abc

m111	2790.44 a-f	0.55 abc	m12	3226.16 a-h	0.47 abc	m85	3712.00 b-h	0.37 abc
m43	2798.96 a-f	0.62 abc	m9	3229.18 a-h	0.47 abc	m109	3716.49 b-h	0.28 abc
m55	2806.70 a-f	1.03 abc	I-Gabriela	3235.66 a-h	0.30 abc	Superchola	3716.86 b-h	0.85 abc
m120	2809.37 a-f	0.65 abc	m26	3248.74 a-h	0.78 abc	m6	3717.94 b-h	0.58 abc
m73	2814.27 a-f	0.75 abc	m66	3252.00 a-h	0.70 abc	m28	3731.48 b-h	0.41 abc
m7	2830.67 a-f	0.80 abc	m45	3260.23 a-h	0.98 abc	m95	3749.01 b-h	0.75 abc
m100	2885.27 a-f	0.37 abc	m64	3263.34 a-h	0.78 abc	m68	3761.29 b-h	0.38 abc
m82	2889.57 a-f	0.60 abc	m44	3263.46 a-h	0.60 abc	m106	3762.99 b-h	0.63 abc
m83	2915.43 a-f	0.65 abc	m37	3275.50 a-h	0.22 c	m76	3778.66 b-h	0.47 abc
m46	2933.25 a-f	0.77 abc	m36	3286.74 a-h	0.47 abc	m18	3780.87 b-h	0.27 bc
m23	2939.61 a-f	0.70 abc	m34	3298.76 a-h	0.60 abc	m31	3837.26 b-h	0.90 abc
m10	2942.65 a-f	0.72 abc	m2	3299.64 a-h	0.62 abc	m60	3899.86 b-h	0.33 abc
m94	2963.57 a-f	0.45 abc	m72	3304.09 a-h	0.68 abc	m115	3965.68 b-h	0.23 c
m22	2985.89 a-f	0.50 abc	m119	3321.96 b-h	0.50 abc	m69	3972.43 b-h	0.20 c
m79	2992.32 a-f	0.49 abc	m21	3326.85 b-h	0.67 abc	m33	4001.49 c-h	0.67 abc
m97	3000.48 a-f	0.80 abc	m24	3335.11 b-h	0.20 c	m121	4067.44 d-h	0.26 bc
m59	3022.15 a-f	0.80 abc	m42	3349.73 b-h	1.15 a	m108	4103.35 d-h	0.35 abc
m71	3024.59 a-f	0.38 abc	m61	3363.10 b-h	0.73 abc	m88	4154.72 d-h	0.25 bc
m5	3032.32 a-f	0.39 abc	m14	3364.03 b-h	0.40 abc	Uvilla	4237.14 e-h	0.40 abc

(Continúa)

(Continuación)

m29	3036.12 a-f	0.38 abc	m20	3375.94 b-h	0.63 abc	m93	4286.72 fgh	0.77 abc
m91	3041.42 a-g	0.77 abc	m27	3380.96 b-h	0.53 abc	m114	4723.74 gh	0.33 abc
m87	3049.65 a-g	0.72 abc	m101	3382.33 b-h	0.68 abc	m75	4829.52 h	0.47 abc
m54	3061.45 a-g	0.63 abc	m90	3393.50 b-h	0.32 abc			
m3	3074.96 a-g	0.45 abc	m50	3400.01 b-h	0.60 abc			

¹Letras diferentes indican diferencias estadísticas según Tukey al 5 %; RP = rendimiento por planta; ABCPE = área bajo la curva de progreso de la enfermedad; I= INIAP.

Fuente: Programa de papa, INIAP, 2019.

En la prueba de Tukey a 5 % para rendimiento por planta, se establecieron 3 rangos; los mutantes m42 y m65 se ubicaron en el primero con 1.15 kg planta⁻¹. La variedad INIAP-Santa Catalina y el mutante m49 se ubicaron en el segundo con rendimientos entre 1.09 y 1.12 kg⁻¹ planta, respectivamente, mientras los mutantes m115, m37, m69 y m24 se encontraron en el último rango con rendimientos inferiores a 0.24 kg planta⁻¹. Las variedades susceptibles superchola, uvilla e INIAP-Gabriela presentaron rendimientos de 0.85, 0.40 y 0.30 kg planta⁻¹, respectivamente (tabla 4). Los mutantes m42, m65 y m49, al comparar el rendimiento con superchola –variedad que provienen los mutantes–, presentaron un incremento en el rendimiento entre 24.11 y 26.09 %. Resultados similares los obtuvo Salomón *et al.* (2017), al evaluar mutantes provenientes de una variedad irradiada con fuente ⁶⁰Co (30Gy), presentaron un incremento de 43.86 % del rendimiento por planta comparado con la variedad de origen de los mutantes. Se observó variación en el rendimiento en comparación con las variedades resistentes y susceptibles; se identificaron mutantes con potencialidad para seguir sus evaluaciones dentro del esquema de mejoramiento.

Conclusiones

El uso de radiación con fuente de ⁶⁰Co es una técnica válida para el mejoramiento genético de cebada y papa, porque permite generar variación genética en la búsqueda de resistencia a factores bióticos y abióticos, así como la obtención de individuos con características deseables de productividad y calidad.

Referencias

- AL-SAFADI, B. y Arabi, M. (2003). *In vitro* induction, isolation and selection of potato mutants resistant to late blight. *J. Genet & Breed*, 57, 364-359.
- BADO, S., Rafiri, M. A., El-Achouri, K., Sapey, E., Nielen, S., Ghanim, A. M. A., Forster, B. P., & Laimer, M. (2016). *In vitro* methods for mutation induction in potato (*Solanum tuberosum* L.). *African Journal of Biotechnology*, 15(39), 2132-2145
- CANAL, G. (2012). *Análisis de la variabilidad genotípica de cebada cervecera en rendimiento, porcentaje de proteína y calibre en distintos ambientes* (Tesis de especialidad en Cultivos de Granos). Buenos Aires, Argentina.
- CUESTA, X., Rivadeneira, R. & Monteros, C. (2015). *Mejoramiento genético de papa: conceptos, procedimientos, metodologías y protocolos*. Quito, Ecuador: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.
- FALCONÍ, E., Garófalo, J., Llangarí, P. y Espinoza, M. (2013). El cultivo de cebada: guía para la producción de semilla de calidad. Boletín Divulgativo N° 390. INIAP-Ecuador.
- FAO. (2020). FAOSTAT Statistics Database 2018. Recuperado de <http://www.fao.org/faostat/en/#data>
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION [FAO] International Atomic Energy Agency [IAEA]. (2020). *Mutant Varieties Data base*. Recuperado de <https://mvd.iaea.org/#!Home>
- GAMBOA, S., Perez, W., Andrade-Piedra, J. & Forbes, G. (2019). Laboratory manual for *Phytophthora infestans* work at CIP. Lima, Perú: International Potato Center.
- GABRIEL, J., Ruiz, I. & Cuesta, X. (2018). Ampliando la frontera agrícola de la papa (*Solanum tuberosum* L.) para disminuir los efectos del cambio climático. *Universidad y Sociedades*, 10(1):46-51. Recuperado de <http://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus>
- GOSAL, S. S., Das, A., Gopal, J., Minocha, J. L., Chopra, H. R., & Dhaliwal, H. S. (2001). *In vitro* induction of variability through radiation for late blight resistance and heat tolerance in potato (IAEA-TECDOC--1227). International Atomic Energy Agency (IAEA).
- HUANG, S., Vleeshouwers, V., Visser, R. & Jacobsen, E. (2005). An accurate in vitro assay for high-throughput disease testing of *Phytophthora infestans* in potato. *Plant Dis.*, 89,1263-1267.
- INSITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y CENSOS (INEC). (2019). Encuesta y superficie y producción agropecuaria continua. Recuperado de <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/>
- KOWALSKI, B. & Cassells, A. (1999). Mutation breeding for yield and *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary folia resistance in potato (*Solanum tuberosum* L.:

- cv Golden Wonder) using computerized image analysis in selection. *Potato Research*, 42,121-130.
- FRY, W., Birch, P., Judelson, H., Grünwald, N., Danies, G., Everts, K., Gevens, A., Gugino, B., Johnson, D., Johnson, S. *et al.* (2015). Five reasons to consider *Phytophthora infestans* a Reemerging Pathogen. *Phytopathology*, 105, 966-981.
- LARREA, E. (1986). *Aplicaciones pacíficas de la energía nuclear en el Ecuador. Perspectivas de desarrollo* [Informe académico, Instituto de Altos Estudios Nacionales]. Recuperado de <http://repositorio.iaen.edu.ec/handle/24000/4203>
- LENMAN, M., Ali, A., Mühlenbock, P., Carlson-Nilsson, U., Liljeroth, E., Champouret, N., Vleeshouwers, V. & Andreasson, E. (2015). Effector-driven marker development and cloning of resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato breeding clone SW93-1015. *Theor Appl Genet*, 129, 105-115. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2613>
- ORGANISMO INTERNACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA (OIEA). (2018). *Historia OIEA* [Text]. IAEA. Recuperado de <https://www.iaea.org/es/el-oiea/historia>
- PONCE-MOLINA, L., Noroña, P., Campaña, D., Garófalo, J., Coronel, J., Jiménez, C. & Cruz, E. (2020). La cebada (*Hordeum vulgare* L.): generalidades y variedades mejoradas para la sierra ecuatoriana. Quito, Ecuador: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.
- SEDLÁKOVÁ, V., Dejmalová, J., Hausvater, E., Sedlák, P., Doležal, P. & Mazaková, J. (2011). Effect of *Phytophthora infestans* on potato yield in dependence on variety characteristics and fungicide control. *Plant, Soil and Environment*, 57,486-491.
- UNDA, J., Suquillo, J., Sevillano, C., Pumisacho, M., Ochoa, J. & Barrera, V. (2013). Diagnóstico del manejo de Tizón tardío en la provincia del Carchi, Ecuador. Riobamba, Ecuador: V Congreso Ecuatoriano de la papa.
- SALOMÓN, J., González, M., Castillo, J. & Varela, M. (2017). Comportamiento de “Barna”, cultivar de papa (*Solanum tuberosum* L.) ante diferentes dosis de rayos gamma de Fuente cobalto 60. *Cultivos Tropicales*, 38(4),127-130.
- ZHANG, S., Zheng, X., Reiter, R., Feng, S., Wang, S., Liu, S., Jin, L., Li, Z., Datla, R. & Ren, M. (2017). Melatonin Attenuates Potato Late Blight by Disrupting Cell Growth, Stress Tolerance, Fungicide Susceptibility and Homeostasis of Gene Expression in *Phytophthora infestans*. *Frontier in Plant Science*, 8, 1993. DOI: 10.3389/fpls.2017.01993

CAPÍTULO 6

EL SALVADOR: MEJORAMIENTO GENÉTICO DEL FRIJOL (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) Y CHIPILÍN (*CROTALARIA LONGIROSTRA* L.)

Mario Antonio Orellana Núñez,^{1} Jenny Xiomara Ángel^{2*}
Baltimore Martínez Sierra,³ Mario Antonio Hernández Melgar⁴
José Eduardo Loarca Guevara,⁵ Oscar Josué Fernández López⁶
Marvin Humberto Alejo Martínez,⁶ Diego Armando Artiga Gil⁶
Ligia Álvarez,⁶ Ada Yanira Arias de Linares³*

Antecedentes

Según los registros bibliográficos, la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador realizó una investigación en mejoramiento genético, utilizando rayos gamma como agente mutante, mediante la tesis de grado, para optar al título de ingeniero agrónomo, *Efecto de la irradiación gamma en frijol común (Phaseolus vulgaris L.)*. Para la investigación, utilizó la variedad San Andrés N°1 (mutación natural de la variedad Porillo 1) y como fuente de irradiación se utilizó cobalto 60 (⁶⁰Co). Primero se irradiaron lotes de 100 semillas con dosis que fueron desde 0, 5, 10, 20, 40, 60, 75, hasta 100 Krd, con el objetivo de determinar el límite superior en el cual el frijol germinara, creciera y se reprodujera. Los resultados mostraron que en dosis superior a los 60 Krd las semillas germinaban con un porcentaje

^{1*} mario.orellana@ues.edu.sv

^{2*} jenny.angel@ues.edu.sv

Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas

³ Docente de la Facultad de Ciencias Agronomicas

⁴ Docente de la facultad de Qumica y Farmacia

⁵ Estudiante de la Facultad de Qumica y Farmacia

⁶ Estuiantes de la Facultad de Ciencias Agronomicas

cada vez menor en medida en que se acercaban a los 100 Krd, por lo que, para el segundo ensayo, se irradiaron lotes de 2000 semillas en las siguientes dosis: 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36 y 40 Krd. Los resultados en cuanto a producción se obtuvieron en dosis entre 12 y 24 Krd. Después de la primera generación, se tomaron semillas de cada uno de los lotes con las diferentes dosis y se realizó la segunda generación. En la segunda generación, los resultados mostraron que las semillas irradiadas entre 24 y 40 Krd tenían mayores rendimientos, hasta de 25 %, comparadas con el testigo (Granados, 1966)

Origen y distribución del frijol

La domesticación de plantas y animales contribuyó a la revolución neolítica, que marcó un punto importante en la historia del hombre, pues la agricultura se convirtió en la base de la economía, siendo la domesticación un proceso resultante de la combinación de la evolución natural y la selección empírica practicada por el hombre, mediante la cual se derivan los cultivos domesticados a partir de sus progenitores silvestres (Hernández-López, 2013).

El frijol común (*Phaseolus vulgaris*) es un cultivo básico en América Central y del Sur, así como también en África, ya que es una fuente importante de proteínas en la dieta de la población y, por lo tanto, un objetivo de los programas de mejoramiento. Se han reportado dos loci fenotípicos que determinan el origen del frijol común; los polimorfismos del ADN del cloroplasto se estudiaron mediante secuenciación y polimorfismo de longitud de fragmento de restricción en 165 accesiones de variedades locales de frijol común domesticadas de América Latina y los EE. UU. Se identificaron 14 haplotipos de cloroplastos en frijoles silvestres, de los cuales solo 5 ocurren también en frijoles domesticados. Los datos del cloroplasto concuerdan con los obtenidos de los análisis basados en la morfología, isoenzimas y otros polimorfismos de ADN para apoyar la domesticación independiente del frijol común en Mesoamérica y la Región Andina, y para demostrar un efecto fundador asociado con la domesticación en cada región (Chacón *et al.*, 2005).

Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) mediante mutaciones inducidas

La seguridad alimentaria y nutricional es fundamental para los países con densidad poblacional alta y niveles considerables de pobreza, en los cuales generalmente su dieta está basada en granos básicos. El frijol es uno de los cultivos en el que

se realizan muchas modificaciones genéticas en la región mesoamericana. En El Salvador y para la región de Mesoamérica en general, este grano es uno de los más consumidos por su alto valor proteico, bajo costo y alta calidad nutricional. Además, es un componente esencial de la canasta básica y de la dieta diaria de la población salvadoreña por aspectos culturales. El consumo de frijol es de 79 g per cápita diarios; es decir, una persona en el área urbana consume una libra de frijol en casi 6 días (MAG, 2011); para la población en general, representa 6.83 % de la estructura de la dieta; a nivel urbano, 6.84 %, y a nivel rural, este porcentaje aumenta a 7.58 % (Centa, 2002). Mayormente es cultivado en huertos familiares como un cultivo de subsistencia. En el Banco de Germoplasma del Ministerio de Agricultura y Ganadería, están registrados más de 70 genotipos de frijol y líneas mejoradas de la región con el objetivo de aumentar la producción y la tolerancia a plagas de mayor interés y con mayor contenido de hierro y zinc.

En el contexto de la agricultura, la sequía “no comienza cuando cesa la lluvia, sino cuando las raíces de las plantas no pueden obtener más humedad del suelo”, y puede ser definida sobre la base de la humedad del suelo. Dado que la reserva de humedad productiva del suelo depende del tipo y del cultivo —especie, variedad, fase de desarrollo—, existe sequía agrícola cuando la humedad del suelo en la rizósfera se encuentra en un nivel tal que limita el crecimiento y la producción del cultivo; el resultado de ello es la disminución de los rendimientos agrícolas (Solano *et al.*, 2007). Lo que en realidad evita o tolera la planta, gracias a sus adaptaciones, es el estrés hídrico derivado de un balance de agua desfavorable. Existen mecanismos, procesos y estructuras que confieren ventajas a ciertas plantas frente a la sequía; los hay de muy variada complejidad, algunos de ellos son el comportamiento de las membranas y las macromoléculas celulares, las propiedades elásticas de la pared celular, el ajuste osmótico, el comportamiento de los estomas, la producción de ABA, los cambios en la orientación de las hojas, la fijación del carbono por la vía CAM, la estructura y funcionamiento de los sistemas subterráneos, los procesos de dormancia o reposo, los caracteres morfológicos de hojas y tallos que reducen la pérdida de agua, la relación raíz: tallo, la regulación del ciclo de vida, del tamaño de los órganos y del individuo, todo según la disponibilidad de agua (Domínguez, 1997).

En 2009, la Facultad de Ciencias Agronómicas, con el apoyo de la Agencia Internacional de Energía Atómica, inició el mejoramiento de dos variedades de frijol preferidas por la población debido a su sabor y color: sangre de toro y rojo de seda, esta última es muy apetecida por el color, tamaño y suavidad de grano; sin embargo, es altamente susceptible a mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.), una plaga primaria del cultivo, porque es el vector de la enfermedad conocida como mosaico dorado del frijol (BGMV),

que se ha convertido, en los últimos años, en un factor limitante de la producción, disminuyendo el área de producción a nivel nacional.

El objetivo del mejoramiento en ambas variedades fue encontrar la tolerancia a la sequía. Debido al cambio climático, las sequías recurrentes afectan la producción de frijol; sin embargo, la magnitud del efecto depende de la intensidad y la duración de esta, así como de la etapa fenológica en que se encuentre el cultivo (Núñez *et al.*, 1998). El frijol presenta ciertas características que lo hacen susceptible a la falta de agua, una de ellas es su sistema radicular el cual es muy pequeño en cuanto a tamaño; sin embargo, es fasciculado, pero también los excesos le afectan, debido a su sistema fotosintético.

Para determinar la dosimetría óptima de irradiación con rayos gamma que permitiera cambios genómicos para la tolerancia de la sequía, se buscó la dosimetría adecuada para ambas variedades (figura 1). En la Ciudad de Guatemala se realizaron las dosis de irradiación de 0, 100, 200, 300 y 400 Gy. Como fuente de rayos gamma, se utilizó un irradiador Gamacel II 220, el cual tiene como fuente de energía ^{60}Co . De acuerdo con las especificaciones del irradiador, calibrado para 145 Gy a 5.77 minutos y 100 Gy a 3.98 minutos, se procedió a hacer las conversiones respectivas para cada variedad, quedando de la siguiente manera: rojo de seda 170 Gy con 6.77 minutos, y para sangre de toro 175 Gy con 4.7 minutos de exposición. Para cada combinación de dosis y variedad, se evaluaron 4 repeticiones, utilizando 25 semillas por tratamiento y aplicando el diseño de bloques, las cuales fueron sembradas bajo las condiciones de invernadero, en el que se utilizaron bandejas de metal de 45 cm de alto, 30 cm de ancho y 15 cm de profundidad y arena lavada como sustrato. Las diferencias entre los promedios se obtuvieron con la prueba de rangos múltiples de Duncan a 5 % de probabilidad.

Las variables medidas fueron altura de epicótilo y la sobrevivencia de las plantas a los 10 días después de la germinación. De acuerdo con estos resultados, se tomó como criterio principal, para definir la dosis apropiada, una reducción en la altura de epicótilo no menor de 30 % y una tasa de sobrevivencia no menor de 50 %, con relación al testigo. La altura de epicótilo representada en porcentaje, en relación con el testigo, disminuyó en las variedades, conforme aumentaba la dosis de irradiación. La dosis de 100 Gy no redujo significativamente la altura de epicótilo en ninguna de las variedades, por el contrario, la dosis de 200 Gy generó un efecto mayor, presentando una altura de 71.63 % para sangre de toro y para rojo de seda, con un valor de 55.82 %. Similar tendencia se observó con la dosis de 300 Gy y una mayor reducción con dosis de 400 Gy.

Figura 1. *Evaluación de dosimetría en Frijol (Phaseolus vulgaris) variedades sangre de toro y Rojo de Seda.*



Fuente: Centro Nacional de Tecnología Agrícola y Forestal (CENTA). 2009.

De acuerdo con estos resultados obtenidos en invernadero, al analizar las dosis que provocaron 30 % en la reducción del crecimiento, se observó que se encuentran en el rango de 100 y 200 Gy, siendo 170 Gy la dosis más adecuada. Una vez determinada la dosimetría adecuada, se procedió a irradiar 2 kg de cada una de las dos variedades a una dosis de 170 Gy para rojo de seda y 175 Gy para sangre de toro.

Para corroborar los resultados, se realizaron de nuevo evaluaciones de reducción del crecimiento del hipocótilo en los invernaderos del Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria (CENTA), del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) de El Salvador, ubicado a 450 msnm, con una temperatura promedio de 26 °C y un promedio de precipitación de 1600 mm anuales.

La investigación se desarrolló en el campo experimental conocido como CENTA 1, en una parcela con suelo de textura franco-arenosa, topografía plana, buen drenaje y fertilidad moderada. Una vez delimitada la parcela (figura 2), se realizó la

siembra de la M_1 , para lo cual se aplicó la tecnología agrícola del cultivo del frijol y, en el escrutinio, se seleccionaron más de 300 plantas de cada variedad que mostraron signos de mutaciones, se encontraron plantas libres de virus en la variedad rojo de seda (figura 3). En época seca, se realizó la M_2 con un sistema de riego por surco, en la floración se suspendió el riego y se seleccionaron 228 líneas provenientes de la variedad sangre de toro, que toleraron la falta de agua hasta la cosecha; sin embargo, las plantas de la variedad rojo de seda no resistieron a la virosis, por lo que ya no se continuó su evaluación (figura 1).

Figura 2. *Delimitación de parcelas para la siembra de la M_1 de Frijol (*Phaseolus vulgaris*) variedades sangre de toro y Rojo de Seda*



Fuente: Centro Nacional de Tecnología Agrícola y Forestal (CENTA). 2009.

Figura. 3. *Primera generación de mutantes Selección de plantas con presencia de mutaciones de Frijol (Phaseolus vulgaris) variedades irradiadas a una dosis de 170 Gy para rojo de seda y 175 Gy para sangre de toro. Centro Nacional de Tecnología Agrícola y Forestal (CENTA). 2009*



Fuente: archivo de los autores.

En cada época seca, se realizaron dos siembras: de octubre a diciembre y de enero a marzo. En cada una de las filiales, se obtuvieron resultados relacionados con el rendimiento, presencia de plagas y enfermedades, entre otros, y luego se analizaron (figura 4). Aquellas líneas en las cuales se encontraron plantas con bajos parámetros de rendimientos –número de ramas con vaina, número de semillas por vaina, peso de 100 semillas para relacionarlos con la productividad de la línea– fueron eliminadas y así se trabajó cada filial hasta llegar a la M_6 con 28 líneas, que en su mayoría cumplían con los parámetros morfológicos, fenológicos y agronómicos.

Para la evaluación de la M_7 , se utilizó una parcela de un pequeño productor. Este ensayo se realizó mediante la tesis de estudiantes de pregrado titulada *Caracteres fenológicos, morfológicos, y agronómicos de 26 líneas mutantes de frijol (Phaseolus vulgaris L.) en su séptima generación en la búsqueda de genotipos promisorios a potencial de rendimiento*; la ubicación de este ensayo fue en la zona paracentral del país, en el Cantón los Naranjos, municipio de Cojutepeque, Departamento de Cuscatlán, con una altura de 880 msnm, una precipitación promedio anual de 1847.5 milímetros y temperatura promedio de 22.9 °C, en el período de noviembre de 2014 a febrero de 2015. En el país, este período es la transición de la finalización de la

época lluviosa y el inicio a la época de sequía. El área del experimento fue de 580 m², estableciendo parcelas de bloques al azar con unidades experimentales de 3 m de ancho por 3 m de largo, cada uno tenía un área de 9 m², dejando 1.20 m entre línea y 1 m entre bloques. La siembra se realizó de forma manual, colocando 2 semillas por postura a 2 cm de profundidad, los distanciamientos fueron 30 cm entre plata y 60 cm entre surco. Toda el área del ensayo se manejó agronómicamente en cuanto al control de malezas, fertilización y manejo de plagas, con el objetivo de mejorar las condiciones del cultivo para realizar la validación a futuro.

Figura. 4. *Presión de selección a estrés hídrico de los genotipos de las familias M₂ de frijol (Phaseolous vulgaris) variedades Rojo de Seda irradiadas 170 Gy y Sangre de Toro a 175 Gy. para la inducción de tolerancia a la sequía*



Fuente: Centro Nacional de Tecnología Agrícola y Forestal (CENTA). Febrero de 2010.

Los resultados obtenidos en la investigación corresponden a características cuantitativas fenológicas, cuantitativas y cualitativas morfológicas y agronómicas, según las variables en investigación. La que mejor explica a la fenología de cultivo es la referente a los días a madurez fisiológica y días a cosecha, a fructificación y a preflorescencia. El análisis exploratorio, utilizando componentes principales, determinó que la línea mutante más precoz fue la M09ST09 y la más tardía la M09ST18. Según datos recopilados por el MAG y CENTA, la variedad CENTA 2000 alcanza la floración a los 35 días después de la siembra; el CENTA San Andrés, a los 32 días y el CENTA pipil, a los 34 días en condiciones favorables para producción.

La variable días a prefloración mostró diferencia a un nivel de significancia de 0.05 %, entre el testigo sangre de toro (T26) y las líneas mutantes. La línea más precoz fue la M09ST09 con 25.5 días después de la siembra; la más tardía, la M09ST13 con 28.75 días, y el testigo sangre de toro T26 con 28.5 días. En cuanto a los días a floración, existe diferencia significativa entre las medias; las líneas mutantes más precoces fueron M09ST11, M09ST20, M09ST22, M09ST23, M09ST24, M09ST25, M09ST07, M09ST09 con 38 días después de la siembra; las más tardías fueron M09ST16, M09ST18 y M09ST06 con 41.75 días, y el testigo sangre de toro T26 con 40 días.

Con respecto a las demás líneas mutantes, se mantuvieron en un rango de 39 y 41 días después de la siembra. En cuanto, a los días a fructificación, se puede observar que existe diferencia significativa entre el testigo (T26) y las líneas mutantes. La más precoz fue la M09ST05 con 50.5 días después de la siembra; las más tardías fueron M09ST12, M09ST16 y M09ST06 con 55 días, y el testigo sangre de toro T26 con 52.5 días. Con respecto a las demás líneas mutantes, estas se mantuvieron en un rango de 50.75 y 54.5 días. En cuanto a los días a la madurez fisiológica, existe diferencia significativa entre el testigo sangre de toro y las líneas mutantes; la más precoz fue la M09ST24 con 72 días; la más tardía fue la M09ST18 con 80 días, y el testigo sangre de toro T26 con 78 días. Acerca de a las demás líneas mutantes, se expresaron entre un rango de 73 y 78 días después de la siembra.

Entre los caracteres cuantitativos, el más importante fue el número de vainas por plantas. Con base en los resultados obtenidos en campo, y la comparación de las líneas mutantes con el testigo, la línea M09ST06 presentó menor promedio, con 21.35 vainas por planta; la M09ST20 con mayor promedio de 45.9 vainas y el testigo sangre de toro T26 tuvo un promedio de 24.95 vainas. En cuanto a las demás líneas, fue en un rango promedio entre 22.75 y 38.95 vainas por planta (tabla 1).

En lo que respecta a la variable número de semillas por vainas, no existe diferencia significativa entre el testigo (T26) y las líneas mutantes, no existiendo mucha variación entre las medias de los tratamientos. La línea M09ST21 resultó con el mejor promedio con 6.5 semillas por vainas, mientras que el testigo sangre de toro T26, con 6.25 semillas.

En rendimiento y otras características agronómicas de importancia, las líneas más sobresalientes fueron M09ST20 (T20), M09ST15 (T15), M09ST17 (T17), M09ST03 (T3) Y M09ST07 (T7), las cuales presentaron los mejores resultados de la variable potencial de rendimiento; para ello, se recomienda realizar evaluaciones en diferentes regiones del país (validación).

Tabla 1. *Altura y rendimiento de 26 líneas mutantes de frijol (M₇ y testigo sangre de toro [Phaseolus vulgaris L.]), evaluadas en Los Naranjos, Cojutepeque, UES-FF CCAA (tesis 2015)*

Frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i>) código	Altura (cm)	Rendimiento (kg/ha)
M09 ST 01	36	2.55
M09 ST 02	33.75	3.07
M09 ST 03	49.15	3.43
M09 ST 04	37.95	2.56
M09 ST 05	33.2	2.43
M09 ST 06	36.00	2.27
M09 ST 07	52.3	3.52
M09 ST 08	39.4	2.74
M09 ST 09	51.75	2.35
M09 ST 10	33.9	2.12
M09 ST 11	46.45	3.31
M09 ST 12	29.90	2.83
M09 ST 13	32.48	2.15
M09 ST 14	40.7	2.73
M09 ST 15	37.28	3.79
M09 ST 16	29.48	1.83
M09 ST 17	41.8	3.72
M09 ST 18	34.65	2.95
M09 ST 19	40.65	3.13
M09 ST 20	52.5	4.71
M09 ST 21	35.40	2.07
M09 ST 22	33.55	2.98
M09 ST 23	53.90	2.91
M09 ST 24	60.10	2.13
M09 ST 25	51.82	2.85
M09 ST 26	33.1	2.19
Testigo	45.76	2.58

Fuente: archivo de los autores.

Después de obtener los resultados de la M₇, se realizó el análisis bromatológico de las 26 líneas, colocando los testigos con los cuales se inició el proyecto –sangre de toro– y otros genotipos liberados por el gobierno. El análisis bromatológico proximal comprende las determinaciones: proteína cruda, cenizas y humedad, parámetros que permitieran conocer la calidad nutricional de las 25 líneas de frijol evaluadas en campo.

La actividad experimental se realizó en el laboratorio de química agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas de La Universidad de El Salvador; los resultados que se obtuvieron en la investigación de las líneas mutantes de frijol fueron tabulados, comparados entre sí y, además, cotejados con las tablas del Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP). Estas comparaciones de resultados se realizaron mediante el análisis de varianza de un factor (ANOVA), de modo que los resultados de esta investigación presenten aspectos que son importantes en la temática de seguridad alimentaria y nutricional para la inclusión de estas líneas, una vez sean liberados y cumplan parámetros dentro de las instituciones competentes para su producción y consumo.

El análisis bromatológico proximal determinó la concentración de micronutrientes hierro y zinc, los cuales son importantes en la dieta humana; los microelementos se determinaron partiendo de la ceniza. Cada una de las determinaciones se realizó por quintuplicado, todo esto para obtener precisión y exactitud en los datos, que brinden una gran confiabilidad en los resultados. Según el análisis bromatológico proximal, la AOAC en 1980 determinó que el análisis se aplica, en primer lugar, a los materiales que se usarán para formular una dieta como fuente de proteína o de energía y a los alimentos terminados, como un control para verificar que cumplan con las especificaciones o requerimientos establecidos. Estos análisis indicaron el contenido de humedad, proteína cruda, fibra cruda, grasas, ceniza y extracto libre de nitrógeno –carbohidratos– en la muestra.

En esta investigación, no se llevó a cabo el análisis bromatológico proximal completo, sino que se realizaron análisis puntuales que mostraran los resultados que se necesitaba conocer. Las muestras se prepararon deshidratando los granos a una temperatura de 65 °C por 24 horas; posteriormente, se micronizaron los granos a través de un molino de cuchillas de inox con un tamiz de 0.25 micras, obteniendo muestras homogéneas y con tamaño de partículas muy uniforme. Se determinaron minerales micronutrientes por el método de espectrometría de absorción atómica de llama, y las proteínas, por medio de digestión. Los resultados muestran que los valores en porcentaje de proteína están sobre el valor de la muestra blanco –sangre de toro–; así mismo, estos valores están por encima del porcentaje de proteína proporcionado por el Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (Incap, 2012). Por otro lado, la línea mutante, identificada como 9, es la que mayor porcentaje de proteína

posee, con 34.33 %; y, de entre las líneas la que menor posee es la identificada como 13, con 27.31 %. En cuanto al contenido de zinc, la línea 5 es la única que posee menor cantidad con respecto a la muestra blanco (1.01 mg de Zn/100 g de muestra) y, asimismo, menor cantidad que el dato proporcionado por el Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá.

Por otra parte, las otras 24 muestras poseen mayor cantidad de zinc con respecto a la muestra blanco. En los resultados del análisis de la cantidad de hierro en mg/100g de muestra de las líneas en estudio, se puede diferenciar que las líneas 7, 8, 10, 11, 14, 16 y 18 contienen mayor cantidad de hierro, y, de ellas, la 10 es la que mayor cantidad posee con 7.52 mg de hierro/100 g de muestra. Además, de las siete líneas mencionadas anteriormente, solo la 7 es la que posee menor cantidad de hierro (6.68 mg/100 de muestra), no cumpliendo con el dato promedio presentado por el Incap (Incap, 2012). En general, las líneas mutantes analizadas en esta investigación poseen resultados sustentables, en su mayoría, mejores que los obtenidos por la muestra blanco; asimismo, no se puede dejar de lado que, según los valores expresados en las tablas de composición de alimentos del Incap, casi 100 % de los resultados obtenidos en las 25 líneas son mejores que los expresados por dichas tablas, generando gran aceptabilidad en cuanto a la calidad nutricional de las líneas en estudio.

Mejoramiento genético del chipilín (*Crotalaria longirostra* L.) mediante mutaciones en El Salvador

Crotalaria es un género tropical y subtropical con la mayor concentración de especies en el hemisferio sur, específicamente en África. Se encuentra constituido por 550 a 600 especies a nivel mundial, de las cuales 89 están reportadas en América. El chipilín (*Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn.) es originario de Mesoamérica, especialmente de la región Centroamericana, y puede encontrarse en estado silvestre, como maleza y en producción agrícola a pequeña escala (Cobón, 1988). El nombre de *chipilín*, según Pieter, viene del náhuatl *chipilín* o *chipulli* que significa “conchita”, aunque en lengua pipil su nombre puede significar grillo. En nuestro país, se han identificado varias especies como: *Crotalaria júncea*, *Crotalaria ochroleuca*, *Crotalaria vitellina* y *Crotalaria longirostrata*, esta última es la más utilizada en El Salvador.

El chipilín se distribuye en regiones tropicales como México, Belice, Guatemala, El Salvador, Costa Rica, Panamá y Cuba, y también en subtropicales de todo el mundo. En México, se registraron 25 especies, de las cuales 19 son nativas y 8 son endémicas, en Guatemala, 14 (Cobón, 1988) y en El Salvador, al menos 4 (Hurtado

Román, s. f.) pertenecen a la familia Fabaceae, con un número cromosómico $2n= 32$ (Verma y Raina, 1983).

El chipilín se comercializa como hortaliza, por lo que los productores siembran cada cinco cortes de follaje que realizan en la plantación, luego vuelven a sembrar; sin embargo, como planta silvestre puede ser bianual o en cultivo de traspatio también. Su hábito de crecimiento es arbustivo. La raíz presenta un predominio del sistema primario proveniente de la radícula del embrión. Casi siempre exhiben nódulos poblados de bacterias del género *Rhizobium*, que asimilan el nitrógeno atmosférico (Hernández Mejía, 1997). Su tallo es delgado, erecto, algunas veces muy ramificado, con una altura de 1.25 a 1.75 m, estrangiloso o glabro, frecuentemente de color verde, verde rojizo o rojizo, o con franjas color púrpura, con estípulas pequeñas o ausentes. Es un cultivo de siembra directa y por trasplante, se puede sembrar en cualquier época del año, siempre que se disponga de agua para su desarrollo.

La topografía no es determinante para *C. longirostrata*; se ha observado su cultivo en laderas y hasta vegas de los ríos, es necesaria la aplicación de materia orgánica por postura y al boleto, según la disponibilidad. A nivel comercial, hay poca experiencia en el manejo de áreas grandes; sin embargo, algunos productores siembran intercalado con otros cultivos; tradicionalmente se siembra directo, poniendo de 3 a 5 semillas por postura, después se hacen raleos. Según la experiencia de pequeños productores, se utilizan 2.5 libras de semillas por manzana; con un distanciamiento de 0.90 a 1.20 m entre surco y de 0.30 a 0.40 m entre planta.

Debido a que en el territorio nacional actualmente no existe algún documento con una distribución geográfica específica de su cultivo, pero sí se conoce que se encuentra ampliamente distribuido en todo el país, se determinó realizar giras de recolección de semillas en las cuatro regiones del país. Para esta actividad, se contó con el apoyo de extensionistas del Ministerio de Agricultura y Ganadería, de algunas ONG que trabajan en el área rural y de productores que dan información de otros productores que ellos conocen, logrando realizar una colecta general. Para la caracterización morfoagronómica de germoplasma de chipilín, se hizo un *bulk* de todas las semillas colectadas, considerando un porcentaje de cada lugar y región. Con estas semillas, se realizaron dos ensayos simultáneos, uno a 50 msnm en la Estación Experimental de Prácticas de Comalapa, de la Facultad de Ciencias Agronómica, y el segundo en Estación Experimental del Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA) a 475 msnm. Las parcelas se prepararon con maquinaria agrícola, posteriormente se instalaron parcelas de 5 metros de largo por 3 de ancho, utilizando un diseño de bloques al azar con 4 repeticiones. Se inició con la selección de semillas uniformes en tamaño y color, y se realizaron las prácticas

agronómicas para el desarrollo normal de las plantas; debido a que no existe un descriptor oficial para chipilín, se estructuró uno tomando como base el de Gandul. Se describieron las características cuantitativas y cualitativas de cotiledones, tallo, hojas, inflorescencia, frutos y semillas.

Además, se realizaron los análisis bromatológicos de cada uno de estos órganos. Los resultados mostraron que las hojas son pecioladas de 5 a 8 cm, los 3 folíolos oblongos a ovalados o elípticos, los folíolos inferiores de 1 a 3 cm de largo. Posee racimos florales principalmente terminales, de 18 a 45 cm de largo, y de 28 a 58 flores por inflorescencia. La inflorescencia es multifloral, color amarilla, zigomorfa, tipo bandera, característica de las Papilionidae, con un ala-quilla en la parte basal, un pétalo amplio en la parte opuesta-superior –estandarte de 1.2 a 1.8 cm de largo– y dos pétalos angostos –alas de 1.3 a 1.7 cm de largo– insertos a los lados de la quilla. Los pétalos son libres entre sí y con pequeñas manchas lineares púrpuras en el centro. La quilla –de 1.1 a 2 cm de largo– tiene forma triangular, curva y angosta, permanece en posición cerrada hasta la visita del polinizador. Una vez que el polinizador se posa sobre la flor, las alas se separan exponiendo abiertamente la quilla. Su fruto es una vaina o legumbre de color verde en sus inicios, café y, en algunos casos, negra cuando madura, y de forma oblonga, de 2 a 2.3 cm de largo por 0.5 a 0.6 cm de ancho. Dehiscente cuando está completamente secas, pubescente y de textura rugosa. Las semillas son de forma arriñonadas, de 0.4 a 0.5 cm de largo y de 0.2 a 0.3 cm de ancho, de colores como el amarillo, café y negro, todos brillantes, conteniendo de 7 a 12 semillas por fruto, dependiendo si tiene una o dos placentas.

Los resultados obtenidos mostraron que existen cuatro tipos de color de tallo, y cinco formas de hojas diferentes, así como diferencias de colores y tamaños de las estructuras de las flores y diferentes estados de desarrollo de los racimos florales. El chipilín (*Crotalaria longirostrata*) es una especie en la cual no se ha realizado mejoramiento genético, debido a que su valor económico y social está en sus hojas. Originalmente fue una planta de traspatio, pero, a partir de finales de la década de los noventa, inició su cultivo en diferentes sistemas: monocultivo y en asocio con otras hortalizas. Generalmente, no hay empresas productoras de semillas, fue originalmente un intercambio entre productores, quienes, de manera general, dejaban una pequeña parcela para tal fin. Actualmente, ya existe venta de semilla en algunos comercios dedicados a dicha actividad; sin embargo, no es semilla mejorada (figura 5).

Figura 5. Cultivo de Chipilín (*Crotalaria longirostrata*) con Sistema de cortes para la producción de follaje para el consumo humano



Fuente: Facultad de Ciencias agronómicas, Universidad de El Salvador. 2015.

En un estudio realizado en la Facultad de Ciencias Agronómicas, titulado *Análisis de contenido de proteína en sopa de chipilín*, se mostró que la cantidad de proteína en gramos en una sopa de pollo que contiene como ingrediente adicional hojas de chipilín es aproximadamente de 5.67 g. Cuando se realizó el extracto solo con hojas de chipilín, dio como resultado 4.26 g de proteína, y al realizarle un análisis a las hojas frescas se concluyó que estas contienen 7.11 g. Una porción de caldo de pollo contiene 1.4 g de proteínas, cantidad que no representa mucho en relación con las necesidades proteínicas diarias; sin embargo, al agregarle hojas de chipilín, el contenido de proteína se incrementa. El chipilín no puede ser considerado sustituto de la carne, debido a que la proteína que contiene está incompleta –deficiente en metionina y fenilalanina, aminoácidos esenciales para el buen funcionamiento del organismo y son complementos alimenticios–. Por su alto contenido de lisina –aminoácido esencial–, se deben combinar con cereales como el maíz y el arroz. Por ello, en la comida típica salvadoreña, existen diferentes platos tradicionales en los que se utilizan ambos cereales.

Debido a su biología floral, que dificulta realizar una hibridación, además de que el cultivo está aumentando en productores por la demanda de la población y últimamente la agroindustria, se buscó la alternativa de mejoramiento utilizando la irradiación

nuclear (figura 6). Los objetivos que se plantearon fueron mejorar la estructura de la planta para que produzca más follaje y uniformizar la estructura floral para la producción de semilla mejorada. Para realizar una mutación eficaz, se seleccionaron semillas de un mismo color y tamaño, que provenían del mismo color de tallo, producto de la caracterización morfoagronómica del germoplasma colectado en el país (figura 7). Una vez se logró realizar la caracterización morfoagronómica, se planteó la necesidad de buscar una estrategia de mejoramiento que permitiera cambiar la estructura de la planta: hacerla más compacta para aumentar la producción de follaje, que tiene su importancia comercial, además de que su estructura floral sea uniforme para mejorar posteriormente otras características.

Figura 6. *Diferentes estadios en inflorescencia de Chipilín (Crotalaria longirostrata)*



Fuente: Facultad de Ciencias agronómicas, Universidad de El Salvador. 2015.

En virtud de que no se encontró literatura sobre irradiación en *Crotalaria longirostrata*, se realizaron 20 dosis desde 0, 25, 50, 75, 100, y así hasta llegar a 500 Gy, utilizando ^{60}Co . Los resultados a nivel de invernadero mostraron que no había modificación alguna; sin embargo, se realizó un ensayo en la Estación Experimental 1 del CENITA. Las dosis altas retardaron los días a germinación y las bajas fueron similares al testigo. En dosis de 450 Gy, se observaron algunos cambios en las estructuras de

las hojas tanto a nivel de maceta como de campo. Sin embargo, la obtención de semillas para realizar la M_2 se dificultó. Se realizaron tres ensayos mediante técnicas de mejoramiento genético, encerrando con una bolsa una inflorescencia con flores antes de la antesis y eliminando cápsulas en diferentes estados de desarrollo. Los tres resultados fueron negativos, debido a que la polinización es cruzada, porque hay un hemíptero que antes de la antesis rompe la base de la flor, extrae algún compuesto que es de su interés y esto no permite tener semillas para continuar con la M_2 .

Figura 7. Diferentes colores de semillas de Chipilín (*Crotalaria longirostrata*)



Fuente: Facultad de Ciencias agronómicas, Universidad de El Salvador. 2015.

Conclusiones

- La irradiación de semillas de frijol sangre de toro, utilizando ^{60}Co , permite inducir a mutaciones que se mantienen hasta la M_7 .
- La línea mutante de frijol M09ST09 (T9) fue la que presentó mayor precocidad en la mayoría de las etapas fenológicas con respecto al testigo sangre de toro (T26).
- Las líneas mutantes de frijol presentaron diferencias notables en algunas variables morfológicas cualitativas estudiadas con respecto al testigo sangre de toro (T26).

- La línea mutante de frijol M09ST20 (T20) presentó el mejor resultado en las variables número de vainas por planta y potencial de rendimiento en comparación con las demás líneas y el testigo sangre de toro (T26).
- El análisis bromatológico en granos de líneas de frijol mutante mostró que los niveles de proteína son mayores en comparación con el testigo en algunas de las líneas, así como también en hierro y zinc.
- Es necesario realizar la caracterización molecular de las líneas mutantes de frijol y de los cuatro genotipos diferentes, resultado de la caracterización agromorfológica.
- El análisis bromatológico del chipilín mostró que tiene niveles de proteínas aceptables que pueden ayudar a la nutrición de la población.
- Es necesario realizar estudios más intensos en el chipilín sobre la biología floral, y desarrollar estudios de inducción a mutaciones, utilizando la semilla mediante cultivo de tejidos.

Referencias

- CHACÓN S, M. I., Pickersgill, B., & Debouck, D. G. (2005). Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races. *Theor. Appl. Genet.*, 110(3),432-44.
- CENTA 2000 variedad de frijol (en línea). Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA). Nva. San Salvador, El Salvador. Recuperado de <http://www.centa.gob.sv/>
- DOMÍNGUEZ, P. L. (1997). Fisiología en condiciones de estrés. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Entre Ríos. Paraná, AR, UNER. Recuperado de http://www.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/WEB-FV_2010/mat_did/UT12_Estres.pdf
- ESCALANTE, W., Galdámez, I. y Morales, I. (2015) Manejo agronómico del cultivo de chipilín (*Crotalaria longirostrata* Hook & Arn). Recuperado de <http://www.fundesyam.info/biblioteca/displayFicha.php?fichaID=1194>
- HERNÁNDEZ-LÓPEZ, V. M., Vargas, M. L. P, Muruaga, J. S., Hernández-Delgado, S. y Mayek, N. (2013). Origen, domesticación y diversificación del frijol común. Avances y perspectivas. *Rev. Fitotec. Mex.*, 36(2), 95-104.
- INCAP (Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, GT). (2012). Tabla de Composición de Alimentos de Centroamérica. Guatemala.

- MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería); CENTA (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal). (2011). Guía técnica para el manejo de variedades de frijol. San Salvador, SV.
- NÚÑEZ, A., Ritchie, J. y Smucker, A. J. M. (1996). Efecto de sequía en el crecimiento, la fotosíntesis y la intercepción de luz en frijol común. *Agronomía Mesoamericana*, 9(2),1.
- SOLANO, J. O., Vásquez, R. J., Centella, A. & Lapinel, B. P. (2007). Una aproximación al conocimiento de la sequía en Cuba y sus efectos en la producción agropecuaria. *Zonas Áridas*, 11(1): 1-16. Recuperado de <http://www.lamolina.edu.pe/zonasaridas/za11/pdfs/ZA11%2000%20art06.pdf>
- SOTO, C. (2004). Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán: *Crotalarieae*. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. Volumen 10.
- VERMA, R. C. & Raina, S. N. (1983). Cytogenetics of *Crotalaria* VIII. Male meiosis in 26 species. *Cytologia*, 48, 719-733.

CAPÍTULO 7

GUATEMALA: INDUCCIÓN DE ESTRÉS HÍDRICO EN VARIEDADES DE CAMOTE (*IPOMOEA BATATAS L.*) Y PAPA (*SOLANUM TUBEROSUM L.*)

Aura Elena Suchini Farfán^{1*}
Aida Eleonora Ramírez Rodas^{2*}
Lorenzo Suárez Guerra^{3*}

Resumen

Con el fin de obtener mutantes con tolerancia a estrés hídrico (sequía), se irradiaron con rayos gamma ⁶⁰Co vitroplantas de las variedades de camote CIP 440004 e ICTA Dorado (12.5, 25, 37.5 y 50 Gy), y las variedades de papa, Ictafrit, Loman y Tollocan, (10, 25, 50, 75 y 100 Gy). Se determinó la dosis letal media y, por micropropagación, se obtuvo la generación mutante M1V7. El objetivo principal fue determinar el efecto de la irradiación en la tolerancia al estrés hídrico *in vitro* mediante el uso de polietilenglicol (PEG) en dos variedades de camote y tres variedades de papa. En plántulas de las variedades de camote CIP 440004 e ICTA Dorado irradiadas con 12.5 Gy, se utilizó 6, 12, 18 y 24 g/l de PEG; además, se incorporaron los bioestimulantes Pectimorf y Quitomax para medir su efecto sobre el crecimiento de las plántulas. En las variedades de papa Ictafrit, Loman y Tollocan, se usaron 40 y 80 g/l de PEG. Para los dos cultivos el tratamiento testigo no contenía PEG. Se utilizó un diseño con distribución completamente al azar. El análisis de los datos se realizó mediante el programa Infostat. Se emplearon modelos generales y mixtos, y análisis de componentes principales de los datos para determinar la correlación entre variables. Se realizó la prueba de LSD Fisher para la comparación de medias. Se estableció un protocolo para la irradiación y

¹ Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas -ICTA-Guatemala.

* aura.suchini@icta.gob.gt

² Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas -ICTA-Guatemala.

* eleonoraramirez@icta.gob.gt

³ Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas -INCA- Cuba.

* lguerra@inca.edu.cu.

selección de mutantes de camote y papa *in vitro*; se obtuvieron plantas de variantes de camote irradiadas de las variedades CIP 440004 e ICTA Dorado y de las variedades de papa Ictafrit, Loman y Tollocan que mostraron tolerancia a la sequía.

Introducción

En Guatemala las primeras investigaciones de inducción de mutaciones, de las cuales se tiene referencia, se remontan a 1997, con el cultivo de frijol, inicialmente, en la búsqueda de resistencia al hongo *Tanatephorus cucumeris*, que causa la enfermedad de la mustia hilachosa. Posteriormente, se investigó la precocidad de variedades de importancia en algunas regiones de Guatemala. Las dosis de irradiación gamma evaluadas sobre semillas fueron: 0, 100, 200, 300 y 400 Gy. Se estableció la dosis de 150 Gy como adecuada para inducir mutaciones en la variedad experimental Guate 1201, y la dosis de 210 Gy para las variedades Dor-454, ICTA Ostúa y Ju 93-4 (Molina, 1997).

Para precocidad, la dosis de 200 Gy aplicada a semillas de las variedades ICTA Altense e ICTA Hunapú, logró producir líneas de ciclo más precoz que el de las dos variedades originales (Soto y Molina, 1998). En 2002, se realizó irradiación con ^{60}Co , en una dosis de 210 Gy, sobre semilla de las variedades ICTA Ligerito e ICTA Ostúa, con el objetivo de obtener frijol negro resistente a glifosato. Doce plantas de frijol sobrevivieron a dos aplicaciones de glifosato: 5 de ICTA Ligerito y 7 de ICTA Ostúa (ICTA, 2002). En 2009, se irradiaron semillas de las variedades ICTA Ligerito y rojo de seda para ampliar la variabilidad genética en el frijol en la búsqueda de tolerancia a sequía y resistencia al virus del mosaico dorado amarillo (BGYMV). Se determinó la dosis de 220 Gy para ICTA Ligerito y 170 Gy para rojo de seda; dosis que reducen el crecimiento en 30 %. Se obtuvo la generación M_3 bajo condiciones de sequía en invernadero (Villatoro y Ponciano, 2011).

En el cultivo del arroz, en 1997, se irradió con una dosis de 150 Gy, semilla proveniente del CIAT de generaciones F2 y F4 de los materiales: CT11255, CT11052 y CT10388; de las plantas regeneradas, 20 fueron seleccionadas por su ciclo vegetativo y tipo de planta. En 1998, se seleccionó la línea CT11255 por su arquitectura de planta, pero no superó en rendimiento a la variedad comercial de la localidad de siembra (ICTA, 2002). En el cultivo de la papa, en 2016 y 2017, se irradiaron vitroplantas de las variedades Ictafrit, Tollocan y Loman, en la planta El Pino, del Programa Moscamed, Guatemala; se usó el irradiador Gamacel II 220, con las dosis 10, 25, 50, 75 y 100 Gy. Se obtuvieron variantes de 10, 25 y 50 Gy.

En 2017, se irradiaron tres variedades de camote: ICTA San Jerónimo, CIP 440004 e ICTA Dorado, con las dosis 12.5, 25, 37.5, 50 Gy; se determinó como dosis letal

media 12.5 Gy. ICTA San Jerónimo no soportó ninguna de las dosis utilizadas. Para ambos cultivos, se obtuvo por micropropagación la generación M1V7. En 2019, tanto para el cultivo del camote como de la papa, se realizaron experimentos *in vitro*, para determinar la tolerancia a la sequía de plántulas de variantes obtenidas de diferentes dosis de irradiación; se utilizaron varias concentraciones de polietilenglicol (PEG). A continuación, se describen, para cada cultivo, los experimentos realizados y los resultados obtenidos.

Inducción de estrés hídrico en variedades de camote⁴

La deficiencia de vitamina A puede limitar el crecimiento, debilitar la inmunidad, causar ceguera y aumentar la mortalidad infantil. El camote de pulpa anaranjada reduce la deficiencia de vitamina A que afecta a más de 140 millones de niños menores de 5 años en el mundo (CIP, 2020). Según la Encuesta Nacional de Salud Materna Infantil de Guatemala, aproximadamente 20 % de niños –6 meses a 2 años– son afectados. El CIP ha establecido como objetivo estratégico, para 2023, que 15 millones de hogares de escasos recursos en África y Asia mejoren la calidad de sus dietas y eleven en 15 % sus ingresos procedentes del cultivo del camote (CIP, 2020).

El Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA) y el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación de Guatemala (MAGA) pusieron a disposición de los agricultores, y población en general, dos variedades biofortificadas de camote de pulpa anaranjada: ICTA Dorado e ICTA Pacífico, con altos valores de vitamina A (HarvestPlus, 2016). Las raíces reservantes contienen grandes cantidades de almidón, vitaminas, fibras (celulosa y pectinas) y minerales. Poseen provitamina A (betacaroteno) y las vitaminas B1 (tiamina), C (ácido ascórbico) y E (tocoferol) (Martí, Corbino y Chludil, 2011, citados por Orellana, 2012). Aunque actualmente el cultivo se desarrolla en regiones cálidas por efectos del cambio climático, se ha observado un incremento en la temperatura en todas las regiones del país, aunado a una disminución en el ciclo de lluvias anuales. La inducción de mutaciones podría constituir una alternativa para crear variabilidad en cultivares de interés agrícola más resistentes a los estreses bióticos y abióticos, y, de esta manera, contribuir a la producción de alimentos.

El presente experimento se realizó con la finalidad de determinar el efecto de la irradiación sobre la tolerancia al estrés hídrico de plántulas de variedades de camote, provocado por el polietilenglicol (PEG) y Pectimorf o quitomax. La técnica de cultivo *in vitro* minimiza las variaciones del medio ambiente debido al uso de un medio

⁴ Aura Elena Suchini Farfán

nutritivo definido, crecimiento bajo condiciones controladas y una aplicación homogénea del estrés; además, el PEG ha sido utilizado para estimular el estrés a sequía en plantas, ya que es un agente osmótico no penetrante que reduce el potencial hídrico en forma similar a un suelo sin agua (Agili, Byende, Ngaman, Masinde y Kapinga, 2009). El PEG es un osmoestresante que, al incorporarse a los medios de cultivo, disminuye su potencial osmótico, retiene las moléculas de agua y dificulta su absorción por parte de los tejidos vegetales (Moreno, Reyes, Gómez y Chong, 2017).

El experimento se realizó en el laboratorio de biotecnología ICTA, Bárcena, Villa Nueva, Guatemala, en 2019. Plantas de camote de las variedades CIP 440004 e ICTA Dorado irradiadas con 12.5 Gy *in vitro* fueron sembradas en medio Murashige y Skoog (MS), suplementado con diferentes concentraciones de PEG (6, 12, 18 y 24 g/l) para ser sometidas a estrés hídrico según la metodología descrita por Barra, Correa y Salazar (2013). Se utilizaron como plantas control las variedades de camote CIP 440004 e ICTA Dorado sin irradiar. Otras plantas se sembraron en medio MS, suplementado con 12 g/l de PEG y 20 g/l de Pectimorf o 25 ml/l de Quitomax, bioestimulantes del desarrollo, de acuerdo con la metodología sugerida por Suárez (Suárez, comunicación personal, 15 de febrero de 2019) para medir su efecto sobre el crecimiento en las plantas sometidas a estrés hídrico provocado por 12 g/l de PEG (Suárez y Hernández, 2015; Morales *et al.*, 2015).

El pH del medio fue ajustado a 5.5 y se usó agar 6 g/l como solidificante. El cuarto de crecimiento se mantuvo a una temperatura de 30 °C, con un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 horas de obscuridad, y una intensidad lumínica de 2 000 lux. Se evaluó el crecimiento vegetativo y desarrollo radicular de las vitroplantas por un período de 90 días. Este experimento permitió seleccionar la población de mutantes de clones irradiados que mostraron tolerancia a la sequía bajo cultivo *in vitro*. Se realizaron un segundo y tercer subcultivos de las plantas de los diferentes tratamientos, los cuales fueron establecidos de nuevo en los mismos tratamientos que contenían PEG. Se utilizó un diseño factorial con distribución completamente al azar; para cada variedad, se realizó un experimento por separado.

Se evaluaron los siguientes factores: presencia de irradiación (irradiadas, no irradiadas) y medio de cultivo (T1: medio MS, T2: MS + 6 g/l de PEG, T3: MS + 12 g/l de PEG, T4: MS + 18 g/l de PEG, T5: MS + 24 g/l de PEG, T6: MS + 12 g/l de PEG + Pectimorf, T7: MS + Pectimorf, T8: MS + 12 g/l de PEG + Quitomax y T9: MS + Quitomax). El medio MS semisólido con 30 g/l de sacarosa tiene un potencial hídrico de -0.80 MPa. Cuando el medio de cultivo es suplementado con 0.4 M de sorbitol y 0.012 M de PEG, el potencial hídrico es de -2.05 y -1.30 MPa, respectivamente. La disolución del azúcar en el medio de cultivo causa una disminución del potencial hídrico del medio. Bajo condiciones *in vitro*, la disminución del potencial hídrico se observa al incrementarse la concentración del polieti-

lenglicol (Placide *et al.*, 2016). La unidad experimental la constituyó un nudo vegetativo sembrado en un tubo de ensayo; se manejaron cuatro repeticiones establecidas al azar. Se utilizó el modelo lineal generalizado mixto; las variables de respuesta que se midieron fueron: número de raíces, longitud de raíz (cm), número de hojas y altura de la planta (cm). Las variables fueron medidas en los diferentes tratamientos a los 15, 45 y 90 días. Luego de la toma de datos fueron sembrados nuevamente en los mismos tratamientos. El análisis de los datos se realizó mediante el programa Infostat. Se utilizaron modelos generales y mixtos. Para un mejor ajuste del modelo, se aplicó función Varident para cumplir el supuesto de homogeneidad de varianzas y normalidad de datos, donde se seleccionó el modelo que presentaba los valores de AIC y BIC (criterios de Akaike y Bayesiano) más bajos. Se realizó la prueba LSD Fisher para la comparación de las medias de los datos obtenidos.

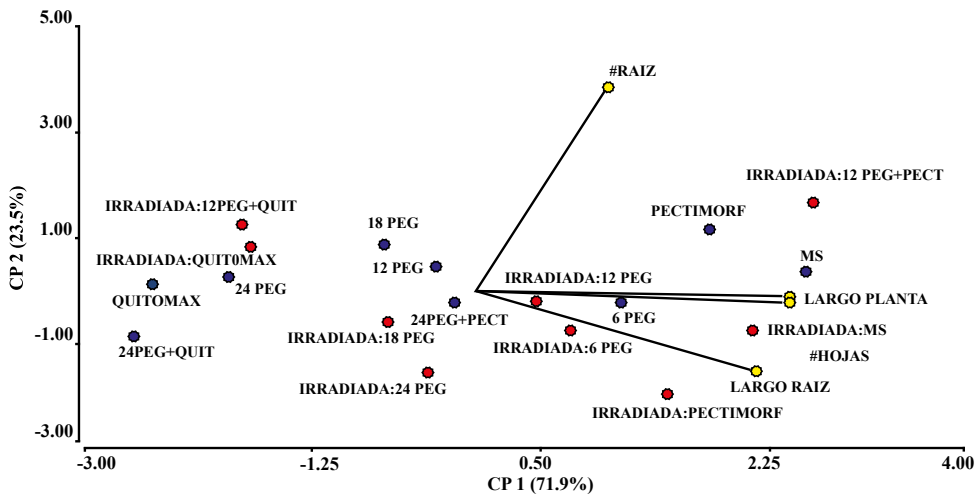
En la variedad CIP 440004, para la longitud de planta, se determinó una diferencia estadística significativa entre las plantas irradiadas y no irradiadas, observándose un mayor crecimiento en las plantas irradiadas. Asimismo, se observó diferencia significativa entre los diferentes medios de cultivo utilizados; la prueba de significancia mostró que el medio MS (grupo A) fue estadísticamente superior, seguido por el medio MS suplementado con Pectimorf, el medio MS adicionado con 12 g/l de PEG y Pectimorf, y el medio con 6 g/l de PEG (grupo AB). Era de esperarse que las medias de longitud de planta en medio MS fueran superiores a las medias de los tratamientos con PEG; por otro lado, debido a que el Pectimorf es utilizado para lograr un mayor desarrollo de las plantas, se observó que anuló el efecto del PEG. Se obtuvo una respuesta mayor en el crecimiento de las plantas en un medio de cultivo con 12 g/l de PEG (grupo BC) que en un medio con 18 g/l de PEG (grupo CD) y con 24 g/l de PEG (grupo DE); se considera que estas plantas son tolerantes a la sequía bajo condiciones *in vitro*.

Para el número de hojas, se determinó que existe diferencia significativa entre el factor A (irradiadas/no irradiadas), factor B (medio de cultivo) y la interacción; se realizó una prueba de significancia mediante la prueba LSD Fisher. Se observó que las plantas irradiadas en medio MS, las irradiadas en medio suplementado con 12 g/l de PEG y Pectimorf y las no irradiadas sembradas en medio MS fueron estadísticamente iguales (grupo A); se advirtió el efecto estimulante del Pectimorf y la irradiación sobre un mayor número de hojas en las plantas, aun con 12 g/l de PEG. Las plantas irradiadas y no irradiadas en medio con Pectimorf y las no irradiadas en medio conteniendo 6 g/l de PEG (grupo AB) muestran el efecto estimulante del Pectimorf. La concentración de 6 y 12 g/l de PEG en plantas irradiadas fueron estadísticamente iguales (grupo B); se registró en estas un mayor número de hojas que en las plantas irradiadas en medio conteniendo 18 y 24 g/l de PEG y no irradiadas, en 12 y 18 g/l de PEG (grupo BC).

Para el largo de raíz, se determinó que existe diferencia significativa entre tratamientos; la prueba de significancia mostró una respuesta superior de desarrollo de raíces en las plantas sembradas en medio MS (grupo A). Las plantas sembradas en medio suplementado con Pectimorf (grupo B) presentaron un mayor desarrollo de raíces. Se evidencia nuevamente el efecto bioestimulante del Pectimorf, producto utilizado comúnmente para obtener un mejor desarrollo de raíces en las plantas. Se observó que los tratamientos con una concentración de 12 y 18 g/l de PEG y 12 g/l de PEG más Pectimorf (grupo BC) son estadísticamente iguales, mostrando un mayor desarrollo de raíces respecto de otros tratamientos.

Se llevó a cabo un análisis de componentes principales para las variables longitud de planta, número de hojas, longitud de raíces y número de raíces, para determinar la correlación entre variables. Se presentaron los datos obtenidos con las plantas irradiadas (puntos rojos) y las plantas no irradiadas (puntos azules) (figura 1). Se obtuvo una correlación positiva entre número de raíces y longitud de planta, así como entre número de hojas y longitud de raíz. El tratamiento que mostró una mejor respuesta al estrés hídrico de las plantas para estas variables fue 12 g/l de PEG, resultado que concuerda con Agili *et al.*(2009), quienes a una concentración de 15 g/L de PEG obtuvieron genotipos que exhibían raíces largas superiores a genotipos tolerantes a la sequía provenientes de Kenia. Las plantas irradiadas con 18 y 24 g de PEG desarrollaron un crecimiento menor al igual que las plantas no irradiadas con 12 y 18 g de PEG.

Figura 1. Componentes principales, variedad CIP 440004



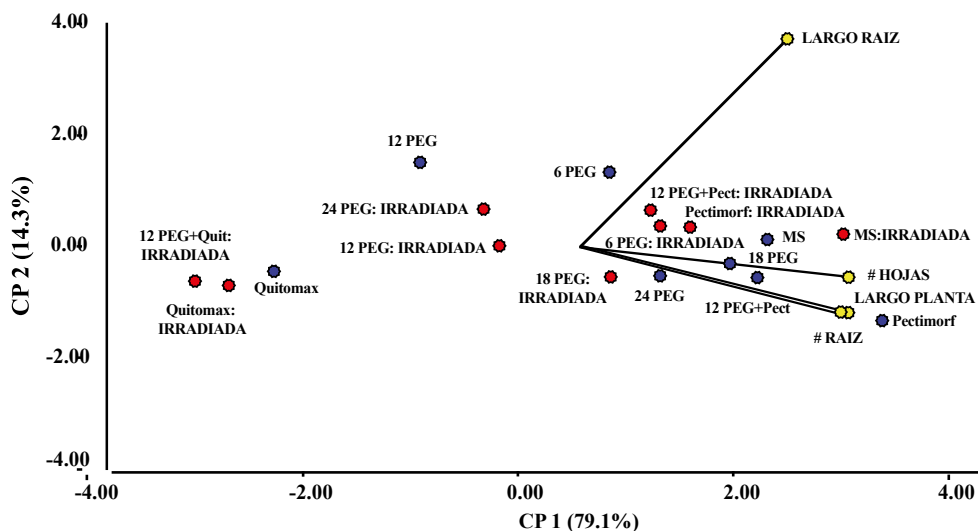
Fuente: elaboración propia.

Para la variedad ICTA Dorado en el largo de planta, se obtuvo diferencia significativa entre tratamientos y en la interacción, y se realizó una prueba de significancia entre los mismos. Se registró la media más alta en las plantas no irradiadas en el medio MS suplementado con Pectimorf (grupo A), evidenciando el efecto bioestimulante del Pectimorf, seguidas de las plantas no irradiadas sembradas en medio MS con 18 g/l de PEG (grupo AB); lo que muestra que estas plantas soportaron el estrés hídrico ocasionado por el PEG. Un tercer grupo está compuesto por las plantas no irradiadas en medio suplementado con 12 g/l de PEG y Pectimorf (grupo ABC), donde este último anuló el efecto del PEG y permitió el crecimiento de las plantas. El cuarto grupo lo conformaron las plantas irradiadas que fueron sembradas en medio de cultivo con 6 g/l de PEG (ABCD), y el quinto grupo estuvo constituido por las plantas irradiadas en medio MS suplementado con Pectimorf y sin este (grupo ABCDE), y las no irradiadas en medio MS. En estos grupos, no hubo estrés hídrico, lo que permitió que se desarrollaran. Es importante señalar que plantas no irradiadas en medio MS con 24 g/l de PEG y plantas irradiadas en un medio con 18 g/l de PEG (grupo CDEF) alcanzaron una media superior respecto a otros tratamientos. De igual forma, otras plantas irradiadas crecieron en medio de cultivo con 24 g/l de PEG (grupo DEFG); estos grupos de plantas se vieron sometidos a estrés hídrico ocasionado por las concentraciones de PEG en el medio del cultivo en el que se desarrollaron.

En el número de hojas se determinó que existía diferencia significativa entre tratamientos y en la interacción. Al realizar la prueba de significancia, se observaron las medias más altas en plantas sembradas en medio suplementado con Pectimorf y medio MS, así como en las plantas sembradas en medio con 12 g/l de PEG + Pectimorf; el bioestimulante anuló el efecto del PEG. Plantas no irradiadas sembradas en medio con 18 g de PEG (grupo ABCD) y 24 g/l de PEG (grupo BCD) alcanzaron una media alta, seguidas por plantas irradiadas en medio de cultivo con 12 y 18 g/l de PEG (grupo CD), plantas que muestran tolerancia a altas concentraciones de PEG. En el largo de raíz, se determinó que existió diferencia significativa entre tratamientos; al realizar la prueba de significancia, se advierten las medias más altas en plantas sembradas en medio de cultivo MS y en medio MS con 6 g/l de PEG (grupo A), donde no hubo estrés hídrico. Continuamente, se observan las plantas sembradas en medio con Pectimorf y en medio con 12 g/l de PEG y Pectimorf (grupo AB), lo que demuestra el efecto estimulante de este último al obtener una media alta. Otras plantas sembradas en medio con 12 g/l de PEG presentaron una media alta (grupo AB), así como las plantas sembradas en medio con 18 y 24 g/l de PEG (grupo B), plantas que soportaron el estrés hídrico provocado por las concentraciones de PEG.

En la figura 2, se presenta el análisis de componentes principales para las variables longitud de planta, número de hojas, longitud de raíces y número de raíces en la variedad ICTA Dorado; se presentan los datos obtenidos con las plantas irradiadas (puntos rojos) y las plantas no irradiadas (puntos azules). Se muestra una correlación positiva entre número de raíces, longitud de planta y número de hojas, así como entre número de hojas y longitud de raíz. El tratamiento que mostró una mejor respuesta para estas variables es: plantas no irradiadas en medio de cultivo con 18 g/l de PEG; seguido por plantas no irradiadas con 24 g/l de PEG, y plantas irradiadas con 18 g/l de PEG. El resultado muestra una diferencia entre las plántulas, basada en los caracteres de crecimiento; la variedad ICTA Dorado no irradiada se desarrolló mejor en un medio que contenía 18 g/l de PEG y las plántulas de la variedad ICTA Dorado irradiadas desarrollaron raíces, longitud de planta y número de hojas menores a esa concentración de PEG. Resultados que concuerdan con Agili, Nyende, Ngamau, Masinde y Kapinga, 2009, quienes a una concentración de 15 g/l de PEG obtuvieron el desarrollo de raíces más largas solamente en algunos genotipos de Perú, debido a diferencias entre genotipos.

Figura 2. Componentes principales, Variedad ICTA Dorado



Fuente: elaboración propia.

Conclusiones

- Se estableció un protocolo para la selección de mutantes *in vitro* para tolerancia a estrés hídrico en el cultivo del camote.

- Pectimorf estimuló el crecimiento de las plantas *in vitro* de camote de ambas variedades.
- Para la variedad CIP 440004, las plantas irradiadas con 12 g/l de PEG mostraron una respuesta superior al estrés hídrico *in vitro*, seguidas de las plantas irradiadas con 18 y 24 g/l de PEG.
- Para la variedad ICTA Dorado, las plantas no irradiadas con 18 g/l de PEG mostraron una respuesta superior al estrés hídrico *in vitro*, seguidas de las plantas irradiadas con 18 g/l de PEG.

Inducción de estrés hídrico en variedades de papa⁵

La papa es una de las hortalizas tradicionales dentro de la agricultura guatemalteca, cuyas cosechas han sido destinadas principalmente al abastecimiento del mercado nacional y centroamericano. El sector productor de papa ha venido enfrentando múltiples problemas que inciden directamente en un bajo nivel de productividad, repercutiendo en la pérdida progresiva de los mercados. Dentro de los problemas más importantes, se encuentra el de las enfermedades que afectan al cultivo y, también, diferentes factores abióticos, como bajas temperaturas, sequía, salinidad y otros.

La sequía es uno de los factores más restrictivos sobre el crecimiento de las plantas y sobre la productividad de los ecosistemas terrestres en muchas regiones alrededor del mundo, en las cuales la disponibilidad de agua está llegando a ser cada vez más escasa, principalmente en las comunidades agrícolas. En lo que respecta a la papa, este es un cultivo considerado susceptible a la sequía y su producción se ve amenazada cuando ocurren frecuentes episodios de falta de agua. Tanto el rendimiento como la calidad de la producción se reducen cuando el potencial hídrico de suelo baja a -0.3 MPa. El estrés causado por la sequía es particularmente perjudicial durante la formación de tubérculos, afectando el número, tamaño y calidad de los mismos (Pino, 2013). Existe considerable investigación encaminada a entender los fundamentos fisiológicos, bioquímicos y genéticos de la tolerancia a la sequía en papa, que son indispensables para el mejoramiento de la producción del cultivo bajo condiciones de estrés hídrico. Al igual que para otros cultivos, la respuesta de la papa a la sequía está condicionada por la interacción del potencial genético de la planta, la etapa de desarrollo y el ambiente (Obidiegwu, 2015).

La utilización de la diversidad genética –natural e inducida– es un requerimiento básico en el mejoramiento de plantas para el desarrollo de variedades en un sistema

⁵ Aida Eleonora Ramírez Rodas

de producción de alimentos sustentable. Los mejoradores de plantas han recombina-do con éxito genes deseables a partir de la reserva genética existente y de especies emparentadas mediante el uso de la hibridación sexual, y también han tenido éxito en el desarrollo de nuevos cultivares con características deseables, tales como altos rendimientos y resistencia a factores bióticos y abióticos. El propósito de la inducción de mutaciones es mejorar la tasa de frecuencia de mutación, con el fin de seleccionar variantes apropiados al mejoramiento de plantas (Mohan Jain, 2010). El cultivo *in vitro* en combinación con la inducción de mutaciones puede acelerar un programa de mejoramiento genético, desde la generación de variabilidad, pasando por la selección, hasta la multiplicación de los genotipos deseados. En algunas especies de propagación asexual, la mutación, en combinación con el cultivo *in vitro*, puede ser la única vía de mejoramiento genético de un cultivar existente (Maluszynsky, 1995). La incorporación de estas técnicas ha probado ser una herramienta invaluable para producir variabilidad en las plantas y realizar una rápida multiplicación de los mutantes seleccionados bajo condiciones libres de patógenos. Es posible mejorar clones bien establecidos cam-biando ciertas características por medio de la inducción de mutaciones. Las técnicas de cultivo *in vitro* proveen el mecanismo para generar grandes poblaciones para la inducción de mutaciones, selección y rápida multiplicación de mutantes (IAEA, 2001).

La papa es considerada un modelo de planta para evaluar las ventajas que ofrecen los métodos de cultivo de tejidos vegetales y también para la inducción de mutacio-nes con fines de mejoramiento genético. Se utilizaron estos principios para realizar una investigación de tolerancia a sequía en la estación experimental de ICTA, loca-lizada en Quetzaltenango, Guatemala. Los objetivos fueron establecer protocolos estandarizados de inducción de mutaciones y seleccionar mutantes tolerantes a la sequía en tres variedades de papa. El material vegetal provino de los tratamientos de irradiación realizados, entre 2016 y 2017, de las variedades de papa Loman, Ictafrit y Tollocan. Se seleccionaron plantas de 6 variantes de Loman, 2 variantes de Icta-frit y 2 variantes de Tollocan. Se realizó la propagación *in vitro*, y se establecieron los tratamientos con polietilenglicol (PEG), según la metodología descrita por Pino (2013). El medio de cultivo fue Murashige y Skoog adicionado con sacarosa 20 g/l; agar 7.5 g/l y PEG 0 g/l (C1), PEG 40 g/l (C2) y PEG 80 g/l (C3); estas concentraciones corresponden a un potencial de agua (MPa) con valores de -0.021 , -0.362 y -0.478 , respectivamente. El pH del medio fue ajustado a 5.7. Un potencial hídrico del suelo desde 0 a -0.3 MPa es característico de plantas bien irrigadas; cuando los valores se encuentran debajo de -0.4 MPa, corresponden a un estrés hídrico moderado, y valores del potencial hídrico de -1.5 a -2.0 MPa representan un estrés severo y pér-

didada permanente de turgencia. Sin embargo, estos valores varían entre especies y el modelo de sequía utilizado (Osmolovskaya, 2018).

Una de las aplicaciones más promisorias de los modelos basados en soluciones de PEG como estresante osmótico es la selección de compuestos protectores potenciales contra la sequía. Es decir, compuestos que influyen en el desempeño de las plantas y que se definen en agroquímica como fitofectores que aumentan la tolerancia al estrés causado por la sequía (Osmolovskaya, 2018).

Las condiciones de cultivo *in vitro* durante 4 semanas fueron temperatura de 25 °C, con un fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 horas de obscuridad, y una intensidad lumínica de 4 000 lux. Se evaluó el crecimiento vegetativo y desarrollo radicular de las vitroplantas de las variedades mencionadas. Como testigo, se estableció un tratamiento con plantas sin irradiar. De acuerdo con la metodología sugerida por Suárez (comunicación personal, 15 de febrero de 2019), se realizó un segundo subcultivo de las plantas de las unidades experimentales que mostraron mayor longitud de plántula y desarrollo de raíz, en los mismos tratamientos de PEG, para las tres variedades de papa.

La variedad Loman alcanzó 100 % de sobrevivencia con una dosis de 25 Gy, con cualquiera de las concentraciones de PEG. Los tratamientos en los cuales se obtuvo una menor sobrevivencia, 70 %, fueron los variantes de la dosis 50 Gy, con la concentración C3, 80 g/l PEG. En el tratamiento testigo, se observó entre 90 y 100 % de sobrevivencia con cualquiera de las concentraciones de PEG. En la variedad Ictafrit, la sobrevivencia descendió hasta 60-70 %, con la concentración C3, 80 g/l de PEG, para cualquiera de los clones estudiados. Se deduce que a mayor concentración de PEG, más dificultad tienen las vitroplantas para adsorber los nutrientes y agua del medio de cultivo. Los porcentajes más altos de sobrevivencia (100 %) correspondieron a Tollocan 25 Gy. Los porcentajes de sobrevivencia se mantuvieron relativamente altos (80-90 %) para todos los clones, independientemente de la concentración de PEG. La sobrevivencia por sí sola no es un indicativo de la tolerancia al estrés hídrico, ya que hay otras variables que son más representativas de la tolerancia de los clones a la sequía, como la longitud de raíz y el número de raíces.

Para la variable longitud de plántula, en las tres variedades de papa, se determinó que existía diferencia estadística significativa entre tratamientos. Se observó que, en todos los tratamientos con la concentración PEG 1, 0 g/l PEG, las medias de longitud de plántula fueron superiores sobre las medias de los tratamientos con PEG; esto era de esperarse, ya que no existía una barrera osmótica que impidiera la libre adsorción de nutrientes. Con la concentración de PEG 2, 40 g/l, se obtuvo una respuesta superior en longitud de plántula, para Loman 25 Gy (figura 3). La concentración PEG C3, 80 g/l, Loman 25 Gy, fue estadísticamente superior a los otros clones y al testigo. Hay que considerar que

esta concentración es el equivalente a -0.478 Mpa, y se ha determinado que el cultivo de la papa presenta problemas de crecimiento cuando el contenido de agua en el suelo cae debajo de -0.3 MPa (Pino, 2013; Osmolovskaya, 2018). En la variedad Ictafrit, se determinó que existía significancia para los factores dosis de irradiación, concentración de PEG y para la interacción entre ambos factores. La concentración $1, 0$ g/l PEG, mostró las medias más altas de longitud de plántula. La concentración PEG $2, 40$ g/l, con Ictafrit 25 Gy, obtuvo una media superior a los otros tratamientos. Tollocan testigo y Tollocan 10 Gy se ubicaron en el mismo grupo de medias, para la concentración $1, 0$ g/l PEG, al igual que, en el caso de las variedades Loman e Ictafrit, se preveía este resultado porque no se aplicó el agente osmótico PEG en el medio de cultivo.

Figura 3. Variante Loman tratada con 25 Gy, en comparación con el testigo sin irradiación, con tres concentraciones de PEG adicionado in vitro (de izquierda a derecha $C1=0$ g/l, $C2=40$ g/l y $C3=80$ g/l)



Fuente: elaboración propia.

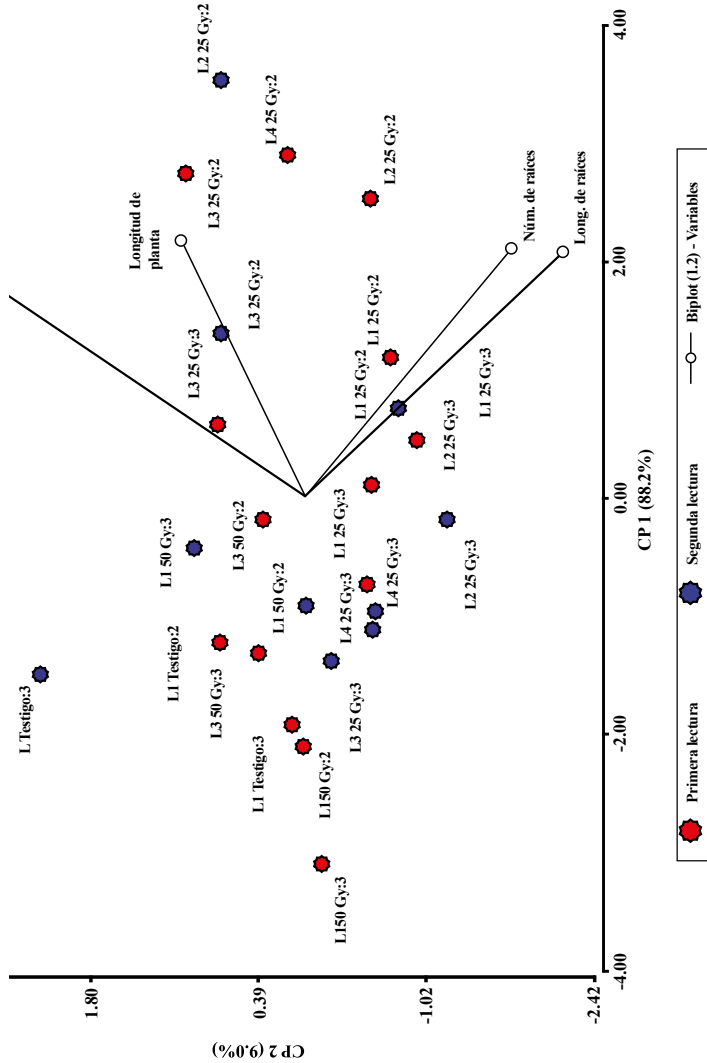
Para la variable longitud de raíz, se procedió a realizar una prueba de significancia para cada factor, mediante la prueba LSD Fisher. Para el factor dosis, se determinó que la media de longitud de raíz, del tratamiento Loman 25 Gy, fue superior estadísticamente a los otros tratamientos, incluyendo al testigo. Respecto al factor concentración, se encontró que, con la concentración PEG 1 (0 contenido de PEG), se logró la media más alta de longitud de raíz, seguida de la concentración PEG 2 (40 g/l) y, por último, la concentración PEG 3 (80 g/l). Estos resultados tienen

sentido si se considera que, conforme aumenta la concentración de PEG, las raíces se ven inhibidas, en su longitud, por la presencia del agente osmótico. Los tratamientos Ictafrit 10 Gy y 25 Gy, concentraciones PEG C1 y C2, no presentaron diferencia estadística en sus medias para la variable longitud de raíz, constituyendo un solo grupo, pero sí mostraron diferencia con respecto al testigo para las mismas concentraciones. El tratamiento Ictafrit 10 Gy, concentración 3 (PEG 80 g/l), superó a los otros tratamientos. Para la variedad Tollocan, de acuerdo con la prueba de comparación de medias del factor concentración, se determinó que existen dos grupos, el de la concentración 1 (0 contenido de PEG), y el grupo 2, que contiene las concentraciones C2 y C3 de PEG, 40 y 80 g/l de PEG, lo que significa que cualquiera de estas concentraciones tiene igual efecto sobre la longitud de raíz de los tratamientos evaluados.

Mediante el análisis de varianza multivariado (MANOVA), utilizando componentes principales, se determinó una correlación positiva entre las variables longitud de planta y número de entrenudos, así también entre las variables longitud de raíces y número de raíces. Esta tendencia se manifestó en las tres variedades de papa estudiadas, por lo que a continuación se muestra el análisis de la variedad Loman.

El tratamiento que mostró una mejor respuesta para todas las variables es Loman 3 25 Gy, concentración C1 (PEG), en dos subcultivos. Le siguen otros tratamientos, incluyendo al testigo, pero todos corresponden al tratamiento PEG de la concentración C1 (0 g/l), lo que significa que en realidad no estuvieron sometidos al estrés hídrico en el que se encontraban los tratamientos de PEG C2 y C3 (40g/l y 80 g/l). Se llevó a cabo de nuevo el análisis de componentes principales, sin incluir las medias de los datos correspondientes a los tratamientos con la concentración C1 de PEG, con el fin de determinar el tratamiento con la mejor respuesta en todas las variables bajo el estrés osmótico que causa el PEG con las concentraciones C2 y C3. El biplot de los componentes principales muestra, al igual que en el primer análisis, la existencia de una correlación positiva entre las variables longitud de plántula y número de entrenudos, así como entre la longitud de raíces y el número de raíces (figura 4). El tratamiento que mostró mejor respuesta con una mayor longitud de planta, longitud de raíces, número de raíces y número de entrenudos es Loman 2 25 Gy, con la concentración PEG C2 (40 g/l), también presentó consistencia con la segunda lectura; le siguen los tratamientos Loman 3 25 Gy y Loman 4 25 Gy, con la misma concentración PEG C2 (40 g/l). Los tratamientos en los que las vitroplantas se vieron más afectadas por el estrés osmótico fueron Loman 1 50 Gy y el testigo con concentraciones PEG C2 y C3. Los resultados concuerdan tanto con el análisis de varianza como con el análisis de componentes principales, ya que las variantes que dieron mejor respuesta fueron Loman 2, Loman 3 y Loman 4, irradiados a 25 Gy, tratados con la concentración C2, 40g/l PEG.

Figura 4. Gráfica de componentes principales, variedad Loman



Fuente: elaboración propia.

De acuerdo con Pino (2013), la tolerancia a la sequía se considera genotipo dependiente, sin embargo, la longitud y la capacidad de absorción del sistema radicular son críticas; la relación raíz/brote se incrementa conforme el estrés hídrico aumenta. Bajo condiciones de estrés osmótico, se ha observado un incremento en la concentración de prolina libre, la cual actúa como un agente osmótico, protegiendo a las plantas de la deshidratación. Se ha sugerido que la prolina participa realizando múltiples funciones en plantas bajo estrés, particularmente en la estabilización de proteínas y membranas proveyendo una fuente de carbono, nitrógeno y energía durante la rehidratación de las células. Se encuentra bien documentado que, en efecto, el PEG reduce el potencial hídrico del medio de cultivo *in vitro*, de ahí que interfiere con la absorción de agua por parte de las raíces aproximadamente 5 a 20 % o hasta 40 % de partes de agua por el volumen total. En PEG hace posible una reducción aún estable del potencial hídrico durante cualquier período requerido de tiempo. Una característica muy importante del uso de PEG en el medio de crecimiento *in vitro* es que permite el establecimiento de experimentos de recuperación mediante el subcultivo de las plantas estresadas a un medio libre de PEG o el cambio de la solución de PEG (Osmolovskaya, 2018).

Conclusión

- Se estableció un protocolo para la selección de mutantes *in vitro*; se obtuvieron variantes de papa de las variedades Loman, Ictafrit y Tollocan, irradiadas con 25 Gy, que mostraron tolerancia a la sequía bajo condiciones *in vitro*, con una concentración de 40 g/l de PEG

Referencias

- AGILI, S., Nyende, B., Ngamau, K., Masinde, P. & Kapinga R. (2009). *In vitro* screening for drought tolerance of orange-fleshed Sweetpotato genotypes. In: 15° Triennial ISTRC Symposium International Society for Tropical Root Crops.
- Barra, M, Correa, J. & Salazar, E. (2013). Response of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Germplasm to water stress under *in vitro* conditions. *Am. J. Potato Res.*, 90,591-606.
- CIP. (2020). Programa de Sistema Agroalimentarios de Camote. Perú. Recuperado de <https://cipotato.org/es/investigacion/programa-sistemas-agroalimentarios-camote/>
- HARVESTPLUS. (2020). Guatemala cuenta con un cultivo más para derrotar al hambre oculta: camote de pulpa anaranjada con vitamina A. Recuperado de <https://lac>.

- harvestplus.org/guatemala-cuenta-con-un-cultivo-mas-para-derrotar-al-hambre-oculta-camote-de-pulpa-anaranjada-con-vitamina-a/
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA) (2001). *In vitro* techniques for selection of radiation induced mutations adapted to adverse environmental conditions. Austria: IAEA.
- ICTA. (2002). Induced mutations and biotechnology for crop improvement. Progress Report 1997-1998. PROJECT GUA/5/012. Guatemala.
- MARTÍ, H. R., Corbino, G. B. y Chludil, H. D. (2011). La batata, el redescubrimiento de un cultivo. *Ciencia Hoy*. Recuperado de <http://www.cienciahoy.org.ar/ln/hoy121/index.htm>
- MALUSZYNSKY, M., Ahloowalia, B. S. & Sigurbjornsson B. (1995). Application of *in vivo* and *in vitro* mutation techniques for crop improvement. *Euphytica*, 85, 303-315.
- MOHAN, S. (2010). Mutagenesis in crop improvement under the climate change. *Romanian Biotechnology Letters*, 15(2), 88-106.
- MOLINA, L. (1997). Determinación de la dosis adecuada de irradiación gamma para inducir mutaciones con fines de mejoramiento genético en seis variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris*). Guatemala: Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas.
- MORALES, D., Torres, L., Jerez, E., Falcón, A. y DellÁmico, J. (2015). Efecto del Quitomax en el crecimiento y rendimiento del cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.). *Cultrop*, 36(3),1-8.
- MORENO, L., Reyes, M., Gómez Kosky, R. y Chong-Pérez, B. (2017). Mínima concentración de polietilenglicol 6000 para seleccionar *in vitro* plantas de *Musa spp.* Tolerantes a estrés hídrico. *Biociencia Vegetal*, 17(2),125-133.
- OBIDIEGWU, J. E. (2015). Coping with drought: stress and adaptive responses in potato and perspectives for improvement. *Frontiers in Plant Science*, 6. DOI: 10.3389/fpls.2015.00542
- ORELLANA, A. D. (2012). Catálogo de hortalizas nativas de Guatemala. Guatemala: Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas.
- OSMOLOVSKAYA, N. (2018). Methodology of Drought Stress Research: Experimental Setup and Physiological Characterization. *Int. J. Mol. Sci.*, 19, 4089. DOI:10.3390/ijms19124089
- PINO, M. T. *et al.* (2013). Enhanced *in vitro* drought tolerance of *Solanum tuberosum* and *Solanum commersonii* plants overexpressing the *ScCBF1* gene. *Cien. Inv. Agr.* 40(1),171-184.

- PLACIDE, R., Shimelis, H., Laing, M. & Daphrose, G. (2016) Greenhouse and *in vitro* screening of sweetpotato genotypes for drought tolerance. *Res. On Crops*, 17(3), 568-578.
- SOTO, J. J. y Molina, L. (1998). *Mejoramiento genetico de frijol (Phaseolus vulgaris L.) utilizando mutaciones inducidas con rayos gamma*. Guatemala: Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas.
- SUÁREZ, L. y Hernández, M. M. (2015) Efecto del Pectimorf® en el cultivo de ápices de plantas *in vitro* de yucca (*Manihot esculenta* Crantz), clones “CMC-40 y Señorita. *Cultrop*, 36(4).
- VILLATORO, J. C. y Ponciano, K. M. (2011). Informe Proyecto Regional RLA/5/056 Mejora de los cultivos alimentarios en América Latina por mutación inducida. ICTA-AIEA.

CAPÍTULO 8

MÉXICO: MEJORAMIENTO GENÉTICO PARA LA TOLERANCIA A INCREMENTOS DE TEMPERATURA POR EL CULTIVO DE TRIGO (*TRITICUM TURGIDUM* SSP. *DURUM*)

*Sergio Ahumada Flores,¹ Luz Rayda Gómez Pando,² Fannie Isela Parra
Cota,³ Eulogio de la Cruz Torres,⁴ César Daniel Petroli,⁵
Jaime Garatuza Payan,¹ Sergio de los Santos Villalobos^{1*}*

Resumen

A nivel mundial, el trigo es uno de los cereales más utilizados en la alimentación humana; en México, este cereal ocupa el segundo lugar después del maíz. Sin embargo, su productividad es afectada negativamente debido al incremento de la temperatura en el ambiente, disminuyendo aproximadamente 6 % por el incremento de cada grado centígrado. Por lo tanto, la producción de trigo demanda la generación de nuevos cultivares con la capacidad de tolerar los incrementos de temperatura pronosticados bajo el escenario del cambio climático. En el presente trabajo, las dosis estudiadas en el ensayo de radiosensibilidad fueron de 0 a 600 Gy, mientras que en el experimento de campo se evaluaron las dosis de 100, 200 y 300 Gy. Las semillas (M_0) de trigo se irradiaron usando ^{60}Co , la generación M_1 se sembró durante el ciclo 2016-2017, evaluando el porcentaje de germinación, porcentaje de sobrevivencia y altura de la planta. El material colectado de la generación M_2 se sembró durante el ciclo 2017-2018 para la identificación mutantes clorofílicos y el desarrollo de germoplasma para la generación M_3 . En el experimento de campo y prueba de radiosensibilidad del material

¹ Instituto Tecnológico de Sonora, México

² Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú

³ Campo Experimental Norman E. Borlaug INIFAP, México

⁴ Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares, México

⁵ CIMMYT-Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, México

* sergio.delossantos@itson.edu.mx

de la generación M_1 , el porcentaje de germinación, porcentaje de sobrevivencia y altura de la planta fueron negativamente afectados por las dosis de rayos gamma utilizadas, obteniendo en la prueba de dosimetría una dosis letal media (DL_{50}) de 290.6 Gy. Además, se encontraron catorce tipos diferentes de mutantes clorofilicos en la generación M_2 , los cuales pueden ser de gran ayuda para identificar la dosis efectiva de un mutágeno, aumentando, así, la variabilidad y la cantidad de mutantes útiles. Por otra parte, diversos mutantes agronómicos fueron identificados: mutantes tardíos, de mayor altura, con enanismo, sin glaucosidad, con tricomas y distintas morfologías en la espiga, los cuales pueden utilizarse como fuente de potenciales genes en programas de fitomejoramiento. El material M_3 recolectado se sometió a estrés térmico (+4 °C) desplazando la fecha de siembra de noviembre 2018 a marzo 2019, y se evaluó el rendimiento de 264 líneas obtenidas de la generación M_4 , comparándolo con el rendimiento del parental bajo condiciones de estrés y condiciones óptimas. Lo anterior permitió identificar 41 líneas con un incremento mayor a 15 % en el rendimiento comparado con el parental, utilizando 170 unidades de nitrógeno (urea) y 2 riegos.

Introducción

Las mutaciones son cambios heredables en la composición genética de un individuo, consideradas como causa de la evolución. Los individuos con ciertas características adaptativas promisorias (mutantes) suelen ser seleccionados preferentemente en la naturaleza, debido a su aptitud superior derivada de estos rasgos o de manera artificial por el hombre (FAO/IAEA, 2018a).

La inducción de mutaciones ha sido utilizada desde 1930, iniciando con la liberación de la primera variedad mutante de tabaco llamada chlorina (Tollenaar, 1934, 1938; Coolhaas, 1952; Konzak, 1957). Esta técnica es usada para acelerar el proceso de desarrollo y selección de nuevos rasgos agronómicos de importancia para la seguridad alimentaria, mediante el uso de la propia estructura genética de la planta e imitando el proceso natural de mutación espontánea (FAO/IAEA, 2020a). Lo anterior ha resultado en una estrategia eficaz para lograr una mayor diversidad genética en un cultivo, ya que permite inducir características deseadas que no se encuentran naturalmente (Novak y Brunner, 1992). Además, la inducción de mutaciones es una técnica rápida, accesible, comprobable, robusta, transferible y no daña el medio ambiente (FAO/IAEA, 2018b).

El mejoramiento por inducción de mutaciones se divide principalmente en tres etapas: 1) inducir mutaciones, 2) realizar un escrutinio de mutantes candidatos, y

3) realizar pruebas de homogeneidad, estabilidad y distinción de los mutantes para su liberación oficial (FAO/IAEA, 2018a). Los mutantes liberados pueden usarse directamente como variedad o como parentales en cruza. Actualmente existen 3 346 variedades mutantes en más de 240 especies de plantas alrededor del mundo, las cuales están registradas en la base de datos FAO/IAEA (<https://mvd.iaea.org>), de las cuales aproximadamente 77 % fueron obtenidos mediante el uso de mutágenos físicos (rayos gamma, ^{32}P , y rayos X) y el resto por mutágenos químicos (EMS, colchicina y Etil-Nitrosourea) (Jankowicz-Cieslak *et al.*, 2017; FAO/IAEA, 2020b).

Los primeros experimentos de mejoramiento por inducción de mutaciones en México se llevaron a cabo en 1974, lo cual permitió obtener 2 variedades de trigo Bajío plus y Centauro, estas variedades se obtuvieron mediante la irradiación con 500 Gy de semillas de la variedad Salamanca, obteniendo mutantes con mayores rendimientos y mayor tolerancia al acame (Cruz-Izquierdo, 2012). Similarmente, se obtuvieron 2 variedades de soja Héctor y Esperanza, mediante la irradiación de semillas de la variedad Suaqui 86 a 150 Gy, obteniendo mutantes con mayores rendimientos, menor dehiscencia, tolerantes al acame y a la mosca blanca (Cruz-Izquierdo, 2012).

Por otra parte, otra variedad de soja, conocida como SalCer, fue obtenida a partir de la irradiación de semillas de la variedad ISAEGBM₂ a 200 Gy, dicha variedad mutante se caracteriza por tener altos rendimientos y vainas a una mayor altura del suelo (De la Cruz-Torres, 2008). Para el cultivo del arroz, se liberó la variedad Morelos A-2010, a partir de la variedad Morelos A-92, con moderada resistencia a *pyricularia* (*Magnaporthe grisea*) mediante la irradiación de 25 a 35 krad, conservando la calidad de la variedad Morelos A-92 –20 % de centro blanco–, pero sobresaliendo, además, por su rendimiento, adaptabilidad y calidad del grano (Salcedo y Barrios, 2012). Asimismo, en la horticultura ornamental, se ha obtenido la variedad de nochebuena Juanita, mediante irradiación de esquejes a 5 Gy, esta mutante se caracteriza por tener porte bajo, de anchura media y con ramificación intermedia; su principal distintivo es la forma deltoide de sus hojas con la base de forma cuneiforme y muchos lóbulos de profundidad media (Canul-Ku *et al.*, 2019).

Actualmente, existe un gran número de experimentos de mutagénesis radioinducida en México, utilizando diversos cultivos modelo, tales como frijol (*Phaseolus vulgaris*), frijol chino (*Vigna radiata*), girasol (*Helianthus annuus*), limón mexicano (*Citrus x aurantifolia*), mango (*Mangifera indica*), zarzamora (*Rubus ulmifolius*), agave (*Agave tequilana*), aguacate (*Persea americana*), vainilla (*Vanilla planifolia*), amaranto (*Amaranthus* spp.), maíz (*Zea mays*), jatropha (*Jatropha curcas* L), huauzontle (*Chenopodium nuttalliae*), kiwi (*Actinidia deliciosa*), quinua (*Chenopodium*

quinoa) y chíá roja (*Salvia hispanica*). También están siendo sujetas a este proceso plantas ornamentales, tales como helicornia (*Helicornia L*), nardo (*Polianthes tuberosa*), lisiantus (*Eustoma russellianum*), orquídeas (*Orchidaceae*) y nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*) (Cruz-Izquierdo, 2012; De la Cruz-Torres y García-Andrade, 2019).

Estas estrategias de aceleramiento en la obtención de variedades mejoradas en la producción agrícola se deben a la proyección establecida de un aumento de la población mundial a 9 700 millones de personas para 2050, lo que generará un incremento de 50 % en la demanda de alimentos, forrajes y biocombustibles en comparación con esta producción en 2012 (FAO, 2017). En este sentido, entre otros factores, las condiciones climáticas, como el incremento de temperatura, sequías e inundaciones pronosticadas para años futuros, limitarán el éxito del sector agrícola para satisfacer la demanda de producción de alimentos, la seguridad alimentaria y la nutrición. Los cereales serán algunos de los cultivos que se verán afectados mayormente, ya que estos constituyen un conjunto de recursos de gran importancia para el ser humano, debido a sus nutrientes y su aporte energético, los cuales abastecen 80 % de la producción mundial de alimentos (Serna-Saldívar, 2009).

Importancia socioeconómica del trigo en México y en el mundo

En 2016, México ocupó la posición 19 a nivel mundial como país consumidor de trigo, importando aproximadamente 69 % de este cultivo para abastecimiento interno, el cual fue destinado en 90 % para consumo humano y el resto para forraje (Canimolt, 2016). De acuerdo con cifras de Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA), del volumen total de producción de trigo en México, 1.6 millones de toneladas correspondieron a trigo harinero, mientras 2.2 millones de toneladas correspondieron a trigo duro –el mercado nacional requiere alrededor de 722 mil toneladas para consumo humano, 737 mil toneladas para exportaciones, 276 mil toneladas para forraje, 39 mil toneladas de semillas para siembra y 8 toneladas de merma, sumando casi 1.8 millones de toneladas de demanda nacional total–, cabe destacar que México es un país autosuficiente para el trigo cristalino, donde el estado de Sonora –Valle del Yaqui y Valle del Mayo– es el principal productor de este cereal a nivel nacional, en pocas ocasiones superado por los estados de Baja California y Guanajuato (SIAP, 2018).

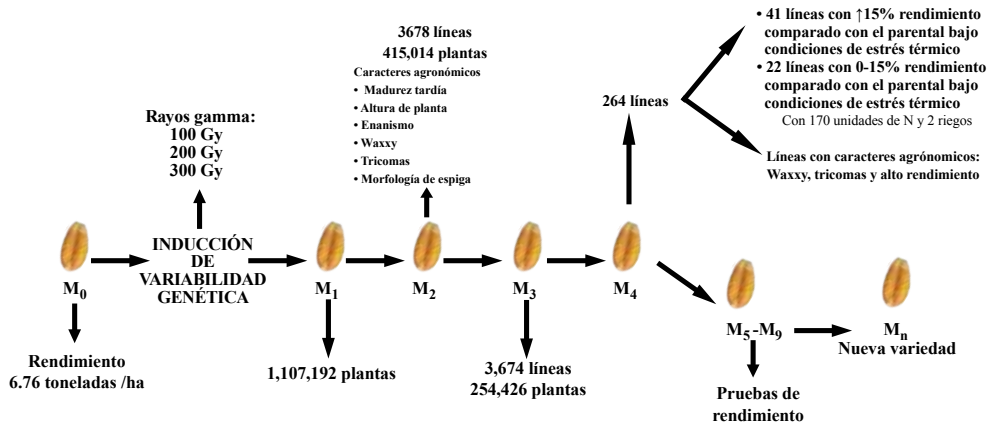
El trigo es el cereal más consumido por el hombre occidental y es cultivado en más de 115 países, siendo México uno de ellos. A nivel mundial, se espera que para 2024-2025 se produzcan al menos 2 800 millones de toneladas de cereales, de los

cuales 28 % corresponderá al trigo, aunque el mercado de este cereal podría verse afectado debido a condiciones climáticas desfavorables, como pérdidas de 6 % de rendimiento por el incremento de cada grado centígrado en la temperatura ambiente (Asseng *et al.*, 2015). Para abordar las posibles estrategias a llevar a cabo en la mitigación de los efectos del incremento de la temperatura a nivel global sobre la productividad del trigo, se utilizará como ejemplo un estudio realizado por nuestro equipo de investigación en el Laboratorio de Biotecnología del Recurso Microbiano. La investigación se basó en la irradiación con rayos gamma, de la variedad CIRNO C2008 a 100, 200 y 300 Gy, llevándose a cabo un análisis de dosimetría para establecer la DL_{50} del genotipo, y evaluándose las frecuencias de mutantes clorofílico y la aparición de mutantes de rasgos agronómicos.

Inducción de mutaciones en el cultivo del trigo mediante rayos gamma

Para desarrollar un proyecto de inducción de mutaciones, es necesario conocer cada una de las etapas implicadas en el mejoramiento de cultivos, las cuales van desde la elección del agente mutagénico y el material vegetal hasta los manejos adecuados en cada generación para lograr cada uno de los objetivos propuestos (figura 1).

Figura 1. *Esquema general de mejoramiento del cultivo de trigo para incrementar su tolerancia a incrementos de temperatura, mediante la inducción de mutaciones por rayos gamma.*



Fuente: elaboración propia.

Elección del agente mutagénico y el material vegetal

Los agentes mutagénicos se dividen principalmente en 1) físicos, los cuales comprenden el uso de todo tipo de radiaciones nucleares y fuentes de radioactividad, incluyendo la radiación UV, y 2) químicos, que comprenden el uso de agentes alquilantes, azida de sodio, bases análogas y agentes intercalantes (Szarejko, 2011). La elección del agente mutagénico dependerá de las instalaciones disponibles, de un conocimiento profundo del agente *per se* y del material a irradiar, y tener claros los objetivos del experimento. En este sentido, México cuenta con la infraestructura necesaria para realizar ensayos con mutágenos físicos, como es el caso del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), que cuenta con el equipo Transelektro LGI-01, el cual es un irradiador de ^{60}Co .

De esta manera, todas las partes de la planta pueden ser irradiadas, aunque algunas son más fáciles y accesibles que otras, tal como es el caso de las semillas. Estas son el material vegetal de preferencia, ya que pueden ser irradiadas en diversos entornos físicos y pueden ser almacenadas durante largos períodos de tiempo en refrigeración o en empaques herméticos. Además, cuando tienen un bajo contenido de humedad son casi inertes, por lo que se facilita el manejo y transporte a largas distancias. Sin embargo, este tipo de material vegetal necesita mayores dosis de irradiación, comparado con otras partes de la planta, debido a que la efectividad del mutágeno puede verse afectada, principalmente, por el oxígeno y el contenido de agua en el tejido, pero dichas dosis pueden disminuirse al embeber en agua las semillas antes de irradiarlas (FAO/IAEA, 2018a).

Dosimetría in vitro

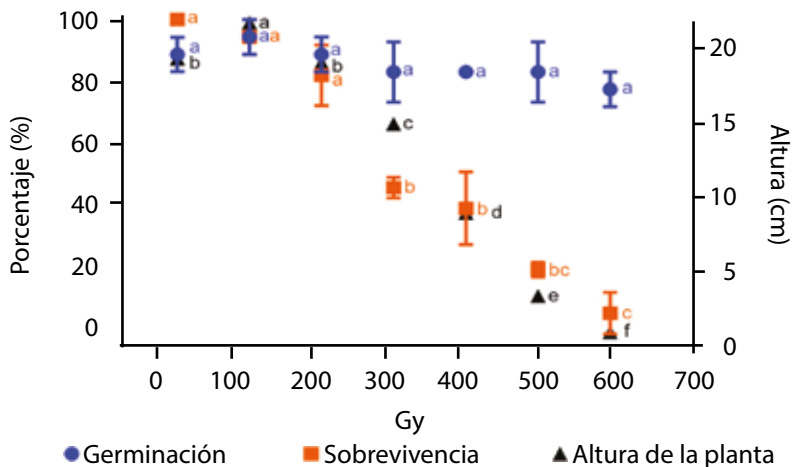
En radiobiología, los efectos biológicos aparecen cuando un organismo absorbe radiación por encima de un valor crítico, por lo que la dosis de absorción es el principal parámetro utilizado para caracterizar los efectos de la radiación (Feng y Yu, 2011). Así, la dosis letal media (DL_{50}) debe determinarse correctamente para seleccionar la dosis de irradiación adecuada, con la finalidad de obtener una mayor cantidad de mutaciones útiles sin disminuir la población por debajo de 50 %. De acuerdo con Brunner (1985), la dosis apropiada para irradiar trigo duro es de 150-300 Gy, por lo que se deben aumentar las dosis a evaluar entre 50 y 100 %. De esta manera, en el presente estudio, el material vegetal empleado –semillas de trigo duro variedad CIRNO C2008– se irradió a 100, 200, 300, 400, 500, 600 Gy, y el parental (0 Gy) se mantuvo como testigo. La selección de estas dosis se realizó con la finalidad de compensar probables pérdidas de información, ya que las cuantías apropiadas pueden variar entre

las variedades a irradiar, debido a factores biológicos –ciclo celular y genética–, ambientales –oxígeno, temperatura y contenido de agua– y químicos –composición de macromoléculas–, que pueden modificar la respuesta celular de las plantas alterando, así, la efectividad y eficiencia de los mutágenos utilizados (Mba, 2010).

Una vez que las semillas han sido irradiadas, se determinó la DL_{50} mediante un ensayo de dosimetría para definir la dosis apropiada de irradiación de la variedad de trigo Cirno C2008. Para ello, se realizó una prueba de germinación en arena/suelo (ISTA, 1985) con algunas modificaciones. Lo anterior permitió evaluar la germinación, sobrevivencia y altura de la planta. Para ello, fueron empleadas 400 semillas –4 repeticiones de 100 semillas–, y el ensayo se realizó de la siguiente manera: 1) se llenaron 4 charolas de germinación con 4 cm de una mezcla 70:30 de peat moss y suelo; 2) se colocaron 100 semillas separadas por espacios uniformes (2 cm) en cada una de las charolas; 3) se colocó una capa de la mezcla de suelo sobre las semillas, y 4) se incubaron las charolas a 20 °C, registrándose parámetros morfométricos al día 5, 7, 10 y 15 después de la siembra.

El porcentaje de germinación se calculó como el promedio de las plántulas en las 4 repeticiones por cada una de las dosis. Además, se determinó el porcentaje de sobrevivencia mediante el conteo de plántulas sanas después de 30 días, y se midió la altura de la planta desde el nivel del suelo al ápice de la primera hoja verdadera.

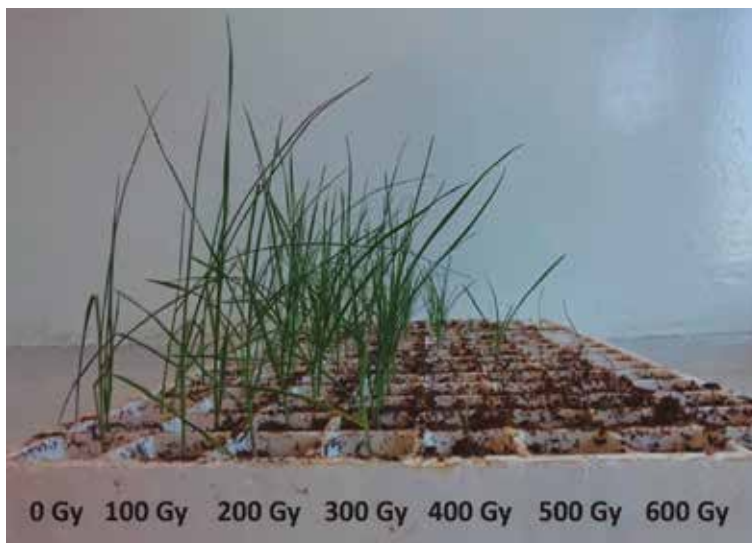
Figura 2. Porcentaje de germinación, sobrevivencia y altura de las plántulas de trigo variedad Cirno C2008, previa irradiación de las semillas con rayos gamma. Las letras indican diferencia significativa



Fuente: elaboración propia.

En las figuras 2 y 3, se muestra el efecto dosis-respuesta de la variedad de trigo Cirno C2008 irradiada con rayos gamma. La comparación se realizó entre los diferentes parámetros estudiados –porcentaje de germinación, sobrevivencia y altura de la planta– para determinar la DL_{50} .

Figura 3. *Sobrevivencia y altura de las plántulas de trigo de la variedad Cirno C2008, irradiada con rayos gamma. Fuente: imagen recuperada de Ahumada-Flores et al. (2020a)*



Fuente: elaboración propia.

Chaudhry (1983) e Irfaq y Nawab (2001) reportaron que el porcentaje de germinación y de sobrevivencia de las semillas irradiadas se ve afectado negativamente conforme la intensidad de la radiación aumenta. Borzouei (2010) reportó que la altura de la planta es mayor en dosis menores y, conforme aumenta la dosis, este rasgo disminuye. El aumento de la altura en dosis bajas (figuras 2 y 3) puede deberse a un estímulo en su crecimiento; esto posiblemente al cambiar la red de señalización hormonal en las células vegetales o al aumentar la capacidad antioxidante de las células para superar el estrés (Wi, 2007). Una vez realizado el estudio de dosimetría *in vitro* es posible escalar el experimento a nivel de campo, por lo que es necesario establecer un diseño experimental adecuado para la obtención de datos con alto valor.

Manejo de la generación M_1 en campo

En cualquier experimento de inducción de mutaciones, es importante utilizar la dosis correcta del mutágeno para evitar daños irreparables en la planta, pero que, a la vez, se induzcan suficientes mutaciones para la búsqueda de caracteres de interés, por lo que debe existir un balance entre la dosis del mutágeno y el tamaño de la población para que el experimento sea manejable para el mejorador (Suresh *et al.*, 2017).

La siembra de la generación M_1 se realizó bajo condiciones óptimas de manejo agrícola –fertilización con 240 unidades de nitrógeno y 100 kg de fosfato monoamónico–, en el mes de diciembre, siendo el período recomendado en el ciclo otoño-invierno, del 15 de noviembre al 15 de diciembre (Reynolds *et al.* 2006; Villalba *et al.* 2018). La fecha de siembra es un factor importante, ya que asegura el óptimo desarrollo de los mutantes; en algunos cultivos –plantas alógamas–, es recomendable retrasar la fecha de siembra de 2 a 3 semanas, con la finalidad de disminuir la tasa de polinización cruzada (Halsey *et al.*, 2005). Otro aspecto importante es el manejo de malezas, ya que el suelo debe estar libre de ellas para el desarrollo óptimo de las plántulas M_1 , por lo que se recomienda aplicar herbicidas preemergentes y posemgerentes para mantener ausencia de malezas en el área del cultivo.

Las evaluaciones que se realizaron durante la generación M_1 para la identificación de mutantes promisorios (figura 1) fueron: emergencia, sobrevivencia (30 días), identificación de quimeras, mutantes precoces, tardíos y la esterilidad de espigas.

La cosecha se debe realizar de acuerdo con la especie; se puede realizar cosechando espigas por planta, vainas por planta o de forma masal. Por ejemplo, en cereales, el potencial máximo de variabilidad genética inducida se encuentra en las espigas principales, debido a que surgen del meristemo primordial, ya diferenciado, presente en embriones de semillas tratadas (Jain *et al.*, 2013), es por eso que en el experimento se cosecharon las espigas principales de cada planta.

Efectos del mutágeno en la primera generación (M_1)

Entre los efectos que podemos esperar en la primera generación (M_1), se incluyen los reportados en el apartado “Dosimetría *in vitro*”, aunque también se puede observar un retraso en los días a espigamiento y maduración del cultivar. Según lo reportado por Din (2003) y Enrani (2012), tanto en el cultivo de trigo como en el del maíz, puede existir un retraso en estos parámetros conforme la dosis de radiación aumentó. Además, existe un gran número de efectos del mutágeno sobre las plantas, tales como efectos citológicos –ocasionando aberraciones fenológicas debido a disturbios en etapas de la meiosis– (Mensah *et al.*, 2005), esterilidad –puede deberse a una

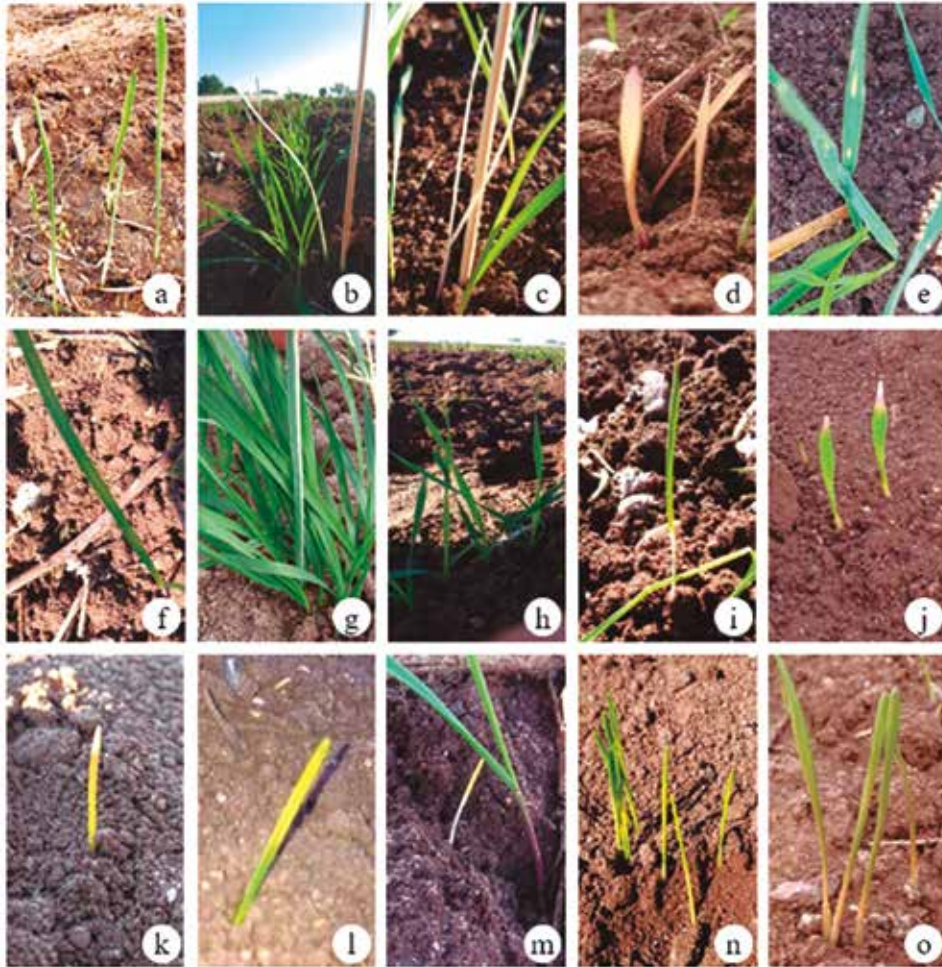
inhibición del crecimiento que impida la floración, flores sin desarrollo de estructuras reproductivas, o con óvulos o polen estéril, el aborto de espigas y la disminución de la germinación en la generación M_2 – (Chaudhury, 1993; FAO/IAEA, 2018a), y la aparición de quimeras –organismos compuestos por células de más de un genotipo que pueden deberse a un daño fisiológico– (Cagirgan, 2009).

Manejo, escrutinio y selección de mutantes en la generación M_2

Para la generación M_1 , se utilizó el manejo agronómico previamente descrito, fecha de siembra, evaluaciones y método de cosecha. En esta generación (M_2), se realizó el escrutinio y selección de mutantes promisorios; este proceso se puede realizar de diversas maneras, las cuales dependerán de la capacidad del personal para cubrir el área y número de mutantes a evaluar, debido a que la identificación de mutantes se puede realizar mediante métodos visuales de selección –suele ser muy eficiente–, métodos mecánicos, métodos físicos –parámetros poscosecha, tales como el tamaño de grano, forma, peso, entre otros–, y métodos específicos para la selección de mutantes tolerantes a estrés biótico y abiótico.

Durante esta generación, se realiza la identificación de mutantes clorofilicos, los cuales es posible que no tengan algún valor económico debido a su naturaleza letal, pero que son considerados como indicadores muy confiables para evaluar la eficiencia de diferentes mutágenos. Por otra parte, son utilizados como marcadores genéticos en investigación básica y aplicada, y pueden ser de gran ayuda para corroborar la dosis efectiva del mutágeno (Van-Harten, 1998; Kolar *et al.*, 2011). En el presente estudio, se identificaron 14 tipos diferentes de mutantes clorofilicos (figura 4), tales como: albina –no hay formación de clorofila ni carotenos–, antocianina –coloración rosácea-violeta–, clorina –generalmente de color amarillo-verdoso o amarillo-marrón–, maculata –destrucción de clorofila y/o carotenos en forma de manchas distribuidas sobre las hojas–, tigrina –destrucción transversal de pigmentos, normalmente son líneas transversales generalmente amarillas o marrones–, striata –líneas longitudinales de color blanco o amarillo en toda la hoja–, viridis –coloración amarillo verdosa uniforme–, viridoalbina –punta de color verde y base de la planta de color blanco–, alboviridis –punta de color blanco y base verde–, xantha –prevalencia de carotenos o ausencia de clorofila en la plántula–, xanthviridis –punta de color amarilla y base verde–, xanthalba –punta de color amarillo y base blanca o ligeramente coloreada–, viridoxantha –punta de color verde y base de la planta de coloración amarilla– y orange stem –coloración naranja en la base de la planta.

Figura 4. Espectro de mutantes clorofilicos en la generaci3n M₂ en el cultivo de trigo var. Cirno C2008, irradiado con rayos gamma



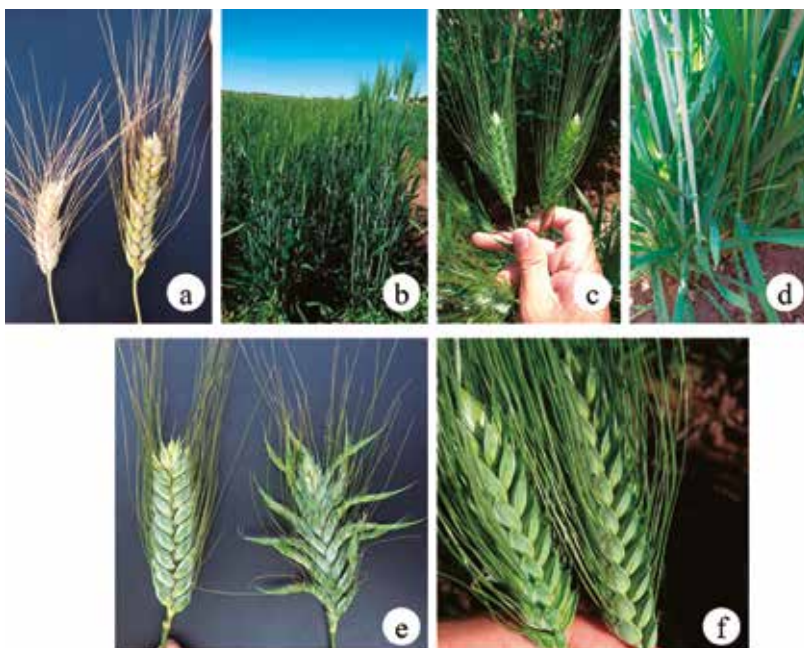
(a) Parental, (b) albina, (c) antiocianina, (d) clorina, (e) maculata, (f) tigrina, (g) striata, (h) viridis, (i) viridoalbina, (j) alboviridis, (k) xantha, (l) xanthviridis, (m) xanthalba, (n) viridoxantha, y (o) orange stem.

Fuente: imagen recuperada de Ahumada-Flores *et al.* (2020b).

Por otra parte, se encontraron diversos tipos de mutantes agron3micos en el escrutinio de la generaci3n M₂ (figura 5): mutantes tard3os, con enanismo y de mayor altura –estos pueden ocurrir debido a un complejo control gen3tico de estos rasgos, ya que involucra m3ltiples genes que operan en interacciones complejas–,

sin glaucosidad –puede deberse a la pérdida de función de los loci W1, W2 y W3, los cuales regulan la vía genética de la biosíntesis de las β -dicetonas–, mutantes de espiga de tipo ramificada –puede deberse a una pérdida de función en los alelos *vrs4*, los cuales promueven la fertilidad lateral de espiguillas– y con tricomas, los cuales pueden utilizarse como un reservorio de genes promisorios en programas de fitomejoramiento. Esta podría ser una estrategia útil, una vez que el mejoramiento convencional requiere de mucho tiempo y trabajo comparado con la inducción de mutaciones, además de contar con una fuente limitada de variabilidad genética como resultado de la domesticación de especies (Rauf, 2010).

Figura 5. Mutantes con rasgos fenotípicos y agronómicos en la generación M_2 , en el cultivo de trigo var. Cirno C2008, obtenidos por rayos gamma



(a) mutante de madurez tardía (izquierda-parental, derecha-mutante); (b) mutante de altura (izquierda-parental, derecha-mutante); (c) mutante de espiga non-glaucous (izquierda-parental, derecha-mutante); (d) mutante de tallo non-glaucous (izquierda-parental, derecha-mutante); (e) mutante de espiga de tipo ramificada (izquierda-parental, derecha-mutante), y (f) mutante de espiga con tricomas (izquierda-parental, derecha-mutante).

Fuente: imagen recuperada de Ahumada-Flores *et al.* (2020b).

Manejo e inducción de estrés térmico en la generación M₃ en campo y futuras generaciones

En esta etapa de selección, se llevó a cabo nuevamente un escrutinio de líneas mutantes mediante ensayos de progenie, con la finalidad de establecer si los rasgos encontrados en la generación M₂ son heredables y estables genéticamente, ya que puede darse el caso de encontrar mutantes con rasgos de interés, y que estos segreguen a un rasgo no deseado en generaciones posteriores, debido a su heterocigosidad y a la influencia del medio ambiente. Estos ensayos son de gran importancia para detectar mutantes que no hayan sido identificados en la generación M₂, ya que el rasgo pudo no haberse manifestado como se esperaba por la influencia del ambiente. Además, en trabajos con trigos duros (*Triticum durum*) o trigos harineros (*Triticum aestivum*) es recomendable realizar nuevamente un escrutinio en la generación M₃ porque son plantas poliploides, y así asegurar que los rasgos obtenidos sean realmente una mutación heredable.

A partir de esta generación, es posible realizar pruebas de resistencia a estrés biótico –plagas y enfermedades– o tolerancia a estrés abiótico –sequía, salinidad y temperatura– para la selección de mutantes promisorios. En el presente trabajo, el material recolectado –generación M₃– se sometió a estrés térmico (+4 °C) al desplazar la fecha de siembra de noviembre 2018 a marzo 2019 (Reynolds *et al.* 2006). Posteriormente, la progenie M₄ (264 líneas) fue evaluada en ensayos poscosecha mediante el número de macollos, tamaño de espiga, peso kernel y peso hectolítrico, en comparación con el parental bajo dichas condiciones de estrés y también en condiciones óptimas. Lo anterior permitió identificar 63 líneas mutantes con un rendimiento mayor que el parental (figura 1), de las cuales 41 líneas tuvieron un incremento mayor a 15 % del rendimiento vs. el parental bajo condiciones de estrés, utilizando 170 unidades de nitrógeno y 2 riegos –en el Valle del Yaqui, bajo condiciones óptimas, se utilizan 240 unidades de nitrógeno y un programa de 3 a 4 riegos.

En algunos casos donde la progenie derivada de la inducción de estrés biótico o abiótico sea baja, es necesario utilizar la siguiente generación para aumentar el número de la población en condiciones favorables. Así, durante la generación M₄ es necesario evaluar los mutantes ya seleccionados en comparación con el parental o variedades locales élites. Además, con el objetivo de agilizar la selección de mutantes promisorios, en la generación M₃ y futuras generaciones, es posible hacer uso de marcadores genéticos para acelerar el proceso de identificación y selección de mutantes de interés. De este modo, en generaciones posteriores M₅-M₆ (figura 1), se deben realizar pruebas de rendimiento y de rasgos agronómicos en diferentes localidades para evaluar el rendimiento, la calidad y la estabilidad genética de los

materiales evaluados. Finalmente, en generaciones avanzadas (M_9 - M_{10}), las líneas mutantes seleccionadas pueden ser registradas y liberadas para su inclusión en el mercado de alimentos.

Avances en la inducción de mutaciones en la era de las ciencias ómicas

La caracterización genética de los materiales evaluados es de fundamental importancia en los programas de mejoramiento. La diversidad del fenotipo depende directamente de la interacción entre el genotipo y el ambiente, por lo que el conocimiento de la información genotípica puede auxiliar de manera considerable en la mejora de uno o más rasgos determinados. Así, tecnologías que nos permitan identificar las diferencias genéticas entre individuos de manera temprana pueden facilitar el proceso de selección y con ello el de mejoramiento. Los marcadores moleculares han sido implementados para manifestar las diferencias genéticas en materiales élite, utilizando esa información para acelerar y aumentar la precisión del proceso de mejora en trigo.

La selección asistida por marcadores (SAM) se ha constituido en una alternativa para el reconocimiento de aquellas regiones genómicas responsables por la expresión de una o más características específicas, basados generalmente en el mapeo de locus de caracteres cuantitativos o quantitative trait loci (QTL). En los últimos años, se ha generado una escalada en la cantidad de datos, producida a nivel genómico, debido a la disponibilidad de la secuenciación de próxima generación o next generation sequencing (NGS). Estas poderosas herramientas han permitido utilizar métodos estadísticos de análisis como el estudio de análisis del genoma completo o genome-wide association study (GWAS), el cual requiere de una gran cantidad de marcadores moleculares para establecer asociaciones genotipo-fenotipo a nivel del genoma como un todo y en un solo ensayo.

Asimismo, el gran caudal de información genotípica puede ser empleado, inclusive, para predecir la expresión de las características por medio de otro procedimiento estadístico conocido como selección genómica o genomic selection (GS). El uso de estas herramientas moleculares, y de las técnicas estadísticas desarrolladas para su análisis, puede ser de gran utilidad a la hora de evaluar los materiales aquí expuestos. La genotipificación de los individuos mutantes y de sus parentales podría, por ejemplo, exponer los bloques genómicos o los genes que hayan sido modificados de su condición normal a partir de tales mutaciones, ligarlos directamente con la tolerancia del trigo duro al incremento de la temperatura y observar la heredabilidad de estos en las sucesivas generaciones.

Esta estrategia tendrá un potencial enorme sobre nuestra capacidad en la identificación y selección de los individuos deseados con una mayor rapidez y exactitud

que con aquellos procedimientos basados en el mejoramiento tradicional. Además, podría auxiliar en el entendimiento de las vías metabólicas que contribuyen a la adaptación por parte del trigo duro a las condiciones de calor del medio ambiente.

Conclusiones

La inducción de mutaciones es una herramienta costo-efectiva con gran potencial para disminuir el tiempo requerido en la obtención de variedades resistentes o tolerantes a diferentes tipos de estrés biótico o abiótico, así como con diversos rasgos de interés agronómico. Este método también surge como alternativa para incorporar una mayor fuente de variabilidad genética al proceso de fitomejoramiento convencional, lo que conduciría a la adquisición de nuevas variantes en los rasgos agronómicos que no se encuentran en las variedades existentes.

Referencias

- AHUMADA, S., Briceño M., García Montoya, J., López Cázarez, C., Pereo, A., Parra, F., & Santos, S. de los (2020a). Gamma radio-sensitivity study on wheat (*Triticum turgidum ssp. durum*). *Open Agriculture*.
- AHUMADA, S., Gómez-Pando, L., Parra, F., Cruz-Torres, E. de la, Sarsu, F. & Santos, S. de los (2020b). Technical note: Gamma irradiation induces changes of phenotypic and agronomic traits in wheat (*Triticum turgidum ssp. durum*). *Applied Radiation and Isotopes*.
- ASSENG, S., Ewert, F., Martre, P., Rötter, R. P., Lobell, D. B., Cammarano, D., Kimball, B. A., Ottman, M. J., Wall, G. W., White, J. W., Reynolds, M. P., Alderman, P. D., Prasad, P. V. V., Aggarwal, P. K., Anothai, J., Basso, B., Biernath, C., Challinor, A. J., De Sanctis, G. & Zhu, Y. (2015). Rising temperatures reduce global wheat production. *Nature Climate Change*, 5(2), 143-147.
- BORZOUËI, A. (2010). Effect of gamma radiation on germination and physiological aspects of wheat (*Triticum aestivum L.*) seedlings. *Pakistan Journal of botany*, 2281-2290.
- BRUNNER, H. (1985). Radiation induced mutations for plant selection. *Applied radiation and isotopes*, 46(6-7), 589-594.
- CAGIRGAN, I. (2009). Chlorophyll mutation-like chimeric cases induced by fast-neutrons in M₁ generation of a durum wheat. *Turkish journal of field crops*, 14(2), 159-161.

- CANIMOLT. 2016. *Statistical report of 2015 with 2016 data*.
- CANUL-KU, J., García-Pérez, F., Barrios, E. y Rangel, S. (2019). Juanita, nueva variedad de nochebuena para interior derivada por mutagénesis. *Revista fitotecnia mexicana*, 42(2), 191-192.
- COOLHAAS, C. (1952). Large-scale use of F1 hybrids in “Vorstenlanden” tobacco. *Euphytica*.
- CRUZ-IZQUIERDO, S. (2012). Curso Internacional de actualización en fitomejoramiento por mutagénesis asistida por marcadores moleculares. *Revista fitotecnia mexicana*, 35(1), 1-2.
- CHAUDHURY, A. (1993). Nuclear genes controlling male fertility. *The plant cell*, 5(10),1277.
- CHÁVEZ VILLALBA, G., Camacho, M. A., Figueroa, P., Fuentes, G., Félix, J. L., & Villa, B. A. (2018). Baroyeca oro C2013: nueva variedad de trigo duro para su cultivo en el noroeste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(2), 421.
- DE LA CRUZ-TORRES, E. (2008). The role of mutation breeding on plant improvement in Mexico en *Book of Abstract, FAO/IAEA International Symposium of Induced Mutation in plants*. 9.
- DE LA CRUZ-TORRES, E. y García Andrade, J. M. (2019). Aporte y perspectivas de técnicas nucleares en el sector agrícola de México. Memorias del 29 Congreso Técnico Científico ININ-SUTIN. pp. 174-175.
- FAO. (2017). El futuro de la agricultura y la alimentación: *Tendencias y desafíos*. 9.
- FAO/IAEA. (2018a). *Manual on mutation breeding* (3ª Ed.). Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1-4.
- FAO/IAEA. (2018b). Mejora por inducción de mutaciones. Recuperado de <https://www.iaea.org/es/temas/mejora-por-induccion-de-mutaciones>.
- FAO/IAEA. (2020a). Mutation breeding. Recuperado de <http://www-naweb.iaea.org/nafa/pbg/mutation-breeding.html>
- FAO/IAEA. (2020b). Mutant Variety Database. Recuperado de <https://mvd.iaea.org/>
- FENG, H., & Yu, Z. (2011). Ion implantation mutagenesis. En Q. Shu, *Plant mutation breeding and biotechnology* (p. 112). Austria, Vienna: FAO.
- FIRA. (2020). Perspectivas. *Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial*. Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura. pp. 16. <https://www.fira.gob.mx/Nd/NEstEcon.jsp>
- HALSEY, M. E., Remund, K. M., Davis, C. A., Qualls, M., Eppard, P. J. & Berberich, S. A. (2005). Isolation of maize from pollen-mediated gene flow by time and distance. *Crop Science*, 45(6), 2172-2185.

- IRFAQ, M., & Nawab, K. (2001). Effect of gamma irradiation on some morphological characteristics of three wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Journal of biological science*, 935-937.
- ISTA. (1985). International Rules for Seed Testing. *Seed Science and technology*, 13(2), 299-520.
- JAIN, S., Brar, D. & Ahloowalia, B. (2013). Somoclonal variation and induced mutation in crop improvement. *Springer science+ Business media*, 266.
- JANKOWICZ-CIESLAK, J., Mba, C & Till, B. (2017). Mutagenesis for Crop Breeding and Functional Genomics. *Biotechnologies for Plant Mutation Breeding*, 3-18.
- KOLAR, F., Pawar, N. & Dixit, G., (2011). Induced chlorophyll mutations in *Delphinium malabaricum* (Huth) Munz. *Journal of Applied Horticulture*, 13(1), 18-24.
- KONZAK, C. (1957). III. Genetic Effects of Radiation on Higher Plants. *The Quarterly Review of Biology*, 32 (1), 27-45.
- MBA, C. (2010). Induced mutagenesis in plants using physical and chemical agents. En M. A. Davey, *Plant cell culture: essential methods*. (pp. 111-130). New Jersey, USA: John Wiley & Sons.
- MENSAH, J. K., Akomeah, P. A. & Ekpekurede, E. O. (2005). Gamma irradiation induced variation of yield parameters in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Global Journal of Pure Applied Science*, 113, 327-330.
- NOVAK, F., & Brunner, H. 1992. Fitotecnia: Tecnología de mutación inducida para el mejoramiento de los cultivos. *Boletín del OIEA*, 4, 25-33.
- RAUF, S., Silva, J. da, Khan, A. & Naveed, A. (2010). Consequences of Plant Breeding on Genetic Diversity. *International Journal of Plant Breeding*, 4(1), 1–21.
- REYNOLDS, M., Balota, M., Delgado, M., Amani, I. & Fischer, R. (2006). Physiological and Morphological Traits Associated With Spring Wheat Yield Under Hot, Irrigated Conditions. *Functional Plant Biology*, 21(6), 717.
- SALCEDO, A. J. y Barrios, G. E. J. (2012). Morelos A-2010, nueva variedad de arroz para siembra directa para el centro de México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(7), 1453-1458.
- SERNA-SALDÍVAR, S. (2009). Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. *AGT Editor*.
- SIAP. (2018). México. Estadística de la producción agrícola de 2018. Recuperado de <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php>
- SURESH, D., Poonguzhali, S., Sridharan, S. & Rajangam, J. (2017). Determination of lethal dose for gamma rays induced mutagenesis in butter bean (*Phaseolus lunatus* L.) variety KKL-1. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(3), 712-717.

- SZAREJKO, I. (2011). Haploid Mutagenesis. En Q. Shu, *Plant Mutation Breeding and Biotechnology* (pp. 397-398). Roma, Italia: FAO.
- TOLLENAAR, D. (1934). Untersuchungen Über Mutation Bei Tabak - I. Entstehungsweise und Wesen Künstlich Erzeugter Gen-Mutanten. *Genetica*.
- TOLLENAAR, D. (1934). Untersuchungen Über Mutation Bei Tabak- II. Einige Künstlich erzeugte Chromosom-mutanten. *Genetica*.
- VAN-HARTEN, A. (1998). *Mutation Breeding*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- WI, S. (2007). Effects of gamma irradiation on morphological changes and biological responses in plants. *Micron*, 64, 553-564.

CAPÍTULO 9

PARAGUAY: MEJORAMIENTO GENÉTICO EN CULTIVOS DE IMPORTANCIA ECONÓMICA

Héctor David Nakayama^{1*}
*Antonio Samudio Oggero*²
*Rubén Darío Duré*¹
*Carlos Mussi Cataldi*¹
*Jazmín Yeruti Mongelós*¹

Resumen

Stevia rebaudiana Bert. es una hierba subtropical nativa de Paraguay, utilizada por la tribu guaraní en tiempos precolombinos debido a que sus hojas poseen un potente edulcorante no calórico, y se estima unas 300 veces más dulce que la sacarosa. A inicios del siglo xx, Moisés Bertoni, naturalista y botánico de nacionalidad Suiza y radicado en tierras paraguayas, fue quien dio a conocer a la sociedad científica la existencia de esta hierba conocida localmente como *ka'a he'ẽ*, que en lengua guaraní significa “hierba dulce”. Las moléculas responsables de estas características son los glucósidos de esteviol (esteviósido y el rebaudiósido A).

Además de las propiedades endulzantes, se le atribuyen otras propiedades medicinales, tales como la capacidad de disminuir la presión arterial, hipoglicemiante, entre otras. Estas propiedades medicinales son atribuidas principalmente a los esteviósidos, siendo el rebaudiósido A la molécula con capacidad endulzante. Japón fue uno de los primeros países en aprobar su comercialización en el año 1971; en 2008, fue aprobado

* hnakayama@rec.una.py

¹ Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas - Universidad Nacional de Asunción (CEMIT-UNA)

* hnakayama@rec.una.py

² Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas - Universidad Nacional de Asunción (CEMIT-UNA)

por la FDA y, en 2011, por la Unión Europea. Entre las plantas consideradas medicinales en Paraguay, la *Stevia* es una de las especies de mayor demanda en el mercado. Paraguay es el segundo productor de *Stevia* a nivel mundial, después de China. Conocida por su calidad y pureza, aún es bajo el nivel de producción que se maneja.

Actualmente, las variedades cultivadas en mayor superficie son: nativa o criolla, eirete y katupyry, además de las variedades obtenidas por empresas privadas. El desafío que representa el cultivo es obtener variedades que puedan dar mayores rendimientos o mejorar los procesos industriales de extracción, más eficientes y menos costosos. En este sentido, el CEMIT de la Universidad Nacional de Asunción ha establecido una línea de investigación empleando tecnología nuclear y mutágenos químicos para la generación de variabilidad y obtención de germoplasma con mayor rendimiento y tolerancia a estreses abióticos. Por otro lado, la soja constituye el principal rubro agrícola de exportación, con una comercialización de 70 % de la producción nacional en forma de granos. Los destinos principales de las exportaciones son Argentina y Rusia; en cuanto a producción, ocupa el quinto lugar, con una producción de 9.9 millones de toneladas (Zafra, 2019-2020).

Al tratarse de un rubro estratégico para el país, es necesario el desarrollo de germoplasma de soja con resistencia a enfermedades, tolerante a los efectos del cambio climático. El CEMIT ha empezado a aplicar tecnología nuclear (^{60}Co) para generar variabilidad y poder seleccionar líneas avanzadas de soja tolerante a sequía, así como resistentes a patógenos. Se han establecido parcelas experimentales para seleccionar en condiciones naturales de sequía. Además, fueron realizados ensayos en campo y verificación en condiciones controladas, aplicando glifosato para seleccionar ejemplares resistentes al herbicida. Fueron obtenidos dos materiales de soja resistentes al glifosato, en las dosis recomendadas por el fabricante. En el marco del presente programa de mejoramiento, fueron obtenidos varios ejemplares tolerantes a la sequía y resistentes al glifosato, los que se encuentran en proceso de evaluaciones, confirmando la efectividad del uso de técnicas nucleares para obtener variedades con alto valor productivo.

Introducción

Con el apoyo del Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA), el CEMIT de la Universidad Nacional de Asunción ha empezado a aplicar tecnología nuclear para generar variabilidad y, de este modo, poder seleccionar líneas avanzadas de soja tolerante a sequía, así como resistentes a patógenos, estableciendo una línea de investigación con el uso tecnología nuclear; con el tiempo fueron incorporándose otros

cultivos como sésamo, *Stevia rebaudiana*, poroto, pasto y maní. La soja fue seleccionada por constituirse en el principal rubro agrícola de exportación del Paraguay, aportando, en gran medida, al producto interno bruto nacional. Al tratarse de un rubro estratégico para el país, se ve la necesidad de desarrollar germoplasma de soja con resistencia a enfermedades y tolerancia a los efectos del cambio climático. Semillas de soja de variedad convencional fueron irradiadas con rayos gamma de ^{60}Co con el fin de generar variabilidad y seleccionar materiales tolerantes a sequía y resistentes a *Macrophomina phaseolina*. En ese proceso de mejoramiento, se han realizado ensayos en condiciones controladas y en campo, obteniendo resultados promisorios. Por ser considerado un cultivo nativo con grandes potencialidades socioeconómicas, se indujo a mutaciones la variedad eireté de *Stevia rebaudiana*, con el fin de obtener mejores rendimientos de sus metabolitos endulzantes, así como la disminución en el requerimiento hídrico del cultivo. Se presentan, en este capítulo, los avances del Paraguay en el empleo de la tecnología nuclear en programas de mejoramiento de cultivos.

Glycine max

Origen del cultivo de la soja

El género *Glycine* Willd. es miembro de la familia Leguminosae, subfamilia Papilionoidae y tribu Phaseoleae. La tribu Phaseoleae contiene géneros y especies de considerable importancia en la alimentación humana y animal. Entre ellas: *Glycine max* L. Merrill. El nombre *Glycine* fue originalmente introducido por Linnaeus. *Glycine* deriva del griego *glykys* que significa “dulce”. Existen evidencias de que *Glycine soja* es el ancestro de la especie *Glycine max* (Corpoica, 2006). Por su parte Geoffrey (1983), menciona que hay un consenso general en que la planta de soja se originó en las provincias nororientales de China y Manchuria. La especie cultivada es *Glycine max* L. Merrill, y según la opinión de muchos taxonomistas, pudo haberse desarrollado a partir de *Glycine ussuriensis*.

La soja ha sido y continúa siendo un alimento milenario de los pueblos de Oriente. Hacia el año 3000 a. C. los chinos ya la consideraban una de las cinco semillas sagradas junto con el arroz (*Oryza sativa*), el trigo (*Triticum aestivum*), la cebada (*Hordeum vulgare*) y el mijo (*Panicum miliaceum*). En la India, se promocionó su consumo a partir de 1735 y en el continente europeo (Francia) se sembraron las primeras semillas provenientes de China en 1740. Veinticinco años más tarde, en 1765, se introdujo des-

de China, y vía Londres, en el continente americano, al estado de Georgia, en Estados Unidos (Ridner, 2006).

Los japoneses tomaron contacto con este cultivo después de la guerra chino-japonesa (1894-1895) y comenzaron a importar tortas de aceite de soja para usarlas como fertilizantes. En la cultura nipona, se difundió la idea: “El que tiene soja, posee carne, leche y huevo”, en referencia directa a las múltiples propiedades de la oleaginoso. Sin embargo, la expansión a gran escala de la soja se efectuó en la cuarta década del siglo XX en Estados Unidos. En la actualidad, Brasil lidera la producción a nivel mundial con 131 000 000 de toneladas métricas, seguido por Estados Unidos con 112 264 0000. Paraguay se encuentra en el sexto lugar con una producción de 10 250 000 toneladas métricas (USDA, 2020).

La soja en el Paraguay

Tsuchiya (2003) afirma que el cultivo de la soja fue introducido en Paraguay en 1921 por el Dr. Pedro Ciancio, oriundo del departamento de Caazapá, quien había observado el valor nutritivo de la soja mientras realizaba sus estudios en Italia, y a su regreso introdujo semillas de numerosas variedades de soja y la difundió en la agricultura de la zona.

En Paraguay, el cultivo de la soja se ha incrementado a partir de 1960, principalmente en el departamento de Itapúa. El incremento se inició en 1968, al iniciarse el cultivo en forma empresarial y en sucesión con el trigo, extendiéndose el área del cultivo hacia la zona de Misiones, San Pedro y Amambay. Después la expansión se produjo hacia Alto Paraná, Canindeyú y, en menor escala, a Caaguazú y Caazapá (Centurión, 1983).

Entre 1991 y 2008, la superficie cultivada de soja se expandió a varios departamentos, siendo los principales Alto Paraná, Canindeyú, Caazapá y San Pedro. Como resultado de la expansión e intensificación productiva, la producción creció considerablemente en el período 1991-2008. El cultivo de soja es el que mayor superficie ocupa, así como el que genera mayores ingresos agrícolas (Vázquez, 2011).

Las últimas estimaciones de la campaña agrícola 2020-2021, realizadas por la Cámara Paraguaya de Exportadores y Comercializadores de Cereales y Oleaginosas, (Capeco, 2020), dan cuenta de una variación en la superficie de soja producida, comparando con la zafra anterior, totalizando unas 3 500 000 ha. En la tabla 1 se observan las últimas campañas, desde la zafra 2016 hasta el presente año, se obtuvo un promedio de producción de 9 247 818 de toneladas.

Tabla 1. *Datos estadísticos de producción, superficie de siembra y rendimiento del cultivo de soja en Paraguay del período 2015-2020*

Año	Producción (toneladas)	Superficie (ha)	Rendimiento (kg ha⁻¹)
2016	7 128 364	2 870 539	2 483
2017	10 336 144	3 388 709	3 050
2018	10 262 575	3 511 143	2 922
2019	8 512 008	3 544 245	2 401
2020*	10 000 000	3 500 000	2 857

(*) Estimación

Fuente: Capeco (2020).

Mejoramiento genético por inducción de mutaciones en Paraguay

El mejoramiento genético de plantas se define como el conjunto de operaciones que, partiendo de un grupo de individuos cuyas cualidades no se encuentran en la condición requerida, permite obtener otro grupo capaz de reproducirse, que se denomina cultivar y que constituye un progreso en algunas características, como un medio para satisfacer, cada vez en mejor forma, las necesidades de la humanidad (Rives, 1983).

En este sentido, las biotecnologías, incluyendo la ingeniería genética, no tienen un objetivo distinto al del mejoramiento genético convencional y constituyen un eficiente complemento de este (Phillips, 1985). Su condición diferente radica en la forma de alcanzar estos objetivos al aplicar técnicas bioquímicas, de cultivo celular, de tejidos y de biología molecular a problemas para los cuales los métodos convencionales no ofrecen soluciones efectivas o eficientes (Khush y Virmani, 1985).

En los programas de mejoramiento de especies de interés agrícola es necesario contar con una amplia base genética que garantice suficiente variabilidad para tener probabilidades de seleccionar los genotipos. Esencialmente, este programa consiste en tres fases: generación de la variabilidad genética, selección de genotipos y evaluación de los genotipos seleccionados con caracteres agronómicos ideales (Novak y Brunner, 1992).

Los mismos autores mencionan que, adicionalmente, se requiere un sistema que involucre herramientas complementarias al sistema de mejora convencional, buscando el aprovechamiento adecuado de la variabilidad genética que se cuenta. En

este grupo de herramientas, se encuentran el cultivo de tejidos *in vitro*, la inducción de mutaciones y la transformación genética.

Una base genética estrecha representa dificultades para los diferentes programas de mejoramiento, la falta de variabilidad genética en germoplasmas élite para genes de resistencia a enfermedades, posibilita a una enfermedad (por ejemplo, *M. phaseolina*) devastar toda la producción por ser todas estas genéticamente semejantes. Kisha y Diers (1997) demostraron que variaciones genéticas para productividad y otras características agronómicas en soja pueden estar limitadas por la falta de diversidad genética en los cruzamientos entre genotipos de parentales élite.

Las mutaciones son el origen primario de la variabilidad genética y, por lo tanto, cierto control sobre su frecuencia y/o espectro puede considerarse una herramienta de gran valor para el mejoramiento de las plantas cultivadas (FAO, 2009).

La mayor parte de la variación genética deseada explorada en los programas de mejoramiento se ha producido de forma natural y se conserva en las colecciones de germoplasma. Sin embargo, cuando estas colecciones no pueden proporcionar una fuente para un rasgo particular, es necesario recurrir a otras fuentes de variación. En tales casos, las técnicas de mutación proporcionan herramientas para la creación rápida de las características deseadas (FAO, 2009).

El uso de diversos mutágenos para generar variación genética en plantas de cultivo tiene una historia casi tan larga como la de reproducción convencional. La inducción de la variabilidad de la irradiación de semillas de cebada con rayos X se demostró ya en 1928 por Stadler. La aplicación de este fenómeno ha recorrido un largo camino para convertirse en una herramienta real, no solo en el mejoramiento de los cultivos, sino también en investigación básica en el genoma de la planta, su estructura y función (FAO, 2009).

Una mutación se define como un cambio heredado en la información genética: los descendientes pueden ser células o individuos. Las mutaciones sirven como herramientas importantes para el análisis genético: la solución para casi cualquier problema genético comienza con un buen juego de mutantes (Pierce, 2010).

Debe considerarse un complemento para incrementar la cantidad de variación natural existente, en particular cuando esta se haya reducido excesivamente por una intensa selección o cuando no se encuentre lo que se desea. La mutación ocurre totalmente al azar, cualquiera que sea el tratamiento mutagénico aplicado, no se sabe *a priori* cuál va a ser el resultado y, en general, las mutaciones producen alelos recesivos (Cubero, 2003).

Las mutaciones dadas a conocer e incorporadas en programas de mejoramiento genético consisten, principalmente, en cambios en la arquitectura de la planta, tiempo

de floración, forma y color de la flor, forma, color y tamaño del fruto y resistencia a patógenos e insectos. También se han reportado cambios por efecto de mutaciones en caracteres, como contenido de aceite en girasol y soja; composición de ácidos grasos del aceite de lino (*Linum usitatissimum*), soja y canola (*Brassica napus*). El agente debe ser lo suficientemente efectivo sobre el material hereditario para causar cambios en su estructura y, al mismo tiempo, inocuo para el hombre (Donini *et al.*, mencionado en Gómez *et al.*, 2009).

En el Paraguay, a través del Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT) de la Universidad Nacional de Asunción se ha trabajado en inducción de mutaciones en soja. Las irradiaciones para la generación M_1 fueron realizadas en el Instituto Nacional del Cáncer (INCAN) de Paraguay y en el Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear (CEADEN) de Cuba, las primeras evaluaciones fueron realizadas en el CEMIT y en el campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias-UNA, con expertos del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) de Cuba.

Estas Instituciones colaboraron para desarrollar los primeros trabajos en inducción de mutaciones en el Paraguay. En las primeras generaciones de la soja irradiada (M_1 , M_2 , M_3), se registraron los típicos cambios morfológicos observados en semillas sometidas a estas radiaciones; de esta manera, se procedió a la generación y multiplicación a campo y a la selección de los fenotipos en los cuales se observaron cambios (figura 1). Estos fenotipos, posteriormente, pasaron a ser evaluados para dos características deseables, según las necesidades del cultivo en el Paraguay.

Figura 1. *Ensayo de radiosensibilidad en Glycine max*



Fuente: Nakayama, Héctor.

Evaluación de soja para tolerancia a estrés hídrico

El Chaco paraguayo, con una superficie aproximada de 245 000 km², representa más de 55 % del territorio nacional, comprende la totalidad de la región occidental o chaqueña del país. Al igual que el Gran Chaco Americano, el Chaco Boreal paraguayo presenta marcados gradientes, variaciones espaciales de sus variables climáticas y estructurales. De Este a Oeste se incrementan la aridez, la amplitud térmica –diferencias entre las temperaturas máxima y mínima diarias– y la altitud. En el extremo Oeste, se encuentra el llamado polo de calor de América del Sur, con temperaturas de hasta 45 °C y un bolsón de máxima aridez. En el centro de esta región árida, se encuentra la Cooperativa Chortitzer, en la localidad de Loma Plata, en cuyo campo experimental fueron evaluadas semillas M₂ de soja, con el fin de seleccionar plantas con tolerancia a sequía en condiciones naturales. Las semillas de los ejemplares que lograron desarrollarse completamente en dichas condiciones fueron colectadas y evaluadas. Para proseguir con los ensayos, las semillas colectadas fueron sometidas a condiciones contraladas de suministro hídrico en el invernadero del CEMIT.

Del total de semillas obtenidas por irradiación, fueron seleccionados 15 genotipos que demostraron mejor comportamiento que el testigo donante, considerados ejemplares promisorios en el proceso de mejoramiento de soja para tolerancia a la sequía (figura 2 y 3).

Figura 2. *Ensayo en condiciones naturales de sequía*



Fuente: Nakayama, Héctor.

Figura 3. *Ensayo en condiciones controladas de sequía*



Fuente: Nakayama, Héctor.

*Genotipos de soja con tolerancia al hongo *Macrophomina phaseolina**

Si bien la soja constituye el principal rubro agrícola de exportación del Paraguay, la producción está siendo amenazada por la aparición de la enfermedad conocida como pudrición carbonosa de la raíz y tallo causada por el hongo *M. phaseolina*. El desarrollo de germoplasma de soja con resistencia estable y durable a enfermedades, como la pudrición carbonosa, es una alternativa eficaz para la obtención de nuevas variedades comerciales para áreas en donde está instalada esta problemática. El trabajo se abocó en evaluar el comportamiento de germoplasmas de soja inducidos a mutación expuesto al hongo *M. phaseolina*. Fueron evaluados 250 genotipos de soja e inoculados con el hongo *M. phaseolina*.

De estas evaluaciones, se observaron algunos genotipos mutantes con características que demuestran tolerancia a la enfermedad pudrición carbonosa de la raíz y tallo; sin embargo, se deben seguir con las evaluaciones de estos genotipos para determinar el establecimiento para estas características.

Stevia rebaudiana (ka'a he'ẽ)

Stevia rebaudiana Bert., miembro de la familia Asteraceae, es una planta nativa de Sudamérica (figura 4), cuyo centro de origen está situado en el nordeste de Paraguay (Brandle, Starratt y Gijzen, 1998; Ciriminna, Meneguzzo, Pecoraino y Pagliaro, 2019; Karaköse, Müller y Kuhnert, 2015; Talevi, 2018). Fue el botánico Moisés Bertoni, naturalista y botánico de nacionalidad Suiza y radicado en tierras Paraguayas, quien dio a conocer a la sociedad científica la existencia de esta hierba

conocida localmente como *ka'a he'ẽ*, que en lengua guaraní significa “hierba dulce”. Lo nombró *Stevia rebaudiana* Bertoni en honor al botánico y médico Pedro Jaime Esteve, quien describió, por primera vez, la planta encontrada en el Este de Paraguay a mediados del siglo *xvi*, y también incorporó el nombre del químico paraguayo Ovidio Rebaudi, quien en 1899 realizó los primeros análisis químicos destinados a aclarar el origen del sabor dulce a pedido de Bertoni (Ciriminna *et al.*, 2019).

Descripción y propiedades

Las hojas de *Stevia* contienen metabolitos secundarios denominados genéricamente glucósidos del diterpeno esteviol (ácido *ent*-13-hidroxikaur-16-en-19-oico, figura 5) o esteviol glicósidos. El *ent*-kaureno es el precursor de estos metabolitos mediante reacciones de oxidación, hidroxilación y glucosilación relativamente simples. Tanto los enlaces de éster de glucosilo como de glucósido están presentes en las moléculas de esteviol, y estos ayudan a conferir al sabor intensamente dulce. Las moléculas están presentes en la hoja de la planta en cantidades elevadas (3-10 %), es aproximadamente 200-300 veces más dulce que la sacarosa, y se está utilizando en muchos países como edulcorante comercial no calórico (Dewick, 2009). Estos compuestos son sintetizados exclusivamente en las células mesofílicas y son indetectables en células de tallos y raíces (Brandle, Richman, Swanson y Chapman, 2002).

Figura 4. *Cultivo de Stevia rebaudiana*



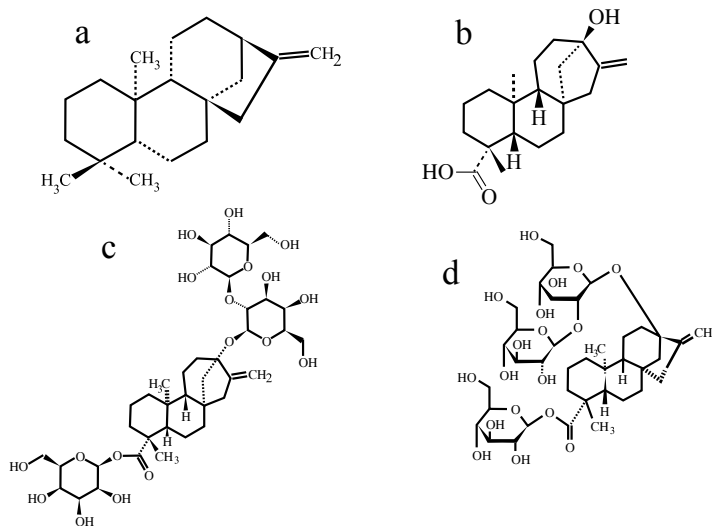
Fuente: Nakayama, Héctor.

Los principales glucósidos de esteviol que están presentes en *Stevia* son esteviósido, rebaudiósido (A a F), esteviolbiósido e isosteviol. Entre estos, el esteviósido

(4-13 % p/p), el rebaudiósido A (2-4 % p/p) y el rebaudiósido C (1-2 % p/p) son los glucósidos de esteviol más abundantes presentes en las hojas de las plantas y su cantidad depende del genotipo de la planta y las condiciones ambientales (Momtazi-Borojeni, Esmaeili, Abdollahi y Sahebkar, 2016). Entre estas moléculas, rebaudiósido A es la responsable de la dulzura, en tanto que el esteviósido es la responsable del sabor amargo. El rebaudiósido A proporciona cero calorías y tiene un sabor dulce limpio sin características significativas de sabor indeseable. Es funcional en una amplia gama de bebidas y alimentos, también es adecuado para mezclar con otros edulcorantes sin calorías o carbohidratos. La molécula es estable en condiciones secas y, en los sistemas alimentarios acuosos, su estabilidad es notablemente mejor que la del aspartamo o el neotamo.

Debido a la muy baja concentración de esteviol glucósidos en los tallos y raíces, estas partes de la planta no están sujetas a procesamiento industrial. Además de sus aplicaciones industriales, varias evidencias sugieren que *S. rebaudiana* posee propiedades medicinales, como antidiabético, antimicrobiano, antiviral, antifúngico, propiedades antitumorales, antihipertensivas, antiinflamatorias, hepatoprotectoras e inmunostimulantes. Además de no ser teratogénicas, mutagénicas ni cancerígenas y no se han reportado respuestas alérgicas después de su uso como edulcorante (Talevi, 2018; Momtazi-Borojeni, Esmaeili, Abdollahi y Sahebkar, 2016; Ferrazzano *et al.*, 2015).

Figura 5. (a) *ent-kaureno*; (b) *esteviol*; (c) *rebaudiósido A*; (d) *esteviósido*



Fuente: Duré, Rubén. 2016. Inducción de mutación *in vitro* de *Stevia rebaudiana* (Bertoni). 2016. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Nacional de Asunción.

Importancia del cultivo

La producción del cultivo de *ka'a he'ẽ* es considerada por el Ministerio de Agricultura y Ganadería como uno de los rubros agrícolas para ser utilizado en pro de la diversificación agrícola del pequeño productor. En general, no se presenta como un cultivo que desplace a otros tradicionales de renta, como el algodón, maíz, etc., sino como un rubro complementario que permite un ingreso de capital en períodos en que los cultivos de renta no lo hacen. En la producción del cultivo de *ka'a he'ẽ*, se utiliza gran cantidad de mano de obra para la limpieza, cosecha, secado, etc., por lo que se recomienda no superar las 0.5 ha por agricultor, de manera que no interfiera con las labores de los otros cultivos que hacen parte del sistema de producción de la finca. La *Stevia* busca convertirse en un producto que permita lograr la diversificación de la agricultura paraguaya, y se busca lograr una producción de 5 000 ha en dos años y, posteriormente, elevar a 10 000 ha en cinco años para posicionarse en el primer productor mundial (Cassacia y Álvarez, 2006).

La planta tiene numerosas utilidades, estando sujeta a reglamentaciones por diversos países, en cuanto a los permisos otorgados para su utilización. A la fecha, se considera que es apta para el consumo humano tanto por la Organización Mundial de la Salud como por la Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios, conocido mundialmente como JECFA, que otorgó a la *Stevia rebaudiana* Bert. la certificación de alimento inocuo el 16 de febrero de 2010, lo que la certifica como un producto de consumo seguro (Cassacia y Álvarez, 2006).

El producto industrializado puede ser utilizado principalmente en cosmética, nutrición y medicación. Las hojas pueden ser igualmente plantadas con fines de ornamentación en las viviendas. La *Stevia* permite su utilización como gel de baño, spray rejuvenecedor y dentífricos. En materia alimenticia, se la estima hasta 300 veces más dulce que el azúcar y, al no afectarse la concentración de glucosa en sangre, resulta inocuo para los diabéticos y útil en dietas hipocalóricas. Es utilizado como sustituto de ciclamato, la sacarina y el aspartamo, productos sobre los cuales surgen periódicos debates. Universidades japonesas han sugerido que resulta un tratamiento natural eficaz frente a enfermedades como: artritis/artrosis, ictus, apoplejías, alergias, hepatitis crónica, hipertensión y diabetes, entre otras (Cassacia y Álvarez, 2006).

El mayor productor de *Stevia* es China que comercializa 50 % de su producción en su mercado interno. El gigante asiático realiza exportaciones a Japón –alrededor de 40 % de su producción–, mientras que 10 % restante se comercializa en Corea, Indonesia y los Estados Unidos. Paraguay es el segundo productor de *Stevia*. Los

principales mercados para el producto paraguayo son: Sudamérica, Japón, Estados Unidos y la Unión Europea (Cassacia y Álvarez, 2006).

Los glucósidos de esteviol se comercializaron por primera vez con éxito en Japón en 1971. Su aprobación en el resto del mundo es bastante reciente, habiéndose aprobado en 2008 en Estados Unidos y, en 2011, en la Unión Europea –como extracto de hoja de *Stevia* de alta pureza etiquetado como E 960–. Actualmente, los extractos de *Stevia* están aprobados para su uso en productos alimenticios y bebidas en la mayoría de los países del mundo, incluidas naciones grandes como Rusia, China, India, Canadá y Brasil. En la Unión Europea, los glucósidos de esteviol también están aprobados como un suplemento dietético con una ingesta diaria aceptable de 4 mg de esteviol –glucósidos de esteviol– por kg de peso corporal, idéntico a la ingesta recomendada por el Comité Mixto de Expertos en Aditivos Alimentarios de la OMS (Ciriminna *et al.*, 2019).

Desde su introducción a Japón, algunas limitaciones para su uso práctico fueron rápidamente evidentes. Si bien el extracto de *Stevia* tiene un inicio de dulzura relativamente rápido en comparación con la glicirricina –metabolito endulzante extraído de la planta de regaliz–, es inferior a la sacarosa en su regusto y amargor. Con el fin de reducir el regusto del extracto de *Stevia*, varios estudios se centraron en la purificación, formulación y modificación enzimática de los edulcorantes de *Stevia*, así como en el fitomejoramiento de *S. rebaudiana* (Mizutani y Tanaka, 2002).

Variedades locales y sus características

Variedad criolla o nativa. Es la variedad más utilizada por los productores actualmente. Esta variedad es producto de la selección empírica efectuada durante años por productores, llegando a presentar ciertas características propias.

Una ventaja de esta variedad es que puede ser propagada por semilla botánica y es de esperar que los tipos de plantas que aparecen en la descendencia de la variedad correspondan mayormente a los mismos tipos de plantas que se encuentran en la población madre, pues se aduce que la población está en equilibrio. Sin embargo, es posible esperar recombinaciones en la población, la cual puede ser bien aprovechada para realizar selecciones de genotipos superiores. La variedad criolla está constituida por una mezcla de varios tipos de plantas –varios genotipos– que varían en sus características morfológicas y fenológicas. Por esta razón, esta variedad presenta florecimiento heterogéneo afectando esto negativamente la calidad de las hojas producidas, debido a que el productor no puede realizar, en el momento oportuno, la cosecha de las mismas. En su conjunto, presenta un porte bajo, llegando a alcanzar un promedio de altura de 60 cm en los meses de diciembre o enero. Presenta un potencial de rendimiento, en condiciones experimentales, en el primer año de cultivo, de 1.889 kg/ha/

año –en tres cortes–. Este rendimiento es sin riego y con una densidad de 100 000 plantas/ha. A nivel de cultivo comercial, manejado con buenas prácticas agrícolas, el promedio de rendimiento es de 1 000 a 1 200 kg/ha/año.

El contenido promedio de la suma de esteviósido y rebaudiosido A alcanza valores de 14 %, en la segunda cosecha, que es la cosecha más productiva y con mayor contenido de glicósidos totales. Del total de ambos glicósidos, 11 % corresponde al esteviósido; por su parte, el rebaudiosido A observa valores de 3 %. A nivel de campo en finca de agricultores, es común observar valores de 12 % de glicósidos totales, pues el producto cosechado viene mezclado con ramillas u otras impurezas, que inciden en la calidad final del producto (Cassacia *et al.*, 2016).

Variedad clonal IAN / VC-142 (eirete). En 2005, se lanzó oficialmente la variedad clonal de *ka'a he'ẽ*, denominada IAN/VC-142 (eirete), desarrollada en el Instituto Agronómico Nacional (IAN) de Caacupé, con características agronómicas ampliamente superiores a la variedad criolla. En función de mantener la identidad genética del material, esta variedad debe ser única y exclusivamente propagada asexualmente, es decir, multiplicada por esquejes. Si se le multiplicara por semilla botánica, la descendencia se mostraría muy heterogénea en sus características morfológicas y fenológicas, por causa de la segregación genética. De hecho, se cuenta con datos de que las progenies de esta variedad exhiben 29 % de merma en su rendimiento de hojas. Eirete presenta un ciclo más tardío que la criolla –en general 10 a 12 días más largo–, es de porte alto, pudiendo alcanzar 1.20 m de altura en el mes de diciembre y/o enero. Posee hojas grandes y abundantes y tiene un tallo poco ramificado, permitiendo alta densidad en el cultivo. Florece totalmente en forma uniforme, lo cual facilita la realización del corte en el momento más oportuno, que ocurre cuando aparecen los primeros botones florales (Cassacia *et al.*, 2016).

El rendimiento potencial de la variedad, obtenido en condiciones experimentales en el IAN, sin riego complementario, a una densidad de 100 000 plantas/ha, en el primer año de producción, es de 4 990 kg/ha/año. Las primeras experiencias de cultivo comercial con productores, en el departamento de San Pedro, en el primer año de producción, sin riego complementario, a la densidad 100 000 plantas/ha, han reportado rendimientos que variaron de 3 200 a 3 500 kg/ha/año (Cassacia *et al.*, 2016).

Otra característica relevante es la concentración de principios edulcorantes. Eirete presenta 7 % más que la variedad criolla, principalmente en lo que respecta al rebaudiosido A. La suma de esteviósido y rebaudiosido A, en la cosecha del mes de enero, alcanza valores promedios de 19 %. Del contenido total de glicósidos, el 10 % pertenece al rebaudiosido A y 9 % al esteviósido. A nivel de campo en finca de agricultores, es común observar valores de 18 % de glicósidos totales, pues el producto

cosechado viene mezclado con ramillas u otras impurezas, que inciden en la calidad final del producto (Cassacia *et al.*, 2016).

Variedad clonal KH-IAN VC 135 (katupyry). Segunda variedad clonal, obtenida de una población nativa de *ka'a he'ẽ* por el método de selección masal, en el Centro de Investigación Hernando Bertoni, IPTA, con Registro Nacional de Cultivares Protegidos (RNCP) número 344 y Registro Nacional de Cultivares Comerciales (RNCC) número 606. Es denominada katupyry por su alta rusticidad, especialmente en lo que se refiere a tolerancia a períodos de estrés hídrico y buen comportamiento en suelos de mediana a baja fertilidad en los cuales su rebrote poscosecha es diferenciado (Cassacia *et al.*, 2016).

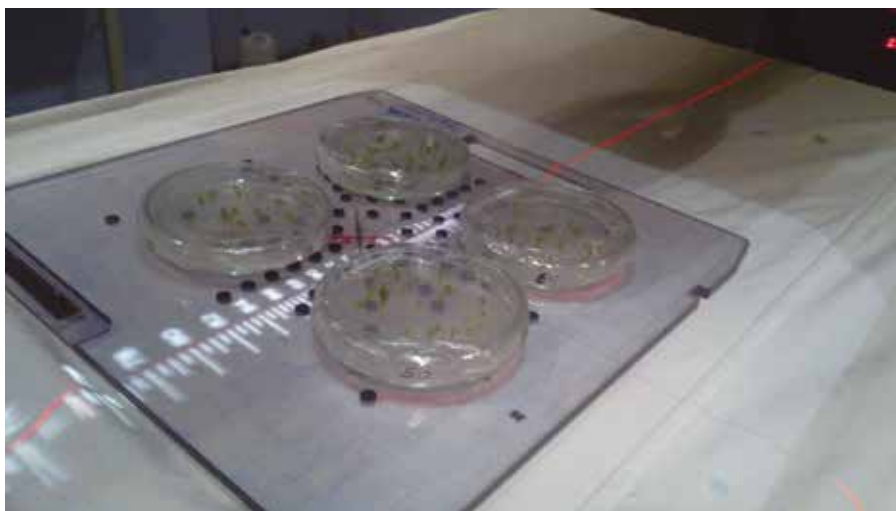
El rendimiento del material es 97 % superior al material nativo, con un promedio de 3 500 a 4 000 kg ha⁻¹ de hojas secas, en tres cortes por año. Presenta crecimiento uniforme en el cultivo a campo, dando mayor calidad al producto cosechado; a diferencia del material nativo, todas las plantas inician al mismo tiempo la emisión de los botones florales, indicando, así, el momento oportuno de cosecha. En promedio, KH-IAN VC 135 (katupyry) posee 7 % de steviósido y 8 % de rebaudiósido A, totalizando 15 % de steviolglicosidos totales (Cassacia *et al.*, 2016).

La variedad completa su ciclo de rebrote a corte aproximadamente en 110 días, en el período estival, razón por la cual es considerada como ciclo medio. Por lo general, se cosecha 10 a 15 días después que inicia la cosecha de la variedad nativa, que es de ciclo precoz. El ciclo de esta variedad le permite escapar de altas temperaturas, pues es cosechada a mediados del mes de febrero. La altura media de la planta durante el período estival es de 90 a 110 cm. Posee un tallo principal con dominancia de brotes axilares y buen desarrollo de ramas laterales. Es moderadamente resistente a *Sclerotium* y a septoriosis. El material katupyry debe ser multiplicado vegetativamente para mantener sus características (Cassacia *et al.*, 2016).

Programas de mejoramiento

El Laboratorio de Biotecnología del CEMIT ha establecido una línea de investigación empleando tecnología nuclear y mutágenos químicos para la generación de variabilidad y obtención de germoplasma con mayor rendimiento y tolerancia a diferentes tipos de estrés abiótico. Uno de los logros alcanzados dentro de este programa es el desarrollo de un protocolo de inducción de mutación en *Stevia rebaudiana*, partiendo de segmentos nodales sometidos a azida sódica como agente mutagénico y a rayos gamma (figura 6).

Figura 6. Irradiación de segmentos nodales de *Stevia rebaudiana*



Fuente: Nakayama, Héctor.

Por otra parte, el Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria (IPTA) desarrolla un programa de mejoramiento genético donde las principales líneas obtenidas y utilizadas en Paraguay son la variedad eirete y la katupyry. Actualmente, cuentan con líneas avanzadas de *Stevia* que, mediante un trabajo en conjunto con el CEMIT, han asociado el contenido de glicósidos de esteviol –esteviósido y rebaudiósido A– con marcadores moleculares SSR e ISSR. El resultado de este trabajo es de utilidad para el desarrollo de estrategias eficientes en el proceso de mejoramiento de *S. rebaudiana* (Bogado, Flores, Iehisa y Nakayama, 2018).

Conclusión

La aplicación de la tecnología nuclear en los programas de mejoramiento genético sigue siendo una herramienta importante al generar variabilidad y ofrecer la posibilidad de seleccionar características inexistentes en la especie. Paraguay ha empezado el proceso con la soja, como principal producto para la exportación, ampliando luego a la *Stevia*. En ambos casos, se ha obtenido gran variabilidad y la posibilidad de seleccionar ejemplares tolerantes a la sequía y al hongo fitopatógeno *Macrophomina phaseolina* (soja), así como mejores rendimientos (*Stevia rebaudiana*). Líneas avanzadas de ambos cultivos siguen siendo evaluadas frente a diferentes estreses abióticos y bióticos de manera que ofrezcan alternativas a los productores.

Referencias

- BOGADO, L., Flores, E., Iehisa, J. & Nakayama, H. (2018). Caracterización genotípica y cuantificación de esteviol glicósidos de líneas avanzadas de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni. Asunción, Paraguay: CEMIT-DEGICT-UNA.
- BRANDLE, J., Richman, A., Swanson, A. & Chapman, B. (2002). Leaf ESTs from *Stevia rebaudiana*: a resource for gene discovery in diterpene synthesis. *Plant Molecular Biology*, 613-622.
- BRANDLE, J., Starratt, A. & Gijzen, M. (1998). *Stevia rebaudiana*: Its agricultural, biological, and chemical properties. *Canadian journal of plant science*, 527-536.
- CÁMARA PARAGUAYA DE EXPORTADORES DE CEREALES Y OLEAGINOSAS (Capeco). 2020. Estimación de producción y productividad: soja, campaña 2019-2020. Recuperado de <https://capeco.org.py/area-de-siembra-produccion-y-rendimiento/>
- CASSACIA, J. y Álvarez, E. (2006). Recomendaciones técnicas para una producción sustentable del *ka'a he'e* (*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni) en el Paraguay. Paraguay: Ministerio de Agricultura y Ganadería, Dirección de Investigación Instituto Agronómico Nacional Agrícola. Recuperado de http://www.steviaparaguay.com.py/recomendaciones-tecnicas_kaahee.pdf
- CASSACIA, J., Britos, R., Bozzano, G., Sanabria, A. y Cantero, F. (2016). *Ka'a he'e* *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni: la dulce planta de Paraguay para el mundo, alternativa para la diversificación de la finca. Paraguay: IPTA, CIHB, KOPIA. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/312899595_Ka'a_he'e_Stevia_rebaudiana_Bertoni_Bertoni_La_dulce_planta_de_Paraguay_para_el_mundo_alternativa_para_la_diversificacion_de_la_finca
- CENTURIÓN, D. (1983). Evolución histórica de la economía Paraguaya. Paraguay, Portal Guaraní. Recuperado de http://www.portalguarani.com/2476_delfin_ugarte_centurion/18233_evolucion_historica_de_la_economia_paraguaya_1983_por_delfin_ugarte_centurion.html
- CIRIMINNA, R., Meneguzzo, F., Pecoraino, M. & Pagliaro, M. (2019). A bioeconomy perspective for natural sweetener *Stevia*. *Biofpr*, 445-452. doi:10.1002/bbb.1968
- CUBERO, J. (2003). *Introducción a la mejora genética vegetal*. Córdoba, España: Mundi-Prensa.
- DEWICK, P. M. (2009). The Mevalonate and Methylerythritol Phosphate Pathways: Terpenoids and Steroids. En P. M. Dewick, *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach* (pp. 187-310). United Kingdom: John Wiley & Sons Ltd.

- FERRAZZANO, G. F., Cantile, T., Alcidi, B., Coda, M., Ingenito, A., Zarrelli, A. & Pollio, A. (2015). Is Stevia rebaudiana Bertoni a Non Cariogenic Sweetener? A Review. *Molecules*, 1-12. DOI:10.3390/molecules21010038
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. (2009). *Plant breeding and farmer participation*. Rome, Italia: FAO. 671 p. Recuperado de <http://ftp.fao.org/docrep/fao/012/i1070e/i1070e.pdf>
- GEOFFREY, N. (1983). *Fisiología, Mejoramiento, cultivo y utilización de la soja*. Buenos Aires, Argentina: Hemisferio Sur.
- GÓMEZ, L., Romero, M., Giménez, J. Roldán, A. & Barra, E. de la (2009). *Mejoramiento de la quinua Chenopodium quinoa mediante mutaciones inducidas*. España: FAO. Recuperado de <http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro14/cap1.5.htm#Top>
- KARAKÖSE, H., Müller, A. & Kuhnert, N. (2015). Profiling and Quantification of Phenolics in Stevia Rebaudiana Leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1-39. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b01944
- KHUSH, G. G. & Virmani, S. S. (1985). Some plant breeding problems needing biotechnology. In: IRRI. *Biotechnology in International Agricultural Research. Proceedings Inter-Center Seminar on IARCs and Biotechnology*. Manila, Philippines.
- KISHA, T. J. & Diers, B. W. (1997). Allele contribution of parents to selected progeny from two way crosses. *Soybean Genetics Newsletter*, 24, 190-193.
- MIZUTANI, K. & Tanaka, O. (2002). Use of Stevia rebaudiana sweeteners in Japan. En A. D. Kinghorn, *Stevia. The genus Stevia* (pp. 179-196). New York: Taylor and Francis Inc.
- MOMTAZI-BOROJENI, A. A., Esmaeili, S. A., Abdollahi, E. & Sahebkar, A. (2016). A Review on the pharmacology and toxicology of steviol glycosides extracted from Stevia rebaudiana. *Current Pharmaceutical Design*, 1-23. DOI:10.2174/1381612822666161021142835
2006. SOYA (*Glycine max* (L.) Merrill) alternativa para los sistemas de producción de la Orinoquia colombiana. Manual Técnico N°9. Editora Guadalupe. Villavicencio-CO: CORPOICA. 59 p.
- NOVAK, F. & Brunner, H. (1992). Plant breeding: Induced mutation technology for crop improvement. *IAEA bulletin*, 4, 25-33.
- PHILLIPS, R. L. (1985). Cómo la llegada de la ingeniería genética afecta potencialmente el uso del germoplasma. En *América Latina y sus Recursos abundantes de Alimentos para el Futuro*. Reporte del Foro Latinoamericano sobre investigación en Fitomejoramiento. Caracas, Venezuela.

- PIERCE, P. (2010). *Genética: un enfoque conceptual*. Madrid, España: Medica Panamericana. Recuperado de <http://books.google.com/books?id=ALR9bgLtFhYC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
- RIDNER, E. (2006). Soja, propiedades nutricionales y su impacto en la salud. Buenos Aires, Argentina: Grupo Q S.A. Sociedad Argentina de Nutrición. Recuperado de <http://www.sanutricion.org.ar/files/upload/files/soja.pdf>
- RIVES, M. (1983). Introducing new technology to plant breeding. In: UPOV. Genetic Engineering and Plant Breeding. Records of a Symposium held on the occasion of the 16th. Session of the International Union for the Protection of New Varieties of Plants.
- TALEVI, A. (2018). Beneficial Effects of Stevia rebaudiana Bertoni and Steviol-Related Compounds on Health. *Sweeteners*, 263-284. DOI:10.1007/978-3-319-27027-2_24
- TSUCHIYA, T. (2003). Por qué se realiza el mejoramiento de la soja en Paraguay. JICA.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). (2020). Recuperado de <http://https://www.fas.usda.gov/data-analysis/scheduled-reports-2020>
- VÁZQUEZ, F. (2011). Atlas agropecuario y forestal del Paraguay. Unión de Gremios de la Producción (UGP). Asunción, Paraguay: Ervaz Artes digital.

CAPÍTULO 10

PERÚ: FITOMEJORAMIENTO EN LOS CULTIVOS DE CEBADA (*HORDEUM VULGARE* L.), QUINUA (*CHENOPODIUM QUINOA* WILLD.) Y KIWICHA (*AMARANTHUS CAUDATUS* L.)

Luz Gómez-Pando,^{1} Elizabeth Heros,¹ Enrique Aguilar-Castellanos,¹
Martha Ibañez-Tremolada,¹ Ana Eguiluz-de la Barra,²
Denisse Deza-Montoya,¹ Gabriela Aldaba-Flores,³
Diego Yarango Gutierrez,³ Coral Geraldino-Valenzuela³*

Resumen

Los granos nativos y cereales son alimentos básicos de la población peruana y especies importantes en la región Andina, donde se cultivan en suelos de ladera de baja fertilidad y en climas con frecuentes e impredecibles períodos de sequía y heladas. El desarrollo de variedades con mejor potencial de rendimiento y calidad es importante para el incremento de alimentos en cantidad y calidad de los agricultores de pequeña escala que las siembran en un sistema de agricultura familiar. La inducción de mutaciones, aplicada en variedades tradicionales bien adaptadas al medio ambiente y aceptadas por los agricultores y los consumidores, puede producir cambios que modifican en forma favorable una o pocas características agronómicas o de calidad, logrando nuevas variedades mejoradas, fácilmente aceptadas por los usuarios. Este capítulo proporciona una descripción general de los protocolos aplicados para el

¹ Programa de Investigación de Cereales y Granos Nativos.

* luzgomez@lamolina.edu.pe

² Departamento de Fitotecnia

³ Facultad de Agronomía, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú.

desarrollo de variedades de mutantes de cebada (*Hordeum vulgare L.*), mutantes de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) y mutantes de amaranto (*Amaranthus sp.*) para una producción sostenible de alimentos en zonas marginales del Perú.

Introducción

Entre los 3 000 a 4 000 m de altitud, los sistemas agrícolas de la región Andina del Perú, de más de 250 000 productores de pequeña escala, se caracterizan por la siembra de una mixtura de especies de raíces, tuberosas y granos nativos y cereales introducidos, como mecanismo de defensa, para enfrentar los daños de sequía y descensos de temperatura y asegurar, así, la producción de alimentos en forma sostenible. En este sistema de agricultura familiar, se requiere mejorar los rendimientos y la calidad de los cultivos. El aumento de la producción se puede lograr mediante un mayor uso de fertilizantes, mejores prácticas culturales, uso de sistemas múltiples de cultivo, el uso de control químico de enfermedades e insectos, mejor asistencia técnica y el desarrollo de variedades mejoradas genéticamente. El uso de variedades mejoradas adaptadas a tierras marginales es, en el caso del Perú, una de las pocas técnicas aceptadas y aplicadas por el agricultor andino y que ha permitido mejorar la productividad de los cultivos en la región Alto Andina del Perú.

El mejoramiento genético de plantas emplea diversos métodos convencionales y modernos, destacando, entre ellos, la inducción de mutaciones. Este es un método ampliamente empleado en el mejoramiento de muchas especies con resultados significativos para el desarrollo de la agricultura. Se han desarrollado más de 3 275 variedades mutantes superiores en 224 especies (<https://www.iaea.org/resources/databases/mutant-varieties-database>) y de mucho impacto a nivel mundial (Yusuff *et al.*, 2016). Se informa la mejora de diversas características agronómicas, resistencia y/o tolerancia a estreses bióticos y abióticos y la calidad (Ahloowalia *et al.*, 2004; Kharkwal *et al.*, 2004; Gramatikova, 2005; Chopra, 2005; Hamid *et al.*, 2006; Adamu y Aliyu, 2007; Dyulgerova, 2008; Tomlekova, 2010; Cheng, 2014; Singh y Verma, 2015; Raina *et al.*, 2016; Vanniarajan *et al.*, 2017; Verma *et al.*, 2018).

La inducción de mutaciones se ha empleado en el Perú desde la década de los setenta, con el objetivo de desarrollar variedades rústicas adaptadas al medio ambiente tan variable y adverso de la Sierra a la tecnología rudimentaria de cultivo, a los suelos marginales y con calidad adecuada para los usos alimenticios de la población rural, en mezclas con papas, maíz y otras especies alimenticias (Gómez-

Pando *et al.*, 2009; 2013, 2014, 2017; 2018). En este capítulo, se presenta un resumen de los diversos protocolos empleados, los resultados obtenidos en el mejoramiento de la cebada y de granos nativos –quinua y kiwicha– y su impacto en el cultivo sostenible de estos cultivos en la región Andina del Perú.

Cebada (*Hordeum vulgare* L.)

La cebada es el cuarto cultivo más sembrado en el Perú después del arroz, papa y maíz, fue introducido a este país en el siglo XVI, y desde entonces cumple una función importante en la alimentación y economía de los agricultores de pequeña escala de la sierra peruana. El área cultivada con cebada en 2018 alcanzó las 133 249 ha con una producción de 207 215 toneladas y un rendimiento promedio de 1 555 kg/ha.

La cebada tiene tolerancia tanto a las temperaturas bajas como a la sequía, dos factores que limitan la producción agrícola en la sierra alta y los cuales se van agudizando permanentemente con el cambio climático. Los agricultores de pequeña escala y de subsistencia usan la cebada, desde hace cientos de años, como alimento básico para sus familias y como alimento para el ganado. Mejorar el nivel de rendimiento y calidad de la cebada es importante por ser una de las pocas especies alimenticias sembradas entre los 3 500 a 4 000 msnm, donde los problemas se agudizan más por el cambio climático.

Las variedades comerciales Buenavista y UNALM 96 fueron seleccionadas como material parental. Estas variedades adaptadas a la región Alto Andina y con resistencia a la roya lineal *Puccinia striiformis* sp. *hordei* son tardías y altas. Las semillas secas con 12 % de humedad se irradiaron con rayos gamma con dosis de 200 y 300 Gy, elegidas con base en pruebas de radiosensibilidad, siguiendo protocolos establecidos. El material genético fue cultivado alternadamente, desde la M₃ a la M₈, en dos localidades contrastantes: La Molina-Lima a 240 msnm y San Lorenzo-Junín a 3200 msnm.

Se evaluaron un total de 342 958 plántulas en la generación M₂, y a lo largo de las generaciones de mejora se fueron identificando líneas mutantes con diversos caracteres modificados por mutaciones. La dosis más alta de mutágenos indujo, en general, un mayor número de mutantes y frecuencias para los diferentes caracteres en los que se observaron variaciones (figura 1).

Figura 1. *Mutaciones de clorofila, morfología de espiga y campo comercial de la variedad mutante Centenario, obtenidas por irradiación gamma de cebada (Hordeum vulgare L.)*



Fuente: L. Gómez y A. Eguiluz.

Mutaciones de clorofila

Los siguientes tipos de mutaciones de clorofila fueron identificados en las poblaciones derivadas de las dos variedades y se expresan en promedio: albina (0.4525 %), xantha (0.04 %), xantha-alba (0.0408), viridis-albino (0.05), albo-viridis (0.0151), virescens (0.57), chlorina (0.2825), lutescens (0.1025), albescens (0.15), tigrina (0.1905), striata (0.9) y maculata (0.265). En ambas variedades, se observó una mayor frecuencia de mutación de clorofila tipo striata, albina y chlorina. El mayor espectro de mutaciones de clorofila fue observado en la variedad Buenavista. No se observaron mutaciones tipo viridis-albino, virescens, albescens y maculata en la población M_2 de la variedad UNALM 96.

Las mutaciones de clorofila son importantes porque muestran la efectividad de la dosis en generar mutaciones y la posibilidad de encontrar otro tipo de mutaciones en las siguientes generaciones del programa de mejoramiento.

Mutaciones de caracteres morfológicos

Se identificaron mutaciones en el tallo, hojas y espigas en ambas variedades, pero con un mayor espectro y frecuencia en la variedad Buenavista. En el tallo, se observó

mutación en el color (1.68). En las hojas, se registraron hojas angostas (0.014), cera en hojas (0.014) y color de aurícula (0.0033). En espigas, se advirtieron muchas mutaciones como en el cambio del número de hileras (0.0195), espiga irregular (0.1005), espiga densa (0.017), espiga laxa (0.014), modificaciones en arista en tamaño y encrepamiento (0.43), espiga sin arista o mútica (0.014), caperuza y modificaciones (0.185), espiga con múltiples flores (0.014), espiga con cera (0.022), color de espiga (0.0002). Mutaciones en el grano como granos sin cáscara (0.3905).

Dentro de las mutaciones morfológicas, destaca la obtención de mutantes sin cáscara, importantes para la alimentación en las zonas altas por la facilidad de su procesamiento para consumo.

Mutaciones de caracteres agronómicos

En la población generación M_3 se observó reducción (1.065) e incremento de la altura de la planta (0.065), y reducción (0.1325) e incremento de ciclo de vida (0.025). Los períodos de floración se redujeron significativamente de 10 a 15 días en comparación con el control.

En la población derivada de la variedad Buenavista se identificaron líneas con alto potencial de rendimiento y precocidad, y se liberaron dos variedades para la producción comercial UNALM 95 y Centenario. En la población derivada de la variedad UNALM 96 en las generaciones M_4 a M_8 , se seleccionaron 132 líneas mutantes por mayor potencial de rendimiento manteniendo la resistencia a la enfermedad de la roya lineal dentro del rango de 5100-8731 kg/ha, por encima del valor del material original (4246 kg/h).

Mutaciones de caracteres de calidad de granos para alimentación humana

Se seleccionaron líneas mutantes en la generación M_8 derivada de la variedad UNALM 96 con mayor rendimiento agronómico y calidad nutritiva. Se identificaron 12 líneas mutantes con un peso mejorado de mil granos dentro del rango de 70.2-78.9 g superior al valor del material original con 56 g y para el contenido de proteína de grano, se identificaron 21 líneas mutantes dentro del rango de 12.9 a 14.1 %, superiores al material original con 10.5 % de contenido de proteína.

Se identificaron numerosas líneas mutantes con incrementos significativos en el contenido de varios minerales. Para Mg24, se seleccionaron 50 mutantes dentro del rango de 1.44 a 4.04 mg/g DW superiores al material original con 1.167 mg/g DW. Para P131, 54 líneas mutantes en un rango de 5.27-7.59 mg/g DW, superiores al material original con 3.980 mg/g DW. Para S34, 63 líneas mutantes en un rango de

1.61-2.05 mg/g DW de S34, superiores al parental con 1.28 mg/g DW. Para Zn66, se seleccionaron 67 líneas mutantes en el rango de 0.0574 a 0.0649 mg/g DW, superiores al material parental con 0.0466 mg/g DW. Para Ca 44, se seleccionaron 32 líneas mutantes en el rango de 0.3976 a 0.4855 mg/g DW, superior al parental con 0.3258 mg/g. Para Mn 55, se seleccionaron 67 líneas mutantes en el rango de 0.0193-0.0322 mg/g DW, más que el parental con 0.0158 mg/g DW. Para Fe57, se seleccionaron 16 líneas mutantes en el rango de 0.11-0.4761 mg/g DW, mayor que la variedad original con 0.0417 mg/g DW. Para Cu63, se identificaron 72 líneas mutantes en el rango de 0.0099 a 0.0210 ug/g DW, superior al parental con 0.0067 ug/g DW (tabla 1).

Tabla 1. *Líneas mutantes avanzadas seleccionadas por su alto potencial de rendimiento e incremento en el contenido de minerales en los granos en la población generada por irradiación gamma con las dosis de 200 y 300 Gy en la variedad UNALM 96 de cebada (Hordeum vulgare L.)*

Nº Origen M7 LM 09	Rendimiento (kg/ha)	P	Zn	Mn	Fe	Cu
CM6h-546	7075	3.93	0.0586	0.0187	0.062	0.0142
CM6h-718	6863	3.52	0.0555	0.0185	0.0671	0.0099
CM6h-658	6656	6.14	0.0516	0.0186	0.0629	0.0097
CM6h-722	6494	3.55	0.0543	0.0179	0.0622	0.0091
CM6h-721	6019	3.75	0.0513	0.0155	0.0548	0.0095
CM6h-542	8731	3.55	0.0535	0.0158	0.0436	0.0096
CM6h-717	6769	3.78	0.0581	0.0282	0.1396	0.0098
CM6h-26	6294	2.88	0.044	0.0142	0.0473	0.006
CM6h-543	7888	3.94	0.0556	0.0169	0.0541	0.0127
UNALM 96 (T)	4246	4.31	0.0479	0.0162	0.0813	0.0076

P131 mg/g DW, Zn66 mg/g DW, Mn55 mg/g DW, e57 mg/g DW, Cu63 ug/g DW

Fuente: L. Gómez.

Mutaciones de calidad de paja para forraje

Para determinar la calidad forrajera, se evaluaron 264 líneas mutantes y se observó que la cantidad de proteína de paja varió de 5.69 a 9.4 % y el rango de cenizas de 12.55 a 18.4 %. El material parental tuvo un contenido de proteína en paja igual a

5.25 y de cenizas igual a 14.69 %. De este total, 24 mutantes fueron seleccionados por un buen rendimiento de grano y biomasa y el índice de calidad relativa del forraje (CRF). Los valores de CRF de las líneas mutantes de mejor comportamiento variaron de 74 a 86, valores mayores al del material parental con un valor igual a 72. La línea mutante UNALM 96 M6h-1 mostró el mejor potencial como alimento forrajero, principalmente debido a su alta digestibilidad de fibra detergente neutro (DFDN), bajo fibra detergente neutro (FDN) y alto proteína cruda (PC) en relación con las otras líneas mutantes de cebada.

Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd)

La quinoa es un grano originario de la región Andina de Sudamérica, cuyo proceso de domesticación y cultivo data desde hace 7000 años. Junto con la papa y el maíz fue cultivo básico en la alimentación de la población en la época prehispanica. Sin embargo, su cultivo disminuye significativamente con la introducción de otras especies alimenticias que se llegan a adaptar en la región Andina. La mejora de los hábitos alimenticios determina la búsqueda de nuevas especies cultivadas con alto valor nutritivo destacando la quinoa. Su valor nutritivo y su valor agronómico la convierten en una alternativa valiosa para zonas marginales y para reducir los efectos negativos en la agricultura por su reconocida tolerancia a la sequía y a las sales.

Su cultivo en el Perú ha incrementado desde la década del 2000, sembrándose, en el 2018, una superficie de 64 660 ha, con un rendimiento promedio nacional de 1 330 y una producción de 86 011 toneladas. Las variedades tradicionales de quinoa son valiosas por su calidad nutritiva y por su capacidad de prosperar en condiciones adversas de clima y en suelos pobres comunes en las zonas altas de la región Andina de Perú. Sin embargo, la mayor parte de ellas son susceptibles a la enfermedad de mildiú (*Perenospora variabilis*) y gran parte de ellas son muy altas, tardías, con baja tolerancia al calor y arbustivas, lo que limita su cultivo en gran escala y en otras regiones.

Su mejoramiento, empleando la inducción de mutaciones, tiene como objetivo principal desarrollar variedades de menor altura, con reducida ramificación, con precocidad, tolerancia al calor, mayor potencial de rendimiento y conservando o mejorando su reconocida calidad nutritiva.

Se seleccionaron dos variedades comerciales de quinoa Pasankalla y Amarilla de Maranganí y una accesión del banco de germoplasma denominada LM89. Pasankalla y LM89 son quinuas del tipo del altiplano y Amarilla de Maranganí del tipo valle. Las dosis de rayos gamma inductoras de mutaciones fueron determinadas pre-

viamente con pruebas de radiosensibilidad, siguiendo los protocolos establecidos. Las semillas secas con 12 % de humedad fueron irradiadas con rayos gamma. Las poblaciones M_1 , M_2 se establecieron en la localidad de La Molina y la M_3 - M_7 en la localidad de San Lorenzo alternada con La Molina. La conducción de los campos se realizó siguiendo la metodología establecida para campos comerciales en ambas localidades.

En general, a nivel de las pruebas de radiosensibilidad realizadas en la generación M_1 , se observó una reducción de la germinación, sobrevivencia y longitud de la parte aérea y raíces de plántulas con el incremento de las dosis de 150 a 350 Gy. En la dosis de 350 Gy, las plántulas no sobrevivieron, llegando solo a formar las hojas cotiledonales. Para todos los genotipos estudiados, se observaron diversos tipos de mutaciones las cuales fueron identificadas en las diferentes generaciones de estudio y se presentan en promedio de los tres genotipos y las dosis de 150 y 250 Gy (figura 2).

Figura 2. *Mutaciones de pigmento en cotiledones, en inflorescencia y color de grano obtenidas por irradiación gamma en variedades comerciales de quinua (Chenopodium quinoa Willd)*



Fuente: L. Gómez y A. Eguiluz.

Mutaciones de clorofila y pigmentos

Las mutaciones de clorofila y pigmentos a nivel de las hojas cotiledóneas y el primer par de hojas verdaderas se identificaron en las variedades Pasankalla y Amarilla

de Maranganí y fueron del tipo chlorina (0.0306), lutescens (0.0008) y maculata (0.0061). Los tipos xantha (0.0301) y pigmentos rosados (0.0722) se apreciaron en la variedad Pasankalla.

Mutaciones de caracteres morfológicos

Se identificaron mutaciones en la morfología del tallo, hojas e inflorescencia en los tres genotipos. Las mutaciones en el tallo fueron el hábito de ramificación (0.2623), el color de axilas (0.4341) y el color del tallo –fondo y estrías– (0.4674). En las hojas en la forma-número de diente (0.3333) y el color de la lámina (0.0291). En la inflorescencia, las mutaciones fueron identificadas en el color (0.0030), en la forma (0.2616) y en la densidad (0.0225). Se encontraron mutaciones para color de granos en las variedades Pasankalla y Amarilla de Maranganí con un valor promedio de frecuencia igual a 0.0018.

Mutaciones de caracteres agronómicos

En las generaciones M_4 - M_7 , se identificaron mutaciones y frecuencias en caracteres agronómicos como reducción de altura de planta (0.0282), incremento de altura de planta (0.0090), reducción de la duración del ciclo de vida (0.0045), incremento del ciclo de vida (0.0030) y rendimiento de granos (0.01610 %).

De una población de 66490 plantas en la generación M_2 derivadas de semillas irradiadas de la variedad comercial Pasankalla, se seleccionaron finalmente siete líneas mutantes en generaciones avanzadas con un rango de rendimiento de 3 220 a 4 135 kg/ha, de floración de 67 a 69 días, de maduración de 99 a 103 días y con altura de planta de 113 a 134 cm. El material original en promedio de varias localidades y años tiene un rendimiento de 2 228 kg/ha, 67 días a la floración, 99 días a la madurez y 130 cm de altura de planta.

En la variedad comercial Amarilla de Maranganí, de una población M_2 de 47 788 plantas se seleccionaron cinco líneas mutantes valiosas con un rango de rendimiento de 3 367.2 a 3 859.4 kg/ha, de días a floración de 58 a 65 días, de maduración de 110-115 días y de altura de planta de 140-175 cm. El testigo o material parental con un rendimiento promedio de 2 575 kg/ha, una floración a los 65 días y una maduración a los 115 días.

Del mismo modo en la accesión LM89 de una población M_2 de 50 450 plantas se seleccionaron ocho líneas mutantes con un comportamiento igual o superior al material parental en una o más características evaluadas. Las líneas mutantes seleccionadas presentaron un rango de rendimiento de 3 089 a 4 259 kg/ha, de floración

de 63 a 73 días, de maduración de 95 a 108 días y de altura de planta de 137 a 183 días (tabla 2).

Tabla 2. *Líneas mutantes avanzadas seleccionadas por su valor agronómico en las poblaciones generadas por irradiación gamma con las dosis de 150 y 250 Gy en las variedades Pasankalla, Amarilla de Marangani y LM89 de quinua (Chenopodium quinoa Willd)*

Líneas mutantes	Rendimiento (kg/ha)	Floración (días)	Maduración (días)	Altura de planta (cm)
Pasankalla (T)	2228	67	99	130
MQPas-142	3369	68	101	122
MQPas-148	3392	68	101	122
MQPas-143	4134	66	103	134
A. Marangani (T)	2575	65	115	160
MQAM250-269	3523	60	115	165
MQAM250-253	3836	62	115	175
MQAM250-260	3859	60	110	160
QLM89-10 (T)	1393	84	117	153
MQLM89-92	3867	66	99	155
MQLM89-146	3934	66	100	155
MQLM89-131	3940	64	96	182

Fuente: L. Gómez.

Mutaciones de caracteres de calidad

En este mismo material genético, se observaron cambios muy importantes en la calidad nutritiva de algunas líneas mutantes. Se identificaron mutantes y frecuencias en caracteres, como mayor contenido en los granos de proteína (0.0233), de grasa (0.0209) y de ceniza (0.0084). Además, se identificaron mutantes con un menor contenido de saponina en el grano con una frecuencia de 0.00203 por ciento.

Para proteína en los granos, se identificaron 14 líneas mutantes de la variedad Amarilla de Marangani con valores de 14.77 a 15.7 % y más altos que el del material parental que presentó 12.4 %; del mismo modo, se seleccionaron nueve líneas mutantes en la accesión LM89 con valores de 13.9 a 14.69 % superior al testigo con 12-31 %.

También se observaron mejoras en el contenido de grasa en 10 líneas mutantes de la variedad Amarilla de Marangani con valores de 6.30 a 7.23 % comparados con el valor del material parental igual a 5.10 por ciento.

En las líneas mutantes de Amarilla de Maranganí también se identificaron tres líneas con menor contenido de saponina, que confiere sabor amargo, en los granos con valores de 0.47 a 0.71 %, comparado con el testigo con un valor de 1.58 por ciento.

Es importante señalar que se mejoró el contenido de minerales en la línea mutante MQPas-50 de la variedad Pasankalla con los siguientes valores en Cu de 4.19 a 6.6 mg/kg, en Fe de 47.99 a 50.70 mg/kg, de Mg de 0.147 a 0.184 g/100g, de P de 0.288 a 0.388 g/100g y de Zn de 40.371 a 56.352 mg/kg.

El peso de mil granos es otra característica importante relacionada con el tamaño de granos en quinua y se identificaron 12 líneas mutantes de Amarilla de Maranganí con valores de peso de mil granos igual a 3.31 a 4.07 g, más altos que el del material parental igual a 2.54 g.

Kiwicha (*Amaranthus caudatus* L.)

La kiwicha es otro grano nativo de la región Andina, reconocido por su alto valor nutritivo y su tolerancia a la sequía y al calor. Su cultivo y su domesticación en el Perú data de hace miles de años; sin embargo, su función en la alimentación en el antiguo Perú no tiene la magnitud de la quinua. Su cultivo se asoció mayormente con el maíz en las zonas bajas de los valles interandinos por su susceptibilidad a las heladas. Su valoración inició en la década de los ochenta, pero su superficie es pequeña, comparada a otros cultivos alimenticios originarios de la región Andina. En 2018, se sembraron 1 534 ha, con un rendimiento de 2 074 kg/ha y una producción de 3 182 toneladas. Kiwicha es otro cultivo alternativo para reducir los daños negativos del cambio climático en zonas con deficiencia de agua y problemas de desnutrición. Las variedades tradicionales del Perú se caracterizan por su alto valor nutritivo y tolerancia a la sequía. Por otro lado, son muy altas, arbustivas, de ciclo de vida largo y mayor tolerancia a las bajas temperaturas, lo que permitiría ampliar su cultivo a mayor altitud en la región Andina. Se requiere desarrollar variedades con menor altura, precoces y con alto potencial de rendimiento, conservando su tolerancia al estrés de sequía adaptadas a una agricultura comercial con mayores exigencias y satisfacer la demanda de la industria.

El trabajo de mejoramiento genético de la kiwicha, empleando inducción de mutaciones, se realiza con una variedad tradicional de kiwicha denominada Ancashino y con una variedad mejorada denominada CICA-UNSAAC. El método de inducción de mutaciones se utiliza para mejorar variedades bien adaptadas en una o pocas características, conservando el resto del material genético valioso. Las pruebas de radiosensibilidad permitieron identificar la dosis de 400 Gy como inductora de mutaciones

en el material genético estudiado. Se identificaron genotipos con diversos tipos de mutaciones en las diferentes generaciones de mejoramiento de la variedad Ancashino con 186 915 plantas y en la variedad CICA-INSAAC con 37 700 plantas iniciales en la generación M_2 (figura 3).

Mutaciones de clorofila y pigmentos

En la variedad Ancashino se identificaron mutantes tipo xantha (0.0016), y tipo albino (0.0082) en la variedad CICA-UNSAAC.

Mutaciones caracteres morfológicos

En la población generada en la variedad Ancashino, se identificaron mutaciones para color de inflorescencia (0.0193). En la generación M_3 de CICA-UNSAAC, se identificaron mutaciones a nivel de tallos como: pubescencia (0.2142), color (1.8460), estrías en el tallo (1.2504) y ramificación (0.4789). Mutaciones en hojas cotiledóneas en forma (0.0841) y color (0.0741), en pubescencia (0.1742), color (1.0170), manchas (1.4280), en forma (0.9247), en márgenes (1.2051), pigmentación de venas (0.2421) y pigmentación de peciolo (0.3518). En inflorescencias como forma (0.5851), en densidad (1.1974), en posición (0.8655) y color (0.9683).

Mutaciones de caracteres agronómicos

Se observaron mutaciones en reducción (1.1250) e incremento (0.2298) de altura de planta y reducción (0.1062) e incremento (0.0070) en la duración del ciclo de vida.

En generaciones avanzadas del material genético derivado de la variedad Ancashino, se seleccionaron 36 líneas avanzadas de las cuales cinco mostraron mejor potencial de rendimiento en diferentes localidades y años, permitiendo seleccionar un genotipo liberado como variedad el 2006 con el nombre de Centenario. La evaluación agronómica de las líneas mutantes M_4 - M_6 de CICA-UNSAAC permitió seleccionar cuatro líneas mutantes con buen potencial de rendimiento como CICA 54, CICA-71, CICA-108 y CICA-146 con 3 042.8 kg/ha, 3 011.1 kg/ha, 3 040.6 kg/ha, 3 053.9 kg/ha de una población inicial de 19 722 plantas M_2 ; similares o superiores al material parental que rindió 2 873 kg/ha. Asimismo, se identificó un mutante de mayor precocidad como CICA-71 con 59 días a la floración y 118 días a la maduración comparada con el testigo con 62 días a la floración y 123 días a la maduración, y un mutante de menor altura CICA-54 con 140 cm, comparado con el testigo con 180 cm de altura de planta (tabla 3).

Figura 3. *Mutaciones de pigmentos en hojas, color de inflorescencia, formas de hoja, color de tallo, formas de inflorescencia y color de grano obtenidas por irradiación gamma en la variedad CICA-UNSAAC de kiwicha (Amaranthus caudatus L.)*



Fuente: L. Gómez y A. Eguiluz.

Tabla 3. *Líneas mutantes avanzadas seleccionadas por su valor agronómico en la población generada por irradiación gamma con la dosis de 400 Gy en la variedad CICA-UNSAAC de kiwicha (Amaranthus caudatus L.)*

Líneas mutantes	Rendimiento (kg/ha)	Floración (días)	Maduración (días)	Altura de planta (cm)
CICA-7	2835	62	123	165
CICA-36	2953	62	123	170
CICA-54	3043	61	122	140
CICA-69	2938	61	120	168
CICA-71	3011	59	118	173
CICA-108	3041	61	122	153
CICA-145	2986	60	120	163
CICA-146	3054	61	122	173
CICA-165	2999	60	120	165
CICA (T)	2873	62	123	188

Fuente: L. Gómez.

Variación en el espectro de mutaciones en las especies estudiadas

La inducción de mutaciones de clorofila y otros pigmentos fue observada en las tres especies con mayor espectro y frecuencia en cebada. Las mutaciones clorofílicas han sido reportadas por diversos autores en diferentes especies y se señala su incremento en frecuencia y espectro con el de las dosis aplicadas (Bhat *et al.*, 2007; Ganapathy *et al.*, 2008; Gómez *et al.*, 2009; Cheema y Atta, 2003; Gómez, 2014; Bind *et al.*, 2016; Dwinanda *et al.*, 2020).

Mutaciones morfológicas similares en el tallo, hojas e inflorescencias fueron identificadas en cebada, quinua, amaranto-kiwicha y, con una mayor frecuencia y espectro, en amaranto. Dentro de las mutaciones morfológicas, destaca la disminución de ramas o ramificación, lo cual mejoró significativamente el índice de cosecha. Muchas mutaciones morfológicas fueron informadas en otras especies como el garbanzo (Kharkwal, 2000), sésamo (Mary y Jayabalan, 1995), lenteja (Badre y Choudhary, 2004) y arveja (Joshi y Verma, 2004). En la cebada, solo se observaron mutaciones morfológicas en espigas, también reportadas por Lundqvist (2019)

Los cambios de colores en hojas, inflorescencia y granos fueron detectados solo en los granos nativos especialmente en amaranto-kiwicha. Este tipo de mutaciones también fueron informadas por Borkar y More (2010), que observaron en un experimento en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Varun, tratada con diferentes dosis de rayos gamma y concentraciones de EMS, mutaciones de color de flores como el blanco, púrpura, azul, rojo y amarillo. Gaafar *et al.* (2016) reportaron un cambio de color en granos de caupi en plantas M₃. Wang *et al.* (2020), empleando haces de iones (lithium-7) en una dosis de 60 Gy, identificaron mutaciones en el color de hojas, flores y en tamaño y forma de frutos en *Capsicum annuum* L.; Kumar *et al.* (2020) informan cambios de color y forma de semillas en arvejas (*Pisum sativum* L.) variedad Arkel por irradiación con rayos gamma en diferentes dosis.

En las tres especies, se identificaron mutaciones en caracteres agronómicos como altura de planta, ciclo de vida y rendimiento. El cultivo de los granos nativos en sistemas intensivos y en zonas con problemas de baja temperatura en floración requiere variedades de menor altura, precoces y con alto rendimiento. Nasare y Choudhary (2011) observaron mutantes de floración precoz y rendimiento alto en albahaca morada (*Ocimum sanctum* L.) inducidos por rayos gamma con 200, 400 y 600 Gy y químicos con SA (0,001 %, 0,002 %, 0,003 %) y EMS (0,1 %, 0,2 %, 0,4 %). Yasmin *et al.* (2020) informaron una variación genética para rendimiento y componentes de rendimiento en *Vigna mungo*, empleando rayos gamma con dosis de 600 y 800Gy. Dwinanda *et al.* (2020), empleando rayos gamma en trigo variedad IS-Jarissa, identificaron 21 genotipos precoces en un rango de 91-100 días con las dosis de 200, 300

y 400 Gy. Siddiqui *et al.* (2020) identificaron genotipos mutantes precoces, de menor altura y con un mayor potencial de rendimiento que el material parental en lentejas, atribuyendo a modificaciones en el número de ramas, número de semillas por vaina y el peso de mil granos. Dyyulgerova y Dyulgerov (2020) identificaron mutaciones en cebada originadas por azida de sodio (2mM) para días a la floración, altura de planta, número de espigas/planta, longitud de aristas, longitud del pedúnculo, número de espiguillas por espiga, número de granos por espiga, peso de granos por espiga y peso de mil granos y rendimiento.

Mutaciones de caracteres de calidad asociados al valor nutritivo e industrial fueron identificadas en las tres especies principalmente en quinua y cebada

En forma similar, se informa la identificación de mutantes para varios caracteres de calidad en diversos cultivos. Khatri *et al.* (2005) informan el incremento en el contenido de grasa de *Brassica juncea* por efecto de la aplicación de EMS (0.75 y 1 %) y rayos gamma (750 y 1000 Gy). Usharani *et al.* (2016) señalan la mejora en la proteína de *Vigna mungo* con tratamientos combinados de EMS y rayos gamma. Khursheed *et al.* (2016) informan del incremento del contenido de minerales zinc, hierro y manganeso de habas empleando rayos gamma, EMS y su combinación. Rampure *et al.* (2017) en cártamo identifican mutantes con alto contenido de aceite y ácido oleico, empleando etil methano sulfonato, azida de sodio y rayos gamma. Laskar *et al.* (2018) evaluaron seis líneas mutantes de lenteja de alto rendimiento obtenidas con hidrato de hidrazina y rayos gamma, y señalan el incremento del contenido de proteína y minerales (Fe, Zn y Cu). En cereales, se reportan incrementos en el contenido de proteína y minerales (Zhang *et al.*, 2007).

Contribución de las variedades mutantes al desarrollo de la agricultura

Cebada

Del material genético desarrollado de la variedad Buenavista, se seleccionaron dos mutantes MBv-grano desnudo y Mbv-precoc y se liberaron como variedades comerciales denominados UNALM 95 y Centenario. UNALM 95 con un rendimiento potencial igual a 5 514 kg/ha y Centenario con 5 552 kg/ha. La variedad original Buenavista con un rendimiento de 4 041 kg/ha.

La variedad UNALM 95 tiene tres diferencias con el material parental: precocidad, mayor rendimiento y granos sin cáscara. La variedad mutante Centenario muestra cuatro diferencias principales con el material original Buenavista, mejor rendimiento, precocidad, mejor contenido de proteínas y mejor masa hectolítrica.

Después de 14 años de cultivo, la variedad Centenario es preferida para los agricultores de la sierra central y ha reemplazando a variedades tradicionales y modernas. Como el uso de fertilizantes y otras tecnologías en la producción de cebada es bastante excepcional en la sierra, el aumento del rendimiento se logró principalmente mediante la introducción de la variedad Centenario al sistema agrícola de producción de los departamentos de Ayacucho, Junín y Huancavelica, con incrementos en el rendimiento en Ayacucho de 45 %, en Huancavelica de 26 % y en Junín del 37 % entre 2006 y 2018.

Considerando el rendimiento promedio de los tres departamentos mencionados en 2006, igual a 1 204 kg, y 2018, igual a 1 631 kg/ha, el incremento del rendimiento fue igual a 427 kg/ha por efecto del empleo de Centenario. Dándole valor monetario sería igual a 170 dólares adicionales por hectárea cultivada. Se calcula que el Centenario se siembra en 90 % del área con cebada de los tres departamentos igual a 34 362 ha en 2018, por lo que la contribución de Centenario a la región sería igual a 5 841 540 dólares anuales.

Kiwicha

La variedad Centenario fue liberada en 2006 y tiene tres diferencias con la variedad original o el material parental Ancashino, el color de planta, rendimiento y precocidad. En campos de agricultores, se informa de rendimientos en costa de 3 500 a 5 500 kg/ha y en los valles interandinos de 2 500 a 3 700 kg/ha. La producción total de kiwicha para 2018 fue de 3 182 toneladas; como se ha señalado, la superficie cultivada de este grano nativo alcanza solo las 1 534 ha. De este total, 50 % aproximadamente se siembra con la variedad Centenario, una de las variedades preferidas por los agricultores y las compañías de exportación. Considerando que el precio en campo de agricultor es de 1.2 dólares, su cultivo contribuye con cerca de 2 000 dólares por campaña a la agricultura familiar.

Conclusiones

El uso de inducción de mutaciones en el mejoramiento genético de cereales y granos nativos permitió desarrollar variedades comerciales con valor nutritivo y económico para la región de la sierra.

En especies nativas como la quinua y kiwicha se modificaron pocos caracteres manteniendo la combinación valiosa de genes que permite su adaptación a zonas marginales de clima y suelo y su valor nutritivo.

Referencias

- ADAMU, A. K. & Aliyu, H. (2007). Morphological effects of sodium azide on tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.). *Science World Journal*, 2(4), 9-12.
- AHLOOWALIA, B. S., Maluszynski, M. & Nichterlein, K. (2004). Global impact of mutation-derived varieties. *Euphytica*, 135, 187-204.
- BADRE R. S. & Choudhary A. D. (2004). Induced mutations in Linseed (*Linum usitatissimum*). *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 64(2), 159-160.
- BHAT, A., Khan, A. & Parveen, S. (2007). Spectrum and frequency of chlorophyll mutations induced by MMS, gamma rays and their combination in two varieties of *Vicia faba* L. *Asian J. Plant Sci.*, 6, 558-561.
- BIND, D., Dwivedi, V. K. & Singh, S. K. (2016). Induction of Chlorophyll Mutation through Physical and Chemical Mutagenesis in Cowpea (*Vigna unguiculata* L.) Walp). *International Journal of Advanced Research*, 4, Issue 2, 49-53.
- BORKAR, A. T. & More, A. D. (2010). Induced Flower Colour Mutations in *Phaseolus vulgaris* Linn through Physical and Chemical Mutagens.
- CHEEMA, A. A., & Atta, B. M. (2003). Radiosensitivity studies in basmati rice. *Pak. J. Bot.*, 35(2), 197-207.
- CHENG, J. (2014). A mutation-breeding program to improve the quality of the oil crop *Crambe abyssinica*. Wageningen University
- CHOPRA, V. L. 2005. Mutagenesis: Investigating the process and processing the outcome for crop improvement. *Current Science*, 89(2), 353-359.
- DALVIR, S. (1980). Inflorescence mutant in barley. *Current Science*, 49(3), 120-122.
- DWINANDA, P., Syukur, S. & Suliansyah, I. (2020). Induction of mutations with gamma ray radiation to improve the characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotype IS-Jarissa. International Conference of Bio-Based Economy and Agricultural Utilization 2019. *Earth Environ. Sci.*, 497 012013. DOI:10.1088/1755-1315/497/1/012013: 1- 10
- DOBROVOLSKAYA, O., Martinek, P., Voylovkov, A. V., Korzun V. & Börner A. (2009). Microsatellite mapping of genes that determine supernumerary spikelets in wheat (*T. aestivum*) and rye (*S. cereale*). *Theor. Appl. Genet.*, 119, 867-874.
- DYULGEROVA, B. (2008). Biological and economic characters of multi-row mutant lines of winter barley. Proceedings of International Scientific Conference, Stara Zagora, 5-6 June.
- DYULGEROVA, B. & Dyulgerov, N. (2020). Grain yield and yield related traits of sodium azide induced barley mutant lines. *Journal of Central European Agriculture*, 21(1) 1, 83-91.

- GAAFAR, R. M., Hamouda, M. & Badr A. (2016). Seed coat color, weight and eye pattern inheritance in gamma-rays induced cowpea M2 mutant line. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 14, Issue 1, 61-68.
- GANAPATHY, S., Nirmalakumari, A., Senthil, N., Souframanien, J. & Raveendran, T. (2008). Isolation of Macromutations and Mutagenic Effectiveness and Efficiency in Little Millet Varieties. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(4), 483-486.
- GÓMEZ-PANDO, L., Eguiluz, A., Jimenez, J., Falconí, J., Aguilar, E. & Heros, E. (2009). Barley (*Hordeum vulgare*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*) improvement by mutation induction in Peru. En *Induced Plant Mutations in the Genomics Era*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- GÓMEZ-PANDO, L. R. & 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*, 04(02), 349-355. DOI: <https://doi.org/10.4236/ajps.2013.42046>.
- GÓMEZ-PANDO, L. (2014). Development of improved varieties of native grains through radiation-induced mutagenesis. In: *Wageningen Academic Publishers*, 105-124. DOI: https://doi.org/10.3920/978-90-8686-787-5_4.
- GÓMEZ L., Aldaba, G., Ibañez, M. & Aguilar, E. (2017). Development of advanced mutant lines of barley with higher mineral concentrations through radiation-induced mutagenesis in Peru. *Peruvian Journal of Agronomy*, 1(1), 14-20.
- GÓMEZ-PANDO L., Ibañez M. & Deza, D. (2018). Desarrollo de la variabilidad genética de *Amaranthus* sp mediante inducción de mutaciones para su empleo en programas de mejoramiento genético. En *Memorias del primer Congreso Mundial del Amaranto*. Cholula Puebla, Mexico.
- GRAMATIKOVA, M., Dyulgerova, B. & Dimova, A. (2005). Mutations in genetic and breeding program in Karnobat. Proceedings “Balkan Scientific Conference, Karnobat”, 80-84 p.
- GUSTAFSSON, A. (1947). Mutation in agricultural plants. *Hereditas*, 33, 1-40.
- HAMID, M. A., Azad, M. A. K. & Howlader, M. A. R. (2006). Development of three groundnut varieties with improved quantitative and qualitative traits through induced mutation. *Plant Mutation Reports*, 1(2), 14-16.
- ICARDA. (1988). Kernel weight; test weight; kernel distribution. In: *Crop quality evaluation methods and guidelines*. Aleppo, Syria.
- JOSHI, P. & Verma, R. C. (2004). Radiation induced pod and seed mutants in faba bean (*Vicia faba* L.). *Indian J Genet.*, 64(2), 155-156.
- KHARKWAL, M. C. (2000). Induced mutations in chickpea (*Cicer arietinum* L.). IV. Types of macromutations induced. *Indian J Genet.*, 60, 305-320.

- KHARKWAL, M. C., Pandey, R. N. & Pawar, S. E. (2004). Mutation Breeding for Crop Improvement. In: H. K. Jain & M. C, Kharkwal (Eds.) *Plant Breeding*. Springer, Dordrecht.
- KHATRI, A., Khan, I. A., Siddiqui, M. A., Raza, S. & Nizamani, G. S. (2005). Evaluation of High Yielding Mutants of *Brassica Juncea* Cv. S-9 Developed Through Gamma Rays And EMS. *Pak. J. Bot.*, 37(2), 279-284.
- KHURSHEED, S., Raina, A. & Khan S. (2016). Improvement of Yield and Mineral Content in Two Cultivars of *Vicia faba* L. Through Physical and Chemical Mutagenesis and their Character Association Analysis. *Archives of Current Research International*. 4(1), 1-7.
- KUMAR, A., Chaurasia, A. K. & Kumar Yadav, P. (2020). Mutagenic Effect of Gamma Radiation on Macro Mutation Spectrums, Effectiveness and Efficiency under M₃ Generation in Pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of Applied Life Sciences International*, 23(4), 45-51.
- LASKAR, A. A., Raina, A., Khan, S. & Younus, H. (2018). Induced mutations analysis with biochemical and molecular characterization of high yielding lentil mutant lines. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 167-179.
- LUNDQVIST, U. (2019). The Swedish Barley Mutant Collection In: F. Yndgaard & S. Øivind Solberg (Eds.), *40 Years of Nordic Collaboration in Plant Genetic Resources* (pp. 72-80).. , Alnarp, Sweden: Nordic Genetic Resource Center.
- MARY, R. J. & Jayabalan, N. (1995). EMS induced variability in Sesame. *Crop Improvement*, 22(2), 170-174.
- MOORE, J. E. & Undersander, D. J. (2002). A proposal for replacing relative feed value with an alternative: Forage relative quality. Proc. Am. Forage and Grassl. Counc. Bloomington, MN. Am. Forage and Grassl. Counc., Georgetown, TX.
- NASARE, P. N. & Choudhary, A. D. (2011). Early flowering and high yielding mutants in *Ocimum sanctum* linn. *Indian streams Res. J.*, 1(3), 202-204.
- RAINA, A., Laskar, R. A., Khursheed, S., Amin, R., Tantray, Y. R., Parveen, K. & Khan, S. (2016). Role of Mutation Breeding in Crop Improvement Past, Present and Future. *Asian Research Journal of Agriculture*, 2(2), 1-13.
- RAMPURE, N. H., Choudhary, A. D., Jambhulkar, S. J. & Badere R. S. (2017). Isolation of desirable mutants in safflower for crop improvement. *Indian J. Genet.*, 77(1), 134-144. DOI: 10.5958/0975-6906.2017.00018.9
- SIDDIQUI, M. A., Khan, M. T., Nizamani, G. S., Yasmeen, S., Khan, I. A., Khatri, A. & Soomro, N. S. (2020). Field evaluation of high yielding genotypes of lentil (*Lens culinaris* Medik.) developed through induced mutagenesis. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 33(1), 164-169.

- SINGH, S. & Verma, A. K. (2015). A review on efforts of induced mutagenesis for qualitative and quantitative improvement of oilseed brassicas. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(2).
- TOMLEKOVA, N. (2010). Induced Mutagenesis for Crop Improvement in Bulgaria. *Plant Mutation Reports*, 2(2), 4-27.
- USHARANI, K. S., Kumar, C. R. A. & Vanniarajan, C. (2016). Genetic variability on protein content of blackgram (*Vigna mungo* (L) Hepper) induced by gamma rays and EMS. *International Journal of Plant Sciences*, 11(1), 84-87.
- VANNIARAJAN, C., Ganeshram, S., Souframanien, J., Veni, K., Anandhi-Lavanya, S., & Kuralarasan, V. 2017. Gamma rays induced urdbbean (*Vigna mungo* L.) Hepper] mutants with YMV resistance, good batter quality and bold seeded type. Legume Research an International Journal Agricultural Research Communication Centre. www.arccjournals.com/www.legumeresearch.in: 1-7
- VERMA, A. K., Dhanasekar, P., Choudhary, S., Meena, R. D. & Lal, G. (2018). Estimation of induced variability in M₂ generation of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1), 430-436.
- WANG, X., Xie, L., Liu, L., Chen, L. & Zhang, H. (2020). Biological Effects of ⁷Li Ion Beam Radiation on Mutation Induction in *Capsicum annuum* L. *Pak. J. Bot.*, 52(3), 861-864. DOI: [http://dx.doi.org/10.30848/PJB2020-3\(36\)](http://dx.doi.org/10.30848/PJB2020-3(36))
- YASMIN, K., Arulbalachandran, D., Dilipan, E. & Vanmathi, S. (2020). Characterization of ⁶⁰CO γ -ray induced pod trait of blackgram-A promising yield mutants, *International Journal of Radiation Biology*. DOI: 10.1080/09553002.2020.1748738
- OLADOSU, Y., Rafii, M. Y., Abdullah, N., Hussin, G., Ramli, A., Rahim, H. A., Miah, G. & Usman, M. (2016). Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30,1, 1-16. DOI: 10.1080/13102818.2015.1087333
- ZHANG, L., Shu, X.L., Wang, X.Y., Lu, H.J., Shu, Q. Y. & Wu, D. X. (2007). Characterization of indica-type giant embryo mutant rice enriched with nutritional components. *Cereal Res. Comm.*, 35, 1459-1468.

CONTENIDO

Agradecimientos	9
Instituciones colaboradoras	11
Dedicatoria	13
Prefacio	15
Capítulo 1	
Brasil: fitomejoramiento del arroz (<i>Oryza sativa</i> L.)	17
Resumen	17
Introducción	18
Mutagénesis en el mejoramiento genético del arroz	19
Desenvolvimiento de nuevas variedades de arroz en Epagri	20
Nuevos cultivares de arroz con resistencia a herbicidas	22
Conclusiones	25
Referencias	26
Capítulo 2	
Colombia: mejoramiento genético del arroz (<i>Oryza sativa</i> L.) y papa criolla (<i>Solanum tuberosum</i>, grupo phureja)	29
Resumen	29
Introducción	30
Cultivar arroz (<i>Oryza sativa</i>)	31
Cultivar papa criolla (<i>Solanum phureja</i>)	35
Análisis de expresión génica gen NCED	40
Conclusiones	42
Referencias	42

Capítulo 3

Costa Rica: Aumento de la variabilidad genética

en el cultivo del arroz (<i>Oryza sativa</i> L.)	45
Resumen	45
Utilización de radiaciones ionizantes	46
Problemática en la producción del cultivo del arroz (<i>Oryza sativa</i> L.)	48
Determinación de la DL ₅₀ en semillas de arroz (<i>Oryza sativa</i> L.) y en la variedad CR5272	49
Producción y selección de mutantes de arroz a partir de semillas irradiadas con ⁶⁰ Co	51
Implementación de un sistema alternativo para el crecimiento de plantas de arroz	51
Selección a salinidad en invernadero y utilizando un sistema hidropónico	53
Selección a estrés hídrico en laboratorio e invernadero	55
Selección a estrés hídrico en campo durante dos épocas ambientales	58
<i>Producción y selección de mutantes de arroz en condiciones in vitro</i>	61
Impacto de la selección de mutantes en Costa Rica	64
Conclusión	64
Referencias	65

Capítulo 4

Cuba: mejoramiento genético en cultivos de importancia económica	67
Resumen	67
Introducción	68
Mejora por mutaciones en arroz (<i>Oryza sativa</i> L.)	69
Mejora por mutaciones en tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	71
Mejora por mutaciones en caña de azúcar (<i>Saccharum</i> spp.)	73
Mejora por mutaciones en plátano (<i>Musa</i> sp.)	73
Mejora por mutaciones en soja (<i>Glycine max</i> Merrill)	74
Mejora por mutaciones en frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	75
Mejora por mutaciones en flor de Jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	77
Conclusiones	79
Referencias	80

Capítulo 5

Ecuador: fitomejoramiento de cultivos de seguridad alimentaria,

cebada y papa	85
Resumen	85
Introducción	86

Inducción de mutaciones en cebada	87
Inducción de mutaciones en papa	95
Conclusiones	100
Referencias	101

Capítulo 6

El Salvador: mejoramiento genético del frijol

(<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) y chipilín (<i>Crotalaria longirostra</i> L.)	103
Antecedentes	103
Origen y distribución del frijol	104
Mejoramiento genético del frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) mediante mutaciones inducidas	104
Mejoramiento genético del chipilín (<i>Crotalaria longirostra</i> L.) mediante mutaciones en El Salvador	114
Conclusiones	119
Referencias	120

Capítulo 7

Guatemala: inducción de estrés hídrico en variedades

de camote (<i>Ipomoea batatas</i> L.) y papa (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	123
Resumen	123
Introducción	124
Inducción de estrés hídrico en variedades de camote	125
Conclusiones	130
Inducción de estrés hídrico en variedades de papa	131
Conclusión	137
Referencias	137

Capítulo 8

México: mejoramiento genético para la tolerancia a incrementos de temperatura por el cultivo de trigo

(<i>Triticum turgidum</i> ssp. <i>durum</i>)	141
Resumen	141
Introducción	142
Importancia socioeconómica del trigo en México y en el mundo	144
Inducción de mutaciones en el cultivo del trigo mediante rayos gamma	145
Elección del agente mutagénico y el material vegetal	146
Dosimetría <i>in vitro</i>	146

Manejo de la generación M ₁ en campo	149
Efectos del mutágeno en la primera generación (M ₁)	149
Manejo, escrutinio y selección de mutantes en la generación M ₂	150
Manejo e inducción de estrés térmico en la generación M ₃ en campo y futuras generaciones	153
Avances en la inducción de mutaciones en la era de las ciencias ómicas	154
Conclusiones	155
Referencias	155

Capítulo 9

Paraguay: mejoramiento genético en cultivos

de importancia económica	159
Resumen	159
Introducción	160
Glycine max	161
Origen del cultivo de la soja	161
La soja en el Paraguay	162
Mejoramiento genético por inducción de mutaciones en Paraguay	163
Evaluación de soja para tolerancia a estrés hídrico	166
Genotipos de soja con tolerancia al hongo <i>Macrophomina phaseolina</i>	167
<i>Stevia rebaudiana</i> (ka'a he'ë)	167
Descripción y propiedades	168
Importancia del cultivo	170
Variedades locales y sus características	171
Programas de mejoramiento	173
Conclusión	174
Referencias	175

Capítulo 10

Perú: Fitomejoramiento en los cultivos de Cebada

(*Hordeum vulgare* L.), Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)

y Kiwicha (<i>Amaranthus caudatus</i> L.)	179
Resumen	179
Introducción	180
Cebada (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	181
Mutaciones de clorofila	182
Mutaciones de caracteres morfológicos	182
Mutaciones de caracteres agronómicos	183
Mutaciones de caracteres de calidad de granos para alimentación humana	183
Mutaciones de calidad de paja para forraje	184

Quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd)	185
Mutaciones de clorofila y pigmentos	186
Mutaciones de caracteres morfológicos	187
Mutaciones de caracteres agronómicos	187
Mutaciones de caracteres de calidad	188
Kiwicha (<i>Amaranthus caudatus</i> L.)	189
Mutaciones de clorofila y pigmentos	190
Mutaciones caracteres morfológicos	190
Mutaciones de caracteres agronómicos	190
Variación en el espectro de mutaciones en las especies estudiadas	192
Contribución de las variedades mutantes al desarrollo de la agricultura	193
Cebada	193
Kiwicha	194
Conclusiones	194
Referencias	195

- 530 MICROEMPRESAS FEMENINAS Y LAS TIC
Ana Laura Bojorquez Carrillo, Tirso Suárez Núñez, Anel Flores Novelo
- 529 EL NUEVO SISTEMA DE MEDIOS EN EL MÉXICO DEL SIGLO XXI
Germán Espino Sánchez
- 528 LA INACTIVIDAD ADMINISTRATIVA FRENTE A UN NUEVO PARADIGMA CONSTITUCIONAL
Luis Gerardo Rodríguez Lozano, Alina del Carmen Nettel Barrera
- 527 ÉTICA, SERVICIO PÚBLICO Y CORRUPCIÓN. LA IMPORTANCIA DE LA ÉTICA EN EL SERVICIO PÚBLICO
Alejandro Ordieres
- 526 TURISMO: ALCANCES Y PERSPECTIVAS EN LA PENÍNSULA DE BAJA CALIFORNIA
Judith Juárez Mancilla y Plácido Roberto Cruz Chávez
- 525 LOS EJES DE LA TRANSFORMACIÓN SILENCIOSA DE LA UNIVERSIDAD PÚBLICA ESTATAL.
El papel del PIFI 2001-2017
Arely Adriana Almazán Adame
- 524 MÚLTIPLES ENFOQUES EN EL ANÁLISIS DE LA GESTIÓN Y LAS ORGANIZACIONES
Elvia Espinosa Infante
- 523 EL MERCADO DE TRABAJO EN MÉXICO: TENDENCIAS EN EL SIGLO XXI
David Castro Lugo, Reina Elizabeth Rodríguez Pérez (Coords.)
- 522 MERCADOS Y TIANGUIS ORGÁNICOS COMO DETONADORES PARA LA SOSTENIBILIDAD DE PRODUCTORES DE PEQUEÑA ESCALA.
Tzatzil Isela Bustamante Lara, Rita Schwentesius Rindermann y Benjamín Carrera Chávez
- 521 INCLUSIÓN EDUCATIVA Y RECONOCIMIENTO SOCIAL
Una reflexión propositiva para las políticas y reformas educativas
José Juan Sáinz Luna, Aurora Cueva Peña, Mónica Torres Sánchez, Ramón Ascencio Franzo (Coords.)
- 520 MÉXICO EN LA DISTANCIA ECONÓMICA DE SUS REGIONES
Vicente Germán-Soto
- 519 PROGRAMAS EDUCATIVOS PARA LA ENSEÑANZA PÚBLICA DEL INGLÉS EN EDUCACIÓN BÁSICA
Lilia Martínez Lobatos, Laura Emilia Fierro López, Rey David Román
- 518 EL NUEVO DERECHO URBANÍSTICO EN GUANAJUATO: POLÍTICAS PÚBLICAS SUSTENTABLES Y PARTICIPACIÓN CIUDADANA
Saúl Manuel Albor Guzmán
- 517 LA PERCEPCIÓN DE LA CORRUPCIÓN EN LOS GOBIERNOS LOCALES EN MÉXICO
José Juan Sanchez González, Juan Miguel Morales Y Gómez, José Manuel Arciniiega Rendón
- 516 COMPETITIVIDAD Y GESTIÓN ADMINISTRATIVA DE LAS MIPYMES DE BAJA CALIFORNIA
Manuel Alejandro Ibarra Cisneros
- 514 APROXIMACIÓN A LOS PROBLEMAS SOCIALES DE ACTUALIDAD DESDE LA PSICOLOGÍA
Carlos Alberto Mirón Juárez, Teresa Iveth Sotelo Quiñones, Diana Mejía Cruz, Jesús Tánori Quintana.
- 513 APORTES DE INVESTIGACIÓN SOBRE RENDIMIENTO ACADÉMICO Y CONVIVENCIA ESCOLAR
Mirsha Alicia Sotelo Castillo, Laura Fernanda Barrera Hernandez, María Teresa Fernández Nistal, Dora Yolanda Ramos Estrada

- 512 PROCESOS DE FORMACIÓN Y USO DE TECNOLOGÍA EN EDUCACION
Ramona Imelda García López, Lorena Márquez Ibarra, Joel Angulo Armenta, Agustín Manig Valenzuela
- 511 BIENESTAR FÍSICO Y PSICOSOCIAL EN CONTEXTOS ESCOLARES.
Resultados de Investigación.
Gisela Marita Torres-Acuña, Iván de Jesús Toledo, Fernanda Inés García Vázquez, José Fernando Lozoya
- 510 ESTUDIOS Y PERSPECTIVAS SOBRE LA PRÁCTICA DEPORTIVA
Iván de Jesús Toledo Domínguez, José Fernando Lozoya Villegas, Eddy Jacobb Tolano Fierros
- 509 APROXIMACIÓN A LA COMPRESIÓN DE LAS COMUNIDADES INDÍGENAS Y RURALES DESDE UNA PERSPECTIVA MULTIDISCIPLINARIA
Santa Magdalena Mercado Ibarra, María Teresa Fernández Nistal, Claudia García Hernández, Eneida Ochoa Ávila
- 508 ESTE DE ASIA: HACIA UNA INTERDEPENDENCIA REGIONAL
Roberto Celaya Figueroa, Juan González García y Teodora Rafael Wendlant Ámezaga
- 507 FAMILIAS, CUIDADOS Y PODER
Sulima García Falconi, Amanda Hernández Pérez (Coords.)
- 506 CULTURA DE PAZ Y DE LEGALIDAD.
Formando Agentes de Paz.
Paris A. Cabello-Tijerina, Francisca P. Arellano Hernández, Reyna L. Vázquez-Gutiérrez, Pedro P. Rivera Hernández, Luis F. Mack Echeverría, Julio J. García Barreto, Lucero Cavazos Salazar.
- 504 IDENTIDAD-AGENCIA-ESPACIO.
El videojuego desde los estudios culturales.
Antonio Corona
- 503 LA MICROHISTOLOGÍA Y SU APLICACIÓN EN LA AGROFORESTERÍA PECUARIA
Adalberto Hernández López y otros
- 502 CONTENIDOS ALTERNATIVOS EN YOUTUBE: nuevos formatos, mismos significados
Brenda Azucena Muñoz Yáñez
- 501 EL DESARROLLO DE LA DISCIPLINA DE POLÍTICAS PÚBLICAS EN MÉXICO DESDE LA PERSPECTIVA DE SUS AUTORES VOL. II
Francisco José Rodríguez Escobedo, Miriam Fonseca López (Coords.)
- 498 BIOÉTICA Y DERECHOS HUMANOS. XXV años de reflexiones.
Manuel H Ruiz de Chavéz
- 497 TEMAS SELECTOS DE CONBIOÉTICA.
Actualidades y perspectivas.
Manuel H Ruiz de Chavéz
- 496 EL IMPULSO DE CADENAS DE VALOR.
La agroindustria de la palma de aceite en María La Baja, Colombia.
Felipe Rendón-Echeverry, Nahuel Oddone, Araceli Almaraz Alvarado
- 494 POLÍTICAS PÚBLICAS Y PROCESOS REGIONALES EN ZACATECAS: DIAGNÓSTICO DE LA AGENDA MUNICIPAL 2000-2009
Lázaro Ávila Cabrera y Manuel Cedeño del Olmo
- 493 TEXTO BÁSICO DE INVESTIGACIONES EN LAS CIENCIAS ECONÓMICO-ADMINISTRATIVAS
Ignacio Almaraz Rodríguez, Arturo Castañeda Olalde, Humberto Banda Ortíz
- 492 USOS DEL TIEMPO EN ESTUDIANTES DE UNIVERSIDADES PÚBLICAS DEL SUR DE SONORA.
Adalberto Alvidrez Molina, José Paz Rivas López (Coords.)
- 491 CAMINANDO HACIA LA IGUALDAD DE GÉNERO
Diana Ivonne Valdez Pineda, Blanca Rosa Ochoa Jaime, Rodolfo Valenzuela Reynaga, Eneida Ochoa Ávila

- 489 ARQUEOLOGÍA DEL SABER.
Formación discursiva, positividad y bioética
Mauricio Ávila Barba
- 488 ANGUSTIA Y REPETICIÓN.
Los fundamentos del ritual.
Paloma Bragdon
- 487 LA ESFERA Y LA PIRÁMIDE: Notas para la construcción del objeto de la investigación jurídica
Enrique Uribe Arzate
- 485 LA EFICACIA DEL JUICIO DE AMPARO COMO MEDIO DE CONTROL DE LA CONSTITUCIONALIDAD Y DE LA CONVENCIONALIDAD A TRAVÉS DE SU INTERPRETACIÓN JURISDICCIONAL
J. Dolores Alanís Tavira
- 483 PROPUESTA DE REFORMA A LA LEY DE AGUAS NACIONALES EN MÉXICO PARA LA EXPLORACIÓN Y EXTRACCIÓN DE AGUAS SUBTERRÁNEAS ULTRAPROFUNDAS
Yolanda Alicia Villegas González
- 482 COMUNIDADES TRANSNACIONALES DE NORTEAMÉRICA Y CULTURA EMPRESARIAL.
Ana Isabel Roldán Rico, Víctor Gabriel Muro González
- 481 ENTRE CUATRO PAREDES.
Vivencias de una terapeuta
Iris Corzo
- 480 LA EDUCACIÓN FÍSICA.
Reflexiones del profesorado hacia una mejor práctica
Eddy Jacobb Tolano Fierros, Iván de Jesús Toledo Domínguez, José Fernando Lozoya Villegas
- 479 OPORTUNIDADES PARA PRODUCTOS AGROPECUARIOS DE MÉXICO EN EL SUR Y ESTE DE ASIA.
Un análisis a través de las ventajas comparativas reveladas (VCR)
Roberto Celaya Figueroa, Juan González García
- 478 HEIDEGGER.
Lenguaje y escritura
Ángel Xolocotzi Yáñez
- 477 LA CONJUNCIÓN DEL FACTOR HUMANO, EL MEDIO AMBIENTE Y LAS CADENAS DE SUMINISTRO
María del Carmen Torres Salazar, Ana Esther Escalante Ferrer
- 476 INTERVENCIONES DESDE EL ENFOQUE COGNITIVO-CONDUCTUAL.
Revisión de casos clínicos.
Alicia Hernández Montaña
- 475 OFICIOS ARTESANALES EN SALVATIERRA, GUANAJUATO
Perla Shiomara del Carpio Ovando, Eduardo Fernández Guzmán, Rafael Alejandro Veloz García
- 472 BIOÉTICA Y NUEVAS FRONTERAS DE LA GÉNETICA
Manuel H Ruiz de Chávez, Raúl Jiménez Piña (Coords.)
- 469 VARIABLES Y FUNCIONES REALES DESDE Y PARA LAS APLICACIONES
Otilio Bienvenido Mederos Anoceto, Rita Alejandra Roldán Inguanzo, Mariem Mederos Madrazo
- 467 MIGRANTES CENTROAMERICANAS TRANSPORTADAS POR REDES DE TRÁFICO SEXUAL
Simón Pedro Izcara Palacios, Karla Lorena Andrade Rubio
- 466 ESTUDIOS SOCIALES SOBRE LAS FAMILIAS
Sulima García Falconi, Amanda Hernández Pérez (Coords.)
- 465 TECNOLOGÍAS EDUCATIVAS PARA EL PROCESO DE ENSEÑANZA-APRENDIZAJE
Verónica Torres Cosío, Víctor Ricardo de la Torre García, Sahara Araceli Pereyra López, Martha Susana Hernández Larios, José de Jesús Hernández Berumen, Glenda Mirtala Flores Aguilera

En la actualidad, se proyecta que la producción de alimentos debe duplicarse en el año 2050 para satisfacer la demanda de una población en continuo crecimiento. El mejoramiento genético es un componente crucial para garantizar la seguridad alimentaria global, ya que permite incrementar el rendimiento, la calidad nutricional, la resistencia a plagas y enfermedades, y la tolerancia a condiciones climáticas adversas. En este sentido, la inducción de mutaciones es una herramienta eficaz y ampliamente utilizada en el mejoramiento genético de plantas, teniendo un gran éxito a nivel mundial ya que oficialmente ha permitido la liberación de más de 3 332 variedades mutantes en más de 240 especies.



En esta obra se plasman las investigaciones y los resultados más sobresalientes en el mejoramiento genético por inducción de mutaciones, aplicado a especies propagadas por semillas (arroz, cebada, amaranto, quinua, trigo, entre otros) y a cultivos de propagación vegetativa (papa, camote, plátano y caña de azúcar). En este libro participaron profesionales e investigadores expertos en las diferentes áreas del mejoramiento genético de plantas mediante la inducción de mutaciones, quienes están adscritos a prestigiosas instituciones en América Latina y el Caribe.

ISBN: 9-786077-366843

